



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE PESCA**

ANTONIO GLAYDSON LIMA MOREIRA

**RESPOSTAS METABÓLICAS E HEMATOLÓGICAS DE TILÁPIA DO NILO,
Oreochromis niloticus, ALIMENTADA COM RAÇÃO SUPLEMENTADA COM
Arthrospira platensis, SUBMETIDA A DIFERENTES AGENTES ESTRESSORES**

FORTALEZA

2017

ANTONIO GLAYDSON LIMA MOREIRA

RESPOSTAS METABÓLICAS E HEMATOLÓGICAS DE TILÁPIAS DO NILO,
Oreochromis niloticus, ALIMENTADA COM RAÇÃO SUPLEMENTADA COM *Arthrospira*
platensis, SUBMETIDA A DIFERENTES AGENTES ESTRESSORES

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de doutor em Engenharia de Pesca. Área de concentração: Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Orientador: Prof. Dr. Manuel Antônio de Andrade Furtado Neto.

FORTALEZA

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M836r Moreira, Antonio Glaydson Lima.

Respostas metabólicas e hematológicas de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, alimentada com ração suplementada com *Arthrospira platensis*, submetida a diferentes agentes estressores / Antonio Glaydson Lima Moreira. – 2017.

77 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2017.

Orientação: Prof. Dr. Manuel Antônio de Andrade Furtado Neto.

1. Estresse. 2. Fisiologia. 3. Hematologia. I. Título.

CDD 639.2

ANTONIO GLAYDSON LIMA MOREIRA

RESPOSTAS METABÓLICAS E HEMATOLÓGICAS DE TILÁPIAS DO NILO,
Oreochromis niloticus, ALIMENTADAS COM RAÇÃO SUPLEMENTADA COM
Arthrospira platensis, SUBMETIDA A DIFERENTES AGENTES ESTRESSORES

Tese ou Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de doutor em Engenharia de Pesca. Área de concentração: Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Manuel Antônio de Andrade Furtado Neto (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Renato Teixeira Moreira
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE)

Prof. Dr. Glácio Souza Araújo
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE)

Prof. Dr. Emanuel Soares dos Santos
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE)

Profa. Dra. Helena Matthews Cascon
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Aos meus pais, Raimundo e Valbeni.

AGRADECIMENTOS

Ao Mestre dos mestres, pelo dom da vida e por mais esta benção alcançada.

Aos meus pais, verdadeiros heróis, meu mais profundo agradecimento pelo amor e dedicação, pelo apoio e incentivo perante todas minhas decisões, por nunca terem desistido da nossa vitória mesmo quando a vida nos pregou duros golpes.

À Jéssica Costa, pelo companheirismo durante toda esta empreitada, pela presença em todos os momentos maravilhosos ou não. Obrigado pela paciência, pelos conselhos durante esta caminhada e pelo alicerce emocional durante esses anos.

Ao prof. Dr. Wladimir Ronald Lobo Farias (*in memoriam*) que, infelizmente, não está entre nós. Esteja onde estiver, obrigado por ter compartilhado o início deste trabalho, suas sugestões e ensinamentos tornaram esta pesquisa possível.

Ao meu orientador e amigo tricolor, Prof. Dr. Manuel Antônio de Andrade Furtado Neto, pelo acolhimento imediato, pela orientação e dedicação durante este trabalho.

Aos professores participantes da Banca Examinadora, Prof. Dr. Renato Teixeira Moreira, Prof. Dr. Glácio Souza Araújo, Prof. Dr. Emanuel Soares dos Santos e Profa. Dra. Helena Matthews Cascon, pelas valiosas sugestões e colaborações.

Aos meus colegas do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Campus Morada Nova, principalmente aos parceiros Leonardo Galvão que contribuiu exaustivamente durante os experimentos e Renato Teixeira pelo apoio logístico.

À fazenda Aquanova, na figura do senhor Zé Ricardo, e ao IFCE – Campus Aracati, na figura do prof. Glácio Souza, pela concessão dos peixes utilizados na pesquisa.

E a todos que de alguma forma me ajudaram a cumprir esta importantíssima etapa na minha vida

Mais vale ter uma família pobre e unida,
do que rica e afastada.

(Rita Almeida)

“I don’t want to believe. I want to know.”

(Carl Sagan)

RESUMO

A aquicultura é o setor da produção de alimentos que mais cresce no cenário mundial. Devido à crescente demanda por proteína de origem animal, vem se observando a intensificação dos cultivos aquícolas, contudo, este crescimento explosivo é sujeito a inúmeros fatores que aumentam a susceptibilidade dos peixes às doenças, resultando em um alto percentual de mortalidade. Visando a manutenção da homeostase dos peixes, a redução do estresse causado pelo manejo é fundamental. O objetivo geral desta tese foi avaliar a ação da suplementação da microalga *Arthrospira platensis* nos parâmetros metabólicos e hematológicos de juvenis de tilápia do Nilo, frente a diferentes desafios estressantes. Foram avaliadas as respostas metabólicas (glicose sanguínea, lactato e proteína total) e hematológicas (eritrócito, hematócrito, hemoglobina, volume corpuscular médio e concentração de hemoglobina corpuscular média) frente a diferentes desafios estressantes: degradação da qualidade de água, adensamento e simulação de transporte. Foram ofertadas duas dietas: apenas ração comercial (controle); e ração comercial suplementada com a microalga *A. platensis*. No primeiro experimento (degradação da qualidade de água), a adição da microalga na ração reduziu o estresse metabólico dos peixes, evidenciado pela menor concentração de glicose e lactato sérico, porém não apresentou diferenças significativas nos parâmetros hematológicos. Nos dois outros experimentos, adensamento e simulação de transporte, os animais arraçados com dieta suplementada com *A. platensis* apresentaram quadro indicando redução de estresse frente aos agentes estressores quando comparados aos peixes do Grupo Controle. Além da diminuição da glicose e lactato, os animais da Dieta 1 apresentaram maiores valores de eritrócitos, hemoglobina e hematócritos, condicionando os peixes a uma condição mais confortável frente às situações adversas.

Palavras-chave: Estresse. Fisiologia. Hematologia.

ABSTRACT

Aquaculture is the world's fastest growing food production sector nowadays. Intensification of aquaculture is mainly due to the increasing demand for animal protein. However, this explosive growth is subject to factors that increase fish susceptibility to disease, causing a high mortality rate. In order to maintain fish homeostasis, stress reduction is fundamental. The objective of this thesis was to evaluate the action of *Spirulina platensis* microalgae supplementation on the metabolic and hematological characteristics of juveniles of Nile tilapia, facing different challenges stressful. Metabolic responses (blood glucose, lactate and total protein) and haematological (erythrocyte, hematocrit, hemoglobin, mean corpuscular concentration and mean corpuscular hemoglobin concentration) were evaluated on stressful challenges: degradation of water quality, densification, and simulation of transport. Two diets were offered to the fishes: only commercial ration (control); and commercial feed supplemented with *A. platensis* microalgae. In the first experiment (degradation of water quality), the addition of the microalga in the feed reduced the metabolic stress of fish, which was showed by the lower concentration of glucose and serum lactate, but did not present significant differences in the hematological. In the two other experiments, density and transport simulation, animals fed with a diet supplemented with *A. platensis* indicating a reduction of stress in relation to the stressors when compared to the control group. In addition to the decrease in glucose and lactate, the animals fed with diet 1 presented higher erythrocyte, hemoglobin and hematocrit values, adapting fishes to a more comfortable condition in the face of adverse situations.

Keywords: Stress. Physiology. Hematology.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Imagem microscópica (objetiva de 10x) da microalga *Arthrospira platensis*..... 24
- Figura 2 – Diagrama generalizado dos elementos neuroendócrinos da resposta ao estresse em peixes teleósteos. ACTH – Hormônio Adreno Corticotrófico, MSH – Hormônio Melanócito Estimulante, β END – Endorfina..... 28
- Figura 3 – Biomassa seca de *Arthrospira platensis* e ração. Cultivo integrado entre a *S. platensis* e a tilápia do Nilo em ambiente externo..... 34

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 – Valores médios e desvio padrão da glicose plasmática de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, arraçados com duas dietas (Dieta 1 = Ração comercial e Dieta 2 = Ração Comercial + *Arthrospira platensis*) e submetidos ao desafio da degradação da qualidade de água..... 41
- Gráfico 2 – Valores médios e desvio padrão de lactato plasmático de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, arraçados com duas dietas (Dieta 1 = Ração comercial e Dieta 2 = Ração Comercial + *Arthrospira platensis*) e submetidos ao desafio da degradação da qualidade de água..... 42
- Gráfico 3 – Valores médios e desvio padrão de proteína total plasmática de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, arraçados com duas dietas (Dieta 1 = Ração comercial e Dieta 2 = Ração Comercial + *Arthrospira platensis*) e submetidos ao desafio da degradação da qualidade de água..... 44
- Gráfico 4 – Valores médios e desvio padrão da glicose plasmática de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, arraçados com duas dietas (Dieta 1 = Ração comercial e Dieta 2 = Ração Comercial + *Arthrospira platensis*) e submetidos ao desafio da simulação de transporte 54
- Gráfico 5 – Valores médios e desvio do lactato plasmática de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, arraçados com duas dietas (Dieta 1 = Ração comercial e Dieta 2 = Ração Comercial + *Arthrospira platensis*) e submetidos ao desafio da simulação de transporte..... 55
- Gráfico 6 – Valores médios e desvio de proteína total plasmática de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, arraçados com duas dietas (Dieta 1 = Ração comercial e Dieta 2 = Ração Comercial + *Arthrospira platensis*) e submetidos ao desafio da simulação de transporte..... 56

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Produção anual (2009 – 2014) de pescado através da pesca e da aquicultura. 17
- Tabela 2 – Quantidade e valor da produção dos principais peixes produzidos no Brasil em 2016..... 18
- Tabela 3 – Valores médios e desvio padrão (entre parênteses) dos parâmetros físico-químicos da água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, arraçoados com duas dietas (Dieta 1 = Ração comercial e Dieta 2 = Ração Comercial + *Arthrospira platensis*) e submetidos ao desafio da degradação da qualidade de água..... 38
- Tabela 4 – Valores médios e desvio padrão (entre parênteses) da série vermelha do sangue (RBC = eritrócitos, Ht = hematócrito e Hb = taxa de hemoglobina) e índices hematimétricos (VCM = Volume Corpuscular Médio e CHCM = Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média) de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, arraçoados com duas dietas (Dieta 1 = Ração comercial e Dieta 2 = Ração Comercial + *Arthrospira platensis*) e submetidos ao desafio da degradação da qualidade de água..... 39
- Tabela 5 – Valores médios e desvio padrão (entre parênteses) da glicose plasmática, lactato plasmático e proteína total plasmática de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, arraçoados com duas dietas (Dieta 1 = Ração comercial e Dieta 2 = Ração Comercial + *Arthrospira platensis*) e submetidos ao adensamento..... 46
- Tabela 6 – Valores médios e desvio padrão (entre parênteses) da série vermelha do sangue (RBC = eritrócitos, Ht = hematócrito e Hb = taxa de hemoglobina) e índices hematimétricos (VCM = Volume Corpuscular Médio e CHCM = Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média) de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, arraçoados com duas dietas (Dieta 1 = Ração comercial e Dieta 2 = Ração Comercial + *Arthrospira platensis*) e submetidos ao adensamento..... 49

- Tabela 7 – Valores médios e desvio padrão dos parâmetros físico-químicos da água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, arraçados com duas dietas (Dieta 1 = Ração comercial e Dieta 2 = Ração Comercial + *Arthrospira platensis*) antes do transporte e imediatamente após a abertura dos sacos (IAD)..... 52
- Tabela 8 – Valores médios e desvio padrão (entre parênteses) da série vermelha do sangue (RBC = eritrócitos, Ht = hematócrito e Hb = taxa de hemoglobina) e índices hematimétricos (VCM = Volume Corpuscular Médio e CHCM = Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média) de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, arraçados com duas dietas (Dieta 1 = Ração comercial e Dieta 2 = Ração Comercial + *Arthrospira platensis*) e submetidos ao desafio da simulação de transporte..... 58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AM	Amazonas
CE	Ceará
MS	Mato Grosso do Sul
PR	Paraná
SP	São Paulo
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
FAO	Food and Agriculture Organization
UFC	Unidade Formadoras de Colônia
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
R\$	Real (moeda)
HSV-1	Vírus do herpes tipo 1
IMNV	Vírus da Mionecrose Infecciosa
SNC	Sistema Nervoso Central
CPI	Cérebro-pituitária-inter-renal
CSC	Células Simpáticas de Cromafina
PS	Polissacarídeos Sulfatados
°C	Graus Celsius
pH	Potencial Hidrogeniônico
AD	Após o desafio
IAD	Imediatamente após o desafio
L	Litros
mL	Mililitros
µL	Microlitros
fL	Fentolitros
µm	Micrômetros
Kg	Quilograma
g	Grama
Kg	Quilograma
mg	Miligrama
cm	Centímetros
nm	Nanômetro

rpm	Rotações por minuto
Hb	Hemoglobina
Ht	Hematócrito
CHCM	Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
RCB	Contagem de Células Vermelhas
VCM	Volume Corpuscular Médio

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
β	Beta
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.2	Tilápia do Nilo e fatores estressantes do cultivo	21
2.3	<i>Arthrospira platensis</i>	23
2.4	O estresse e as respostas fisiológicas dos peixes	25
2.5	Imunoestimulantes	29
2.6	Parâmetros hematológicos	30
3	MATERIAL E MÉTODOS	35
3.1	Obtenção da biomassa de <i>Arthrospira platensis</i> e preparo da ração	34
3.2	Obtenção e aclimação dos animais	35
3.3	Degradação da qualidade da água	35
3.4	Adensamento	35
3.5	Transporte	36
3.6	Coleta de sangue e análise dos parâmetros hematológicos	36
3.7	Análises estatísticas	37
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
4.1	Degradação da qualidade de água	38
4.2	Adensamento	45
4.3	Transporte	52
5	CONCLUSÃO	61
	REFERÊNCIAS	62

1 INTRODUÇÃO

A aquicultura é o setor da produção de alimentos que mais cresce no cenário mundial. A produção aquícola global tem apresentado crescimento continuado nas últimas cinco décadas, de acordo com as informações mais recentes do “Estado Mundial da Aquicultura”, publicação da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO, 2016), que apresenta as estatísticas da produção mundial para o ano de 2014.

Estimativas realizadas em estudo recente do Banco Mundial previam que no ano de 2030, a aquicultura seria responsável pela metade da oferta de pescado do planeta (WORLD BANK, 2013). Entretanto, se considerarmos somente a produção de pescado para o consumo humano, essa previsão está equivocada. Isto porque a produção mundial de pescado atingiu, em 2014, a marca de 167,2 milhões de toneladas (Tabela 1) de acordo com as próprias estatísticas da FAO (2016), sendo que 20,9 milhões de toneladas oriundas da pesca extrativista não foram utilizados para fins alimentícios. Desta forma, das 93,4 milhões de toneladas de pescado capturados pela pesca, apenas 72,5 milhões de toneladas foram destinadas ao consumo humano, e como a produção aquícola mundial para o mesmo ano de 2014 foi de 73,8 milhões de toneladas, seria lógico afirmar que pela primeira vez a aquicultura superou a pesca no abastecimento de pescado para o consumo humano, antecipando as estimativas do Banco Mundial em 16 anos.

Conforme informam os dados da FAO (2016), o pescado como fonte alimentar no período de 1961 a 2013 cresceu a uma taxa média anual de 3,2%, enquanto o crescimento populacional mundial esteve em torno de 1,6% no mesmo período, significando que a taxa média anual de produção de pescado foi o dobro da taxa de crescimento populacional. Para efeito de comparação em relação à demanda de pescado no mundo, o consumo per capita por pescado passou de 9,9 kg em 1960 para 18,5 kg em 2010, com estimativas preliminares para além de 20 kg no ano de 2014 (Tabela 1).

A China desempenha um importante papel neste crescimento, uma vez que representa por 60% da produção aquícola mundial (FAO, 2016). Este desenvolvimento impressionante tem sido impulsionado por alguns fatores, tais como: aumento de renda da população e consequente poder de compra, bem como ao avanço tecnológico e canais de distribuição mais eficientes. A aquicultura vem nos últimos anos, despontando no agronegócio como uma solução viável no suprimento de pescado para atender sua crescente demanda mercadológica devido à redução constante da oferta de recursos naturais disponíveis.

Tabela 1 – Produção anual (2009 – 2014) de pescado através da pesca e da aquicultura.

	2009	2010	2011	2012	2013	2014 ¹
	(Milhões de toneladas)					
PRODUÇÃO						
Pesca						
Continental	10,5	11,3	11,1	11,6	11,7	11,9
Marinha	79,7	77,9	82,6	79,7	81,0	81,5
Total Pesca	90,2	89,1	93,7	91,3	92,7	93,4
Aquicultura						
Continental	34,3	36,9	38,6	42,0	44,8	47,1
Marinha	21,4	22,1	23,2	24,4	25,5	26,7
Total Aquicultura	55,7	59,0	61,8	66,5	70,3	73,8
TOTAL	145,9	148,1	155,5	157,8	162,9	167,2
UTILIZAÇÃO						
Consumo humano	123,8	128,1	130,8	136,9	141,5	146,3
Uso não alimentar	22,0	20,0	24,7	20,9	21,4	20,9
População (bilhões)	6,8	6,9	7,0	7,1	7,2	7,3
Consumo <i>per capita</i> (Kg)	18,1	18,5	18,6	19,3	19,7	20,1

FONTE: FAO (2016). Não foram contabilizadas as plantas aquáticas.

¹ Os dados para 2014 são estimativas

A produção de organismos aquáticos em cativeiro tem crescido significativamente em todo mundo, a uma taxa média anual de 8,8% nas últimas décadas, alcançando o recorde em 2014, quando foram produzidas cerca de 73,8 milhões de toneladas, excluindo plantas aquáticas. Por outro lado, a produção mundial de captura tem se mantido estável em cerca de 90 milhões de toneladas (FAO, 2016).

A aquicultura continental produziu 47,1 milhões de toneladas representando 63,8% das 73,8 milhões de toneladas da produção aquícola mundial no ano de 2014, enquanto que a aquicultura marinha representou 36,2% dessa mesma produção global. A aquicultura continental em viveiros é a principal forma de garantir pescado de cultivo em países em desenvolvimento, apesar do cultivo em tanques-rede está crescendo significativamente em países como o Brasil (FAO, 2016).

No cenário nacional, segundo dados publicados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (2016), a produção total da piscicultura brasileira foi de 507,12 mil toneladas em 2016, representando um aumento de 4,4% em relação ao ano anterior, gerando mais de R\$ 3 bilhões, que significa 70,9% do valor levantado pela aquicultura nacional.

A Unidade Federativa que mais produziu peixes em 2016 continuou sendo Rondônia, com despesca de 90,64 mil toneladas, o que representou um aumento de 7,3% em relação ao ano anterior. O Paraná manteve a segunda posição com a despesca de 76,06 mil toneladas, um aumento de 9,8% quando comparada à produção do ano anterior, ficando à frente do Estado

de São Paulo, que produziu 48,35 mil toneladas e subiu para a terceira posição. O Município de Rio Preto da Eva (AM) foi o principal produtor nacional de peixes, registrando a despesca de 13,38 mil toneladas, enquanto Ariquemes (RO) com despesca de 13,04 mil toneladas ascendeu ao posto de segundo município que mais produziu peixe no país, seguido por Orós (CE) com 8,74 mil toneladas e Morada Nova de Minas (MG) com 8,49 mil toneladas despescadas em 2016 (IBGE, 2016). O Município de Jaguaribara (CE), continuou apresentando queda na produção de peixes, reduzindo em 73,0% sua produção, despescando apenas 3,73 mil toneladas e figurando apenas na modesta 24ª posição no *ranking*. Os motivos, de acordo com o levantamento realizado no município, foram a queda no reservatório de água do Açude Castanhão e a migração dos produtores para outros estados (IBGE, 2016).

Tabela 2 – Quantidade e valor da produção dos principais peixes produzidos no Brasil em 2016.

Espécie	Produção de peixes			
	Quantidade		Valor	
	Total (Kg)	Percentual (%)	Total (1.000 R\$)	Percentual (%)
Total	507 121 920	100,0	3 264 611 462	100,0
Tilápia	239 090 927	47,1	1 335 024 158	40,9
Tambaqui	136 991 478	27,0	879 037 488	26,9
Tambacu/Tambatinga	44 948 272	8,9	328 151 919	10,1
Carpa	20 336 354	4,0	139 100 275	4,3
Pintado	15 860 113	3,1	167 036 559	5,1
Pacu/Patinga	13 065 144	2,6	101 474 150	3,1
Matrinxã	8 766 980	1,7	69 578 057	2,1
Pirarucu	8 637 473	1,7	91 034 450	2,8
Jatuarana/Piracanjuba	6 076 014	1,2	46 865 112	1,4
Outros peixes	2 932 920	0,6	19 309 435	0,6

FONTE: IBGE (2016)

Conforme mostra a Tabela 2, a tilápia foi a espécie mais cultivada em 2016, com aproximadamente 239,09 mil toneladas despescadas, o equivalente a 47,1% do total da piscicultura. A espécie registrou um aumento de 9,3% em relação à produção obtida em 2015. Apresentando um aumento de 0,2% em relação ao ano de 2015, o tambaqui manteve a

segunda posição no *ranking* de peixes produzidos no país, com a despesca de 136,99 mil toneladas, o que representa 27,0% do total. A criação é maior no Norte do País (79,8%), principalmente no Estado de Rondônia, que responde por 50,8% da produção nacional e 63,7% da produção regional.

O Município de Orós (CE) lidera o *ranking* municipal da produção de tilápia, única espécie produzida no município, com a despesca de 8,74 mil toneladas despescadas em 2016. A segunda posição agora é ocupada por Morada Nova de Minas (MG) que, em 2015, ocupava a 11ª posição. Assis Chateaubriand (PR) manteve a terceira posição, com a produção de 7,00 mil toneladas.

As estatísticas mais atuais publicadas pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2016) comprovam o potencial da aquicultura no Brasil. No entanto, os cultivos de animais aquáticos devem ser realizados de forma a garantir a máxima produção e produtividade de forma sustentável, sem esquecer a sanidade e bem estar dos animais.

Com o avanço da tecnologia e o aumento da demanda por proteína animal, a aquicultura tem ocupado cada vez mais um espaço no cenário mundial, se consolidando como a atividade que mais cresce no agronegócio (FAO, 2016). As condições sanitárias e nutricionais dos animais são importantes para os piscicultores assegurarem uma boa qualidade do pescado do ambiente de cultivo até chegar ao consumidor (FUCHS, *et al.*, 2015).

Devido à crescente demanda mundial por proteína de origem animal, vem se observando a intensificação dos cultivos aquícolas, contudo, este crescimento explosivo é sujeito a inúmeros fatores que aumentam a susceptibilidade dos peixes às doenças, resultando em um alto percentual de mortalidade. A adoção do sistema intensivo na produção de peixes traz alguns problemas de ordem sanitária que são cada vez mais corriqueiros no cultivo, sendo necessário um programa de monitoramento das condições de hígidez dos animais cultivados (RANZANI-PAIVA *et al.*, 2013).

Existem, atualmente, medidas para prevenir o aparecimento de doenças, no entanto, os métodos de prevenção, tais como vacinação, também podem induzir o estresse por causa do manuseio. Outros métodos incluem a adição de antibióticos na ração, adição de produtos químicos na água e controle biológico, como o uso de outras espécies nas estruturas de cultivo. Neste sentido, a hematologia pode ser aplicada no intuito de avaliar as condições de bem estar do animal frente às adversidades encontradas no ambiente de cultivo. Segundo Costa *et al.*, (2014), o conhecimento da resposta hematológica sob diferentes dietas pode ser uma ferramenta útil para novas formulações, sob a ótica da defesa orgânica do animal, consequentemente a profilaxia de enfermidades.

Mudanças no meio externo modificam a homeostase dos peixes, tendo como consequências alterações fisiológicas, endócrinas e respostas imunológicas, e, segundo Nardocci *et al.* (2014), diferentes respostas imunológicas ajudam a mitigar os efeitos do estresse a nível celular. Quando este processo falha, os indivíduos sofrem mais para manter seu equilíbrio com o ambiente, produzindo condições satisfatórias para o surgimento de patologias (MCEWEN; GIANAROS, 2011). A resposta ao estímulo que gera o desequilíbrio na homeostase de um organismo é chamada de estresse e os estímulos que o geram são os agentes estressores (MCEWEN; WINGFIELD, 2010).

Visando a manutenção da homeostase dos peixes, a redução do estresse causado pelo manejo é fundamental. É importante manter as densidades de estocagem em níveis adequados para cada espécie, bem como separar as classes de tamanho, fazer a classificação para reduzir as interações comportamentais de agressividade e manter as redes e gaiolas limpas para ajudar no fluxo de água, reduzindo assim, o risco de degradação da água. Conforme o exposto, melhorar o rendimento do cultivo de peixes, tornando-os mais resistentes às doenças e ao estresse causado pelo manejo são os maiores desafios encontrados pelos piscicultores (ABDEL-TAWWAB; AHMAD, 2009).

Ao longo dos anos, diversos pesquisadores vêm criando medidas para evitar ou mitigar o efeito de agentes externos que possam comprometer o sucesso do cultivo. A inclusão de aditivos nas dietas de peixes é uma estratégia recente e vem ganhando considerável atenção (IBRAHEM; MOHAMED; IBRAHIM, 2013). Além de conter os nutrientes essenciais necessários para o bom funcionamento fisiológico do animal, estes aditivos também atuam como um meio pelo qual os peixes assimilam outros componentes que possam afetar positivamente a sua saúde (IBRAHEM *et al.*, 2010).

O objetivo geral desta tese foi avaliar a ação da suplementação de uma ração comercial com a microalga *Arthrospira platensis* nos parâmetros metabólicos e hematológicos de juvenis de tilápia do Nilo, frente a diferentes desafios estressantes, como a degradação da qualidade de água, o adensamento e a simulação de transporte.

Os objetivos específicos desta tese foram avaliar:

- ✓ As respostas metabólicas por meio da concentração de glicose sanguínea, lactato e proteína total e;
- ✓ As respostas hematológicas por meio dos valores de eritrócito, hematócrito, hemoglobina, volume corpuscular médio e concentração de hemoglobina corpuscular média.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Tilápia do Nilo e fatores estressantes do cultivo

Tilápias são peixes ciclídeos nativos do continente africano e pertencem a três gêneros da subfamília Tilapiane: *Tilapia*, *Oreochromis* e *Sarotherodon*. Segundo Maghna *et al.* (2016), existem cerca de 70 espécies de tilápias descritas taxonomicamente, distribuídas pelos rios do mundo, sendo que somente os animais pertencentes ao o gênero *Oreochromis* apresenta viabilidade para a aquicultura, em virtude dos índices de produtividade e adaptação a condições de cativeiro. As principais espécies cultivadas globalmente são *Oreochromis niloticus* (tilápia do Nilo), *Oreochromis mossambicus* (tilápia de moçambique) e *Oreochromis aureus* (tilápia áurea ou azul).

Animais da espécie *Oreochromis niloticus* são onívoros, podendo utilizar uma vasta gama de itens alimentares, incluindo as algas azuis (ABDEL-TAWWAB; EL-MARAKBY, 2004). Há relatos de bactérias potencialmente probióticas e patogênicas encontradas no trato intestinal de peixes cultivados em viveiros, tais como *Bacillus* sp., *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus collinoides*, *Lactobacillus coryniformis*, *Lactobacillus farciminis*, *Vibrio* sp. e *Pseudomonas fluorescens* (DEL'DUCA; CESAR; ABREU, 2015).

A criação de tilápias vem tendo um crescimento impressionante, o que faz com que, após o salmão e camarão, seja destacada como um dos produtos da aquicultura mais bem sucedidos no comércio internacional (GARCIA *et al.*, 2013). Conforme a FAO (2014), 135 países ao redor do mundo cultivavam comercialmente a tilápia. No ano de 2010, a produção de tilápias oriundas da aquicultura foi de aproximadamente 3,5 milhões de toneladas, enquanto que em 2013 a produção mundial de tilápia alcançou aproximadamente 4,7 milhões de toneladas, sendo a China responsável por 1,6 milhões de toneladas, seguida pelo Egito, Filipinas, México, Tailândia, Taiwan e Brasil (FITZSIMMONS; CEROZI; TRAN, 2014).

A tilápia do Nilo é uma das espécies mais importante dos grupos das tilápias. É a segunda espécie de peixe mais cultivada no mundo e teve sua produção quadruplicada na última década. Alguns fatores importantes para este crescimento foram a boa aceitação dos consumidores e preços estáveis no mercado (WANG; LU, 2015).

No Brasil, a aquicultura é uma atividade pecuária com expressiva evolução nos últimos anos com incremento na produção de mais de 35% na última década. O crescimento da produção aquícola continental foi de aproximadamente 40% no triênio (2008-2010) o que correspondeu a 38% da produção total de pescados em 2010, sendo 32% representados

somente pela aquicultura continental (BRASIL, 2012). Geralmente, a produção de tilápias no território brasileiro é realizada em pequenas e médias propriedades ou em águas da União, principalmente em viveiros escavados e tanques-rede instalados em reservatórios (KUBITZA, 2011).

O principal peixe de água doce produzido no Brasil é a tilápia, que representou 47,1% de toda a produção nacional em 2016, seguido pelo tambaqui, com 27,0% e do tambacu e tambatinga que representaram 8,9%. Os Estados de Rondônia (90,63 mil toneladas), Paraná (76,06 mil toneladas) e São Paulo (48,34 mil toneladas) foram os maiores produtores de peixes em 2016 (BRASIL, 2016). O estado do Ceará foi apenas o nono maior produtor do país em 2016, com uma produção de 17,37 mil toneladas.

A tilápia se destaca por sua resistência às doenças e tolerância a condições extremas de cultivo. Devido sua rusticidade, muitos produtores utilizam altas taxas de estocagem e, muitas vezes, em ambientes hostis que resultam em altos níveis de estresse. A densidade de estocagem é considerada na aquicultura como um agente estressor crônico, que está associado ao aumento dos níveis de cortisol que por sua vez é modulado pelo hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), conforme Andrade *et al.* (2015). A intensificação das metodologias de cultivo que ocorreu nos últimos anos graças à crescente consolidação mercadológica da tilápia fez com que os empreendimentos utilizassem densidades de estocagem muito altas (ASSIS; FREITAS, 2012). Como consequência desta elevada densidade utilizada nos cultivos, a qualidade de água fica comprometida, deixando os animais em situações estressantes, principalmente devido ao acúmulo de amônia tóxica.

A qualidade da água também é um fator primordial para a manutenção da ambiência em equilíbrio com os peixes. Neste sentido, o nitrogênio dissolvido na água merece uma atenção especial. Altas concentrações de resíduos nitrogenados, principalmente amônia e nitrito, são fatores determinantes para a manutenção da boa qualidade de água em ambientes de cultivo (ABREU; ESTEVES; URBINATI, 2012). Em determinadas condições, amônia pode ser encontrada na forma ionizada (NH_4^+) ou na forma não ionizada (NH_3). A alta toxicidade da amônia não ionizada concerne dela ser uma molécula lipofílica, enquanto o íon amônio é lipofóbico.

Outro manejo que expõe a tilápia ao estresse é o transporte. A atividade física associada ao estresse no transporte pode causar impactos durante e após este manejo. O transporte inadequado pode resultar em 100% de mortalidade devido às condições inapropriadas, sendo importante também acompanhar a sobrevivência pós-transporte. No Brasil, muitos piscicultores realizam o transporte de peixe vivo em sacos plásticos, sendo esta

prática condicionada a um limitado suprimento de oxigênio dissolvido e consequente aumento na concentração de metabólitos tóxicos, como a amônia (GONÇALVES *et al.*, 2010). Segundo Shabani *et al.* (2016), durante o transporte o peixe passa por inúmeros manejos que podem potencializar o estresse, como a captura no tanque e a exposição ao ar. Somado a estes fatores ainda podemos citar o adensamento durante o transporte, os choques mecânicos entre os animais e a transferência dos sacos ou caixas de transporte para os viveiros e/ou tanques.

2.2 *Arthrospira platensis*

Microalgas podem ser definidas como sendo agrupamentos polifiléticos de microrganismos fotossintetizantes, autotróficos, unicelulares, coloniais ou multicelulares simples (GUIRY, 2012). Segundo o mesmo autor, existem cerca de 72.500 espécies, sendo já 44.000 descritas, distribuídas nos reinos *Bacteria* (cianobactérias), *Plantae* (algas verdes), *Chromista* (diatomáceas) e *Protozoa* (dinoflagelados). Dependendo da espécie, o tamanho de uma microalga pode variar de poucos micrômetros (μm) a algumas centenas de micrômetros. Além disso, ao contrário das plantas superiores, as microalgas não possuem raízes, caules e folhas. São seres capazes de realizar a fotossíntese sendo responsáveis por produzirem aproximadamente a metade do oxigênio atmosférico e, simultaneamente, utilizam o dióxido de carbono para crescerem autotroficamente (SUGANYA *et al.*, 2016).

Em regiões tropicais e subtropicais, onde o cultivo é elevado, as algas ganharam uma atenção especial como uma fonte alternativa de proteína para serem utilizadas em rações para peixes cultiváveis (IBRAHEM; IBRAHIM, 2014). Segundo Roselet (2015), a produção comercial de microalgas está restrita apenas poucas espécies, sendo a *Arthrospira platensis* empregada na nutrição humana e animal, na produção de ficobiliproteínas e na indústria cosmética, cresce em ambientes com elevadas concentrações de bicarbonato.

A composição química da *Arthrospira* inclui: lipídios (6 a 13%), dos quais metade são ácidos graxos, ficocianina (20 a 28%) e carboidratos (15 a 20%), principalmente polissacarídeos. Estas moléculas possuem uma variedade de atividades biológicas, atuando contra o vírus do herpes tipo 1 (HSV-1), além da atividade imunoestimulante e anticoagulante (CHAIKLAHAN *et al.*, 2013). Além disso, também averiguaram propriedades anticancerígenas e antioxidantes (IBRAHEM *et al.* 2010, IBRAHEM; IBRAHIM, 2014).

Pertencente ao grupo das cianobactérias, a *Arthrospira platensis* (Figura 1) é rica em compostos antioxidantes, tais como a ficocianina, o β -caroteno, os tocoferóis e o superóxido dismutase, compostos que atuam na eliminação de radicais livres (YEGANEH; TEIMOURI;

AMIRKOLAIE, 2015), possui cerca de 60% de proteína digestível, possuindo todos os aminoácidos essenciais (CAPEELI; CYSEWSKI, 2010), além influenciar na produção de glóbulos vermelhos e brancos no sangue de humanos (LISHENG *et al.*, 1991).

A cianobactéria *S. platensis* já vem sendo bastante cultivada e pode ser utilizada como uma fonte barata para extração de ficobiliproteínas (MORAES; BURKET; KALIL., 2010). Devido algumas propriedades intrínsecas deste microorganismo, as pesquisas vão além do interesse para sua utilização como ingrediente natural e corante para alimentos. Segundo Chen, Wong e Zheng (2006), esta cianobactéria apresenta resultados positivos em tratamentos terapêuticos de doenças como Alzheimer, Parkinson e na prevenção de cânceros orais e cutâneos.

Figura 1 – Imagem microscópica (objetiva de 10x) da microalga *Arthrospira platensis*.



Fonte: M.Sc Anderson Alan da Cruz Coêlho.

Patil *et al.* (2008) relataram que o efeito antioxidante presente na *Arthrospira* é atribuído às suas ficobiliproteínas, como a ficocianina e, além disso, sugeriram que a *Arthrospira* pode ser utilizada como um suplemento antioxidante dietético natural ou adicionada em produtos, como barras de cereais, em frutas ou bebidas, evitando algumas doenças crônicas onde radicais livres estão envolvidos.

Devido ao seu alto teor de proteína e valor nutricional, a adição de *Arthrospira* nas dietas de animais tem sido empregada em todo o mundo (WUANG *et al.*, 2016), sendo que testes em várias espécies de peixes, crustáceos e moluscos já foram realizados (UNGSETHAPAHND *et al.*, 2010). Segundo Ibrahim *et al.* (2013), a quantidade de *Arthrospira* a ser adicionada em rações animais ainda não foi unificada, sendo necessários

estudos para determinar a concentração ideal que poderá resultar nos efeitos desejados sobre o desempenho zootécnico, as respostas imunológicas e a resistência às infecções.

A microalga *Arthrospira* também está inserida no grupo de organismos que agem como probiótico, tendo sido utilizada como suplemento alimentar no combate e prevenção de doenças de animais aquáticos (ABDEL-TAWWAB; AHMAD, 2009). Probióticos são substâncias que podem potencializar a imunidade de animais aquáticos, sendo uma alternativa no combate de infecções que vem recebendo grande atenção por parte dos tilapicultores de todo mundo (HAI, 2015).

A utilização de microalgas na suplementação de rações leva vantagem sobre bactérias probióticas na dosagem empregada. A concentração eficaz de bactérias probióticas para peixes comumente utilizada gira em torno de 10^5 UFC/mL (HAI; BULLER; FOTEDAR, 2009), enquanto a tilápia necessita de concentrações ainda maiores (HAI; FOTEDAR, 2009). Por outro lado, de acordo com esses autores é necessário entre 5 e 10 g de *Spirulina* /Kg de ração na dieta para sua ação probiótica.

2.3 O estresse e as respostas fisiológicas dos peixes

O estresse pode ser definido como uma perturbação intrínseca ou extrínseca a um determinado organismo, causando um desequilíbrio na homeostase ou no seu equilíbrio fisiológico dinâmico (BARTON, 2002). A ação dos agentes estressores pode ameaçar e/ou perturbar o equilíbrio homeostático, produzindo mudanças comportamentais e fisiológicas nos animais, obrigando-os a se adaptem às novas condições (IVERSEN; ELIASSEN, 2009). Conforme Moreira *et al.* (2015), metodologias para diminuir a interferência de agentes estressores nas funções vitais e fisiológicas dos peixes são importantes durante o manejo.

De acordo com Barbas (2015), o estresse está associado à realocação da energia para atividades que demandam muita energia, tais como crescimento e reprodução, bem como atividades que promovam a restauração da homeostase, tais como: respiração, locomoção, balanço hidromineral e reparação de tecidos. As consequências do estresse dependerão da ação e do tempo do agente estressor, bem como do tipo de estresse: crônico ou agudo. O estresse agudo ocorre quando há algum erro momentâneo no manejo causado por uma manipulação abrupta ou também quando há uma modificação no meio ambiente (BARCELLOS *et al.*, 1999a), enquanto o estresse crônico ocorre quando os animais permanecem por um longo período em condições inadequadas, como por exemplo, em altas densidades de estocagem (BARCELLOS *et al.*, 1999b) e em má qualidade da água.

De acordo com Lefrançois *et al.* (2001), o estresse em peixes provoca modificações na agressividade, gerando uma maior exigência metabólica, aumentando o consumo de oxigênio e produzindo mais metabólitos. Ademais, afeta a atividade dos leucócitos, facilitando a infecção por fungos e bactérias, podendo causar mortalidade (DURVILLE; COLLET, 2001).

Segundo Small (2004), o estresse também tem a capacidade de inibir o desempenho reprodutivo de peixes. Lima *et al.* (2006) corroboram esta afirmativa em seus estudos ao concluírem que o estresse de manejo pode adiantar ou atrasar o período normal de reprodução de algumas espécies, como a truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss*, e a tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, que dependendo do estágio de maturação gonadal, o estresse pode causar completamente a parada de sua reprodução.

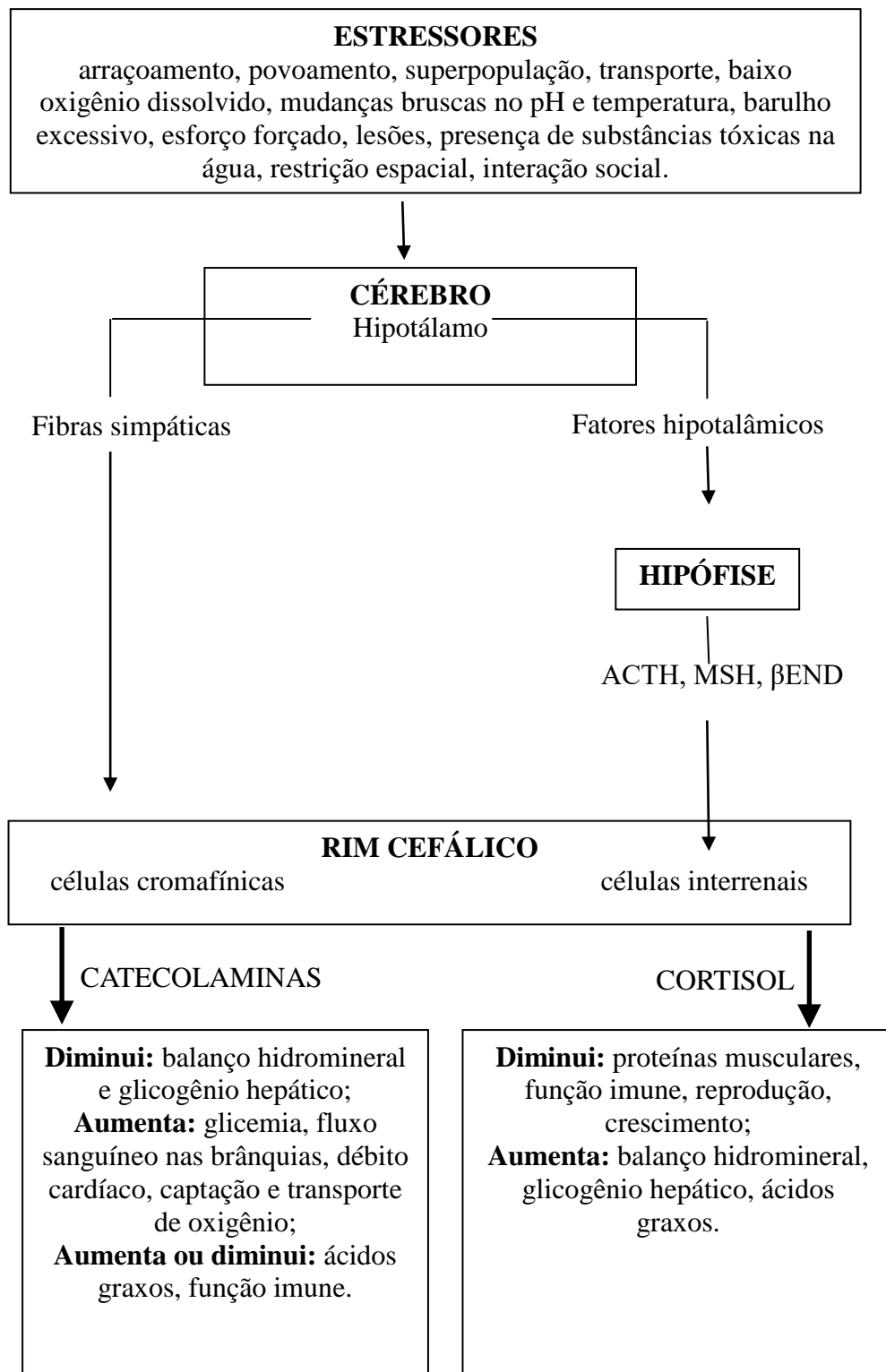
As respostas fisiológicas expressas pelos peixes devido aos estímulos adversos ocasionados por agentes estressores podem ser classificadas como primárias, secundárias e terciárias (BILLER *et al.*, 2008). As respostas primárias são as neuroendócrinas ou hormonais que provocam a liberação dos hormônios do estresse, como as catecolaminas e os corticosteroides (ELLIS *et al.*, 2012), e referem-se ao reconhecimento do agente estressor, através do sistema nervoso central (SNC), ativando o sistema cérebro-pituitária-inter-renal (CPI) e as células simpáticas de cromafina (CSC) do cérebro (BARBOSA; MORAES; INOUE, 2007). O entendimento de funcionamento deste sistema é crucial para a elucidação de uma gama de mecanismos importantes para a manutenção da homeostase dos peixes (ARDIANSYAH; FOTEDAR, 2016). Logo que o estímulo adverso é percebido, ocorre a liberação das catecolaminas e dos corticosteróides na corrente sanguínea (ESLAMLOO *et al.*, 2014), caracterizado pelo aumento da concentração de cortisol no sangue, evidenciando mudança na homeostase (ADAMANTE *et al.*, 2008). As catecolaminas induzem a quebra de glicogênio para aumentar a entrada de energia durante situações estressantes (CONCOLLATO *et al.*, 2014), enquanto o cortisol é envolvido, possivelmente com outros hormônios e no aumento de ácidos graxos no sangue (ROTHWELL *et al.*, 2005).

As respostas secundárias são as mudanças nos parâmetros fisiológicos e bioquímicos, caracterizados pelo aumento da glicose plasmática e por distúrbios na osmorregulação (BRANDÃO; GOMES; CHAGAS, 2006). A glicose é um substrato energético cuja produção está voltada para ajudar o metabolismo animal a lidar com a demanda energética, principalmente nas situações estressantes (ARDIANSYAH; FOTEDAR, 2016). Segundo Ellis *et al.* (2012), o aumento no número de células vermelhas no sangue também é característica das respostas secundárias. Quando os peixes estão submetidos a algum agente estressor,

necessitam de energia para se adaptarem às novas condições. Desta forma, eles fazem uso de suas reservas hepáticas de glicogênio através da glicogenólise, disponibilizando energia necessária para as funções vitais. Além da elevação de glicose na corrente sanguínea, o aumento da concentração de lactato decorrente do metabolismo anaeróbico, também é uma resposta secundária ao estresse (LI *et al.*, 2009).

As respostas terciárias são caracterizadas pelo comprometimento do crescimento, mudanças no comportamento e aumento da susceptibilidade a doenças. Estas respostas geralmente independem do agente estressor, mas o aspecto quantitativo desta resposta depende da intensidade e duração do estímulo (MEZEAUD; MEZEAUD; DONALDSON, 1977). É neste estágio de estresse que as reais perdas na produção de peixes em cativeiro são observadas. O esquema geral das mudanças fisiológicas ocasionadas pelo estresse em peixes está representado na Figura 2.

Figura 2 – Diagrama generalizado dos elementos neuroendócrinos da resposta ao estresse em peixes teleósteos. ACTH – Hormônio Adreno Corticotrófico, MSH – Hormônio Melanócito Estimulante, β END – Endorfina.



Fonte: Adaptado de Wendelaar Bonga (1997).

2.4 Imunoestimulantes

Segundo Fuchs *et al.* (2015), uma variedade de aditivos, incluindo probióticos, prebióticos, acidificantes e extratos derivados de plantas ou animais, estão comercialmente disponíveis para rações de animais aquáticos. Alguns pesquisadores avaliaram vários destes aditivos com relação ao efeito no desempenho do crescimento, resposta imunológica e resistência à doenças, bem como comunidades microbianas intestinais para várias espécies de peixes.

Vários estudos vêm demonstrando que estes aditivos estimulam os sistemas imunológicos e hematológicos que estão associados com os mecanismos de defesa dos peixes (BATISTA *et al.*, 2016). Segundo Nayak (2010), os efeitos benéficos do uso de probióticos na ração podem aparecer com um regime alimentar entre uma a dez semanas. Entretanto, Batista *et al.* (2015) avaliando o efeito de probióticos com regime alimentar de um mês, não obtiveram nenhum efeito na resposta imune de juvenis de linguado, *Solea senegalensis*.

De acordo com Oliva-Teles (2012), o uso de imunoestimulantes como aditivos na aquicultura aumenta a defesa dos organismos contra as adversidades as quais os animais são expostos, como também é uma alternativa de tratamento para tratar algumas doenças em peixes, sua administração pode ser por banho/imersão (ÇEK; TURAN; ATIK, 2007), via injeção ou via administração oral (HARIKRISHNAN; BALASUNDARAM; HEO, 2011). A bioencapsulação também é uma alternativa para o uso de imunoestimulantes na aquicultura. Rotíferos enriquecidos com imunoestimulantes promoveram maior crescimento em larvas de *Pagrus major* (TAKAOKA *et al.*, 2011).

A utilização de imunoestimulantes vem mostrando ser eficaz na melhoria da resistência dos peixes contra condições adversas do ambiente (YEGANEH; TEIMOURI; AMIRKOLAIE, 2015). Segundo Talpur *et al.* (2013), sua aplicação pode aumentar a proteção dos animais contra agentes patógenos, incrementar o mecanismo de defesa não específico, além de melhorar o desempenho zootécnico. Portanto, a utilização dos imunoestimulantes naturais na aquicultura pode melhorar a resposta imune dos peixes contra adversidades impostas pelo meio. Além disso, segundo Andrews *et al.* (2011), a utilização de imunoestimulantes naturais são menos onerosos do que sintéticos comercializados.

Os polissacarídeos são formados por cadeias de monossacarídeos unidos por ligações glicosídicas e são considerados como ótimos imunoestimulantes (SONG *et al.*, 2014). Os polissacarídeos podem apresentar sulfato na sua estrutura química, sendo denominados de polissacarídeos sulfatados (PS). Por definição, os PS são polímeros formados por unidades

repetitivas de açúcares e carregados negativamente devido à presença do radical sulfato (STYER, 1996). Segundo Percival e McDowel (1967), os PS estão presentes nas algas pardas, vermelhas e verdes na forma de fucanas (fucoïdanas), galactanas (carragenanas e ágares) e arabino-galactanas, respectivamente.

Os polissacarídeos sulfatados da alga marinha vermelha *Botryocladia occidentalis* foram administrados na forma de banhos de imersão em pós-larvas do camarão *Litopenaeus vannamei* submetidos ao estresse (BARROSO *et al.*, 2007) e incorporados na ração de camarões *L. vannamei* infectados com o vírus da mionecrose infecciosa, o IMNV (COSTA *et al.*, 2006), sendo observados em ambos os casos um aumento significativo da sobrevivência dos indivíduos.

Os potenciais usos biotecnológicos de polissacarídeos naturais alcançaram um maior reconhecimento devido à tendência global do mercado de substituir compostos sintéticos por produtos naturais e à crescente necessidade de compreensão das funções dos açúcares sulfatados. Embora os polissacarídeos de macroalgas já venham sendo estudados há muitos anos, os de microalgas permanecem sem a devida caracterização e a grande variedade de açúcares complexos, oriundos do metabolismo das células, ainda representa um grande desafio (ARAD; LEVY-ONTMAN, 2010).

Segundo Oliva-Teles (2012), o uso dos imunoestimulantes na aquicultura não se trata apenas de uma ferramenta para melhorar as respostas de defesa dos animais, mas também uma alternativa frente aos antibióticos e agentes quimioterapêuticos utilizados no tratamento de doenças de peixes. Existem diversas estratégias de suplementação alimentar desenvolvidas para várias espécies de interesse aquícola, sendo o uso de imunoestimulantes um dos principais suplementos estudados para o uso em tilápias do Nilo.

2.5 Parâmetros hematológicos

O sangue é um tecido conectivo com propriedades especiais, cuja matriz extracelular é líquida, composta por 90% de água e 7% de proteínas (globulinas, albumina e fibrinogênio) que são imprescindíveis para manutenção da pressão osmótica do plasma. Além disso, o sangue transporta metabólitos, hormônios, enzimas e eletrólitos variados (RANZANI-PAIVA; SILVA-SOUZA, 2004). Segundo os mesmos autores, entre as funções que o sangue desempenha destacam-se a distribuição de calor, o transporte de gases respiratórios, nutrientes e produtos da excreção, além da defesa do organismo, correspondendo a um volume de 1,5 a 3,0% do peso vivo em peixes teleósteos.

A hematologia estuda as alterações dos padrões e dos distúrbios morfológicos das células do sangue, permitindo que seja estabelecida uma relação entre os parâmetros sanguíneos e a sanidade dos peixes (TAVARES-DIAS; MORAES, 2004). O monitoramento do perfil hematológico vem sendo utilizada amplamente como uma ferramenta na avaliação do de bem estar e saúde dos animais (DAL'BÓ *et al.*, 2015).

As células sanguíneas são divididas em vermelhas (eritrócitos) e brancas (leucócitos), o que pode ser visualmente constatado após a centrifugação do sangue, que separa a série vermelha da série branca do sangue (DAMATTA *et al.*, 2009). Além das citadas, os trombócitos também fazem parte do sangue, sendo células responsáveis pelo processo de coagulação sanguínea.

A manutenção da hemostasia é imprescindível para todos os organismos multicelulares, uma vez que quando surge um dano tecidual com injúria vascular, o organismo está sujeito a perda de suprimento sanguíneo que, se não for interrompido, pode levar a morte. Assim, os trombócitos são bastante abundantes, perdendo em quantidade apenas para os eritrócitos (SOUSA *et al.*, 2014).

Os estudos dos parâmetros hematológicos dos peixes permitem o conhecimento da capacidade respiratória da espécie e auxiliam na compreensão de seu sistema imunológico pela análise do eritrograma e pela análise quantitativa e morfológica dos leucócitos. Os parâmetros eritro-leucocitários são reconhecidamente utilizados como indicadores no diagnóstico e prognóstico para avaliação de condições de estresse, tanto em animais no ambiente natural como em cativeiro (SANTOS; TAVARES-DIAS, 2011). Os eritrócitos são as células mais abundantes na circulação e possuem como função principal o transporte de oxigênio e gás carbônico (THRALL, 2007). Os eritrócitos maduros de peixes teleósteos possuem formato elíptico, esférico ou oval, com núcleo central de cromatina condensada, o citoplasma tem aparência clara e homogênea, podendo conter quantidade variável de pontos claros rarefeitos ou vacúolos associados à degeneração de organelas celulares (TAVARES-DIAS; MORAES, 2004). As alterações morfológicas nestas células estão geralmente relacionadas à resposta orgânica frente a um processo anêmico.

Os leucócitos são as células responsáveis pela defesa humoral e celular dos peixes, utilizando a via sanguínea para evitar possíveis infecções e danos teciduais. As linhagens celulares que compõem a série leucocitária podem ser diferenciadas através da presença ou ausência de granulações, características morfológicas e suas propriedades tintoriais quando em contato com corantes específicos (SATAKE; PADUA; ISHIKAWA, 2009). Os leucócitos usualmente observados no plasma de peixes são os linfócitos,

neutrófilos, monócitos, basófilos e eosinófilos (SILVA; LIMA; BLANCO, 2012).

Os linfócitos são células de formato arredondado, com citoplasma basofílico, sem granulações e núcleo arredondado com a cromatina bastante densa (SILVA *et al.*, 2012). Os linfócitos são responsáveis pela resposta imune específica humoral e celular, produzindo anticorpos que atuam no processo de memória imunológica, bem como promovem a liberação de fatores reguladores da função imune (FALCON, 2007).

Os neutrófilos possuem morfologia arredondada, núcleo em forma de bastonete e granulações citoplasmáticas acidófilas. Essas células possuem propriedades fagocíticas com ação bactericida, além da atividade microbicida desencadeada pelo processo de explosão respiratória, caracterizado pela conversão do oxigênio molecular em compostos e metabólitos derivados do oxigênio (FALCON, 2007).

Os eosinófilos e basófilos são raramente encontrados no sangue periférico de peixes, mas também participam da resposta imune, sendo encontrados com mais frequência no trato intestinal e nas brânquias, bem como na corrente sanguínea em ocasiões de infestação parasitária (SILVA; LIMA; BLANCO, 2012).

Os monócitos são células de grande tamanho, e geralmente esféricas, podendo apresentar polimorfismo. Essas células são de grande importância no sistema imune dos peixes, pois possuem a capacidade de ingestão de material estranho ao organismo, assim como restos celulares da resposta inflamatória e de outros processos degenerativos, além de secretarem radicais livres de oxigênio e nitrogênio, contribuindo com a destruição de diferentes patógenos (FALCON, 2007; SILVA *et al.*, 2012).

O hematócrito é um índice que corresponde à porcentagem de eritrócitos presentes num determinado volume de sangue após centrifugação (FARREL, 2011), se constituindo num ótimo indicador de saúde animal frente aos diversos fatores ambientais aos quais os peixes estão sujeitos, pois é o índice hematológico com menor coeficiente de variação (TAVARES-DIAS; MORAES, 2003). A hemoglobina é uma proteína conjugada formada de 96% de proteínas e por um grupo prostético de coloração vermelha denominado heme, o qual é formado por um átomo de ferro e grupos porfirínicos (LOPES; BIONDO; SANTOS, 2007). Essa proteína conjugada funciona como um pigmento respiratório que realiza o transporte do oxigênio, através do sistema circulatório para os órgãos e tecidos (FARREL, 2011). O hematócrito, a concentração de hemoglobina e a contagem total do número de hemácias podem ser indicadores da capacidade de transporte de oxigênio no sistema circulatório dos peixes (SILVA; LIMA; BLANCO, 2012).

O teste de proteínas plasmáticas totais auxilia na interpretação de diversas

situações fisiológicas, sendo baseado na quantificação da albumina, globulina e fibrinogênio, que pode levar a constatação de problemas nutricionais (LOPES; BIONDO; SANTOS, 2007).

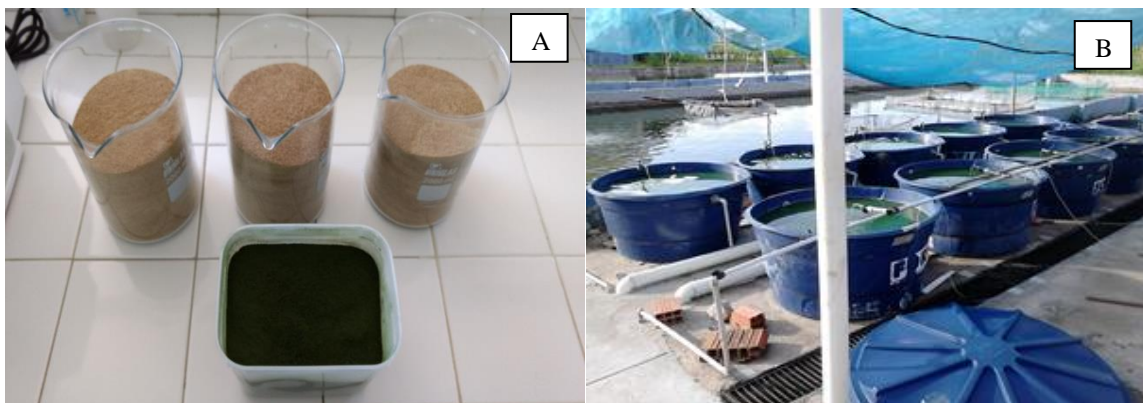
O volume corpuscular médio e a hemoglobina corpuscular média são índices hematimétricos calculados a partir dos parâmetros hematológicos primários (hemoglobina, hematócrito e contagem de eritrócitos), sendo o volume corpuscular médio indicador da dinâmica cardíaca e do fluxo sanguíneo, enquanto a hemoglobina corpuscular média demonstra como está a função respiratória (HOUSTON, 1990).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção da biomassa de *Arthrospira platensis* e preparo da ração

A biomassa seca de *A. platensis* foi obtida após a filtragem, em malha 60 µm, da biomassa úmida, a partir de cultivos em caixas de 250 L realizados na Estação de Aquicultura Prof. Dr. Raimundo Saraiva da Costa (Figura 3), pertencente ao Departamento de Engenharia de Pesca/UFC. Posteriormente, a biomassa úmida foi submetida à lavagem com água deionizada para retirada do sal e seca em estufa com recirculação de ar a 60 °C. Após a secagem, a biomassa, já em forma de farinha, foi adicionada à ração comercial.

Figura 3 – Biomassa seca de *Arthrospira platensis* e ração comercial (A). Cultivo integrado entre a *S. platensis* e a tilápia do Nilo em ambiente externo (B).



Fonte: Arquivo pessoal (A) e M.Sc Leonardo Galvão (B)

A farinha (biomassa seca) de *A. platensis* foi adicionada à ração pulverizada mediante sua dissolução em água morna (45 °C) com adição de gelatina em pó (5%). Após a mistura dos ingredientes, a ração foi seca em estufa com recirculação de ar por 24 horas na temperatura de 55 °C. A ração utilizada para os animais do grupo controle passou pelo mesmo processamento com exceção da adição da farinha de *A. platensis*.

Os animais que perfizeram o Grupo Tratamento foram alimentados com ração comercial (28% PB) suplementada com 20% da farinha de *A. platensis*, enquanto no Grupo Controle, a ração ofertada aos peixes não possuía a adição da microalga. A ração foi ofertada para ambos os grupos, Controle e Tratamento, três vezes ao dia e houve uma troca de água diária de 10% do volume total para a manutenção da qualidade de água. O arraçoamento durou 21 dias com a oferta *ad libitum* aos animais.

3.2 Obtenção e aclimação dos animais

Os juvenis utilizados neste trabalho tinham peso médio de $19,5 \pm 2,9$ g e comprimento médio de $8,1 \pm 0,4$ cm. Eles foram provenientes da Estação de Piscicultura José William Bezerra e Silva, e pertenciam ao Instituto Federal de Ensino, Ciência e Tecnologia do Ceará, Campus Aracati/CE e da Piscicultura Aquanorte, situada no município de Russas/CE.

Após a chegada dos juvenis ao Laboratório de Aquicultura do Instituto Federal do Ceará, Campus Morada Nova, os animais foram aclimatados durante uma semana em caixas de polietileno com capacidade para 1.000 L, providas de aeração constante e arraoados duas vezes ao dia com ração comercial.

3.3 Degradação da qualidade da água

Durante 21 dias os animais foram cultivados em seis aquários (três aquários para o Grupo Controle e três para o Grupo Tratamento), contendo cada um 200 L de água (em 250 L de volume útil) e com aeração constante. Além da manutenção satisfatória de oxigênio (O_2) neste período, os demais parâmetros físicos e químicos da água (temperatura, pH, amônia total, nitrito e nitrato) estiveram sob observação diária e mantidos dentro da faixa de conforto para espécie.

Em cada aquário foram estocados 50 peixes. Após o período de arraçoamento de 21 dias, todos os aquários tiveram a aeração retirada. Esta ação contribuiu substancialmente para a diminuição da qualidade da água, principalmente para a depleção do oxigênio e o aumento de compostos nitrogenados. Os animais permaneceram sob estas condições por 24 horas, quando, finalmente, os aeradores retornaram para cada aquário. Neste momento, a coleta de sangue foi realizada em doze indivíduos (seis para o Grupo Controle e seis para o Grupo Tratamento). As coletas seguintes foram realizadas 24, 48 e 72 horas após o reestabelecimento da aeração.

3.4 Adensamento

Os animais foram distribuídos em seis caixas de 1.000 L, sendo estocados 300 peixes em cada caixa ($0,3$ peixes L^{-1}) e divididos em dois grupos (Controle e Tratamento), sendo arraoados três vezes ao dia com a respectiva ração para cada Grupo, como explicado no item 3.2. Após este período, os animais foram transferidos para seis aquários de 200 L (três

aquários por tratamento), contendo 100 L de água, nas densidades de 50, 100 e 150 peixes por aquário, cada um com aeração individual e constante, onde passaram 24 horas nestas condições. Logo após este período, seis peixes de cada tratamento foram capturados para a coleta de sangue. Os peixes restantes foram transferidos para três caixas de 1.000 L para as coletas posteriores de sangue (24, 48 e 72 horas depois).

3.5 Transporte

Após o período de 21 dias nas caixas de polietileno, alimentados com as respectivas rações (preparadas como explicado no item 3.2) e um jejum de 24 horas, os peixes de ambos os grupos, tratamento e controle, foram capturados aleatoriamente e transferidos para seis sacos plásticos de 15 L de volume útil (8 peixes por embalagem), contendo 4 L de água e 2/3 de oxigênio puro. A simulação de transporte teve duração de quatro horas, onde os peixes foram colocados nos sacos plásticos, os quais foram inflados com oxigênio puro e, em seguida, amarrados com ligas de borracha. Após este procedimento, os sacos foram dispostos lado a lado, e a cada 15 minutos, foram agitados manualmente simulando a movimentação durante o transporte. Antes da simulação e ao seu término, foram aferidos os seguintes parâmetros físicos e químicos da água das embalagens de transporte: temperatura, concentração de oxigênio dissolvido, pH e concentração de amônia total.

As coletas de sangue foram realizadas antes do transporte (nas caixas), ao término do transporte, 24, 48 e 72 horas após a finalização. Na primeira coleta, realizada imediatamente após a abertura dos sacos, foram amostrados doze animais (dois peixes de cada embalagem), o restante dos peixes foi transferido para aquários de 200 L, onde permaneceram até as coletas posteriores, sendo amostrados doze peixes (seis do controle e seis do tratamento) para cada tempo de coleta.

3.6 Coleta de sangue e análise dos parâmetros hematológicos

O sangue dos animais foi coletado por punção intracardíaca. O sangue foi alíquotado em duas partes: a primeira alíquota foi transferida para microtubos contendo anticoagulante (EDTA) e fluoreto de potássio; e a segunda alíquota foi centrifugada (4.000 x g por 10 minutos).

A primeira alíquota foi utilizada para análise de eritrócitos, hemoglobina e

hematócrito. A contagem dos eritrócitos (RCB) foi realizada pelo método do hemociômetro em câmara de Neubauer, utilizando o formol citrato como solução diluente e corante. Para determinação da porcentagem de hematócrito, utilizou-se centrífuga para micro-hematócrito numa rotação de 5.000 rpm durante cinco minutos (GOLDENFARB *et al.*, 1971). A concentração de hemoglobina foi determinada de acordo com a metodologia de Collier (1944), diluindo o sangue na solução de Drabkin (1:200) e posterior leitura da absorbância em 540 nm por meio de espectofotometria. Posteriormente a essas análises, procedeu-se ao cálculo dos seguintes índices hematimétricos: volume corpuscular médio [VCM = (Ht x 10)/eritrócitos] e concentração de hemoglobina corpuscular média [CHCM = (Hb/Ht) x 100], segundo Wintrobe (1934).

A segunda alíquota foi centrifugada (4.000 x g por 10 minutos) para separação do plasma e soro. Do plasma, 10 µL foi utilizado para aferição de glicose e mais 10µL para determinação do lactato, ambos utilizando medidor digital multiparâmetros (®Roche). Um refratômetro manual de Goldenberg foi utilizado para mensuração da proteína plasmática.

3.7 Análises estatísticas

As análises dos parâmetros da água e hematológicos para as duas dietas foram realizadas utilizando o software Bioestat 5.3. Inicialmente foi aplicado o teste Kolmogorov-Smirnov para testar a normalidade dos valores obtidos. Em seguida, os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA). Quando o valor de F indicou diferença significativa ($p < 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. Para o experimento 3.4 (adensamento), foi realizado teste de Tukey bifatorial. Os resultados estão apresentados como médias \pm desvio padrão em todas as análises.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Degradação da qualidade de água

A retirada da oxigenação dos cultivos de juvenis de tilápia do Nilo por um período de 24 horas resultou em mudanças significativas em todos os parâmetros de qualidade de água, exceto na temperatura, conforme mostra a Tabela 3. A concentração de oxigênio dissolvido caiu para 2,34 mg/L e 2,12 mg/L para os tratamentos da Dieta 1 e Dieta 2, respectivamente. Os valores de pH de ambos os tratamentos foram significativamente menores em relação ao pH da água dos respectivos grupos Controle.

Tabela 3 – Valores médios e desvio padrão (entre parênteses) dos parâmetros físico-químicos da água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, arraçoados com duas dietas (Dieta 1 = Ração comercial e Dieta 2 = Ração Comercial + *Arthrospira platensis*) e submetidos ao desafio da má qualidade de água.

Parâmetro	Controle		Após 24 horas sem aeração	
	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 1	Dieta 2
Oxigênio dissolvido (mg/L)	6,92 (0,73)	6,80 (0,60)	2,34* (0,88)	2,12* (0,98)
Temperatura (°C)	27,33 (0,43)	27,40 (0,40)	27,65 (0,33)	27,98 (0,44)
pH	7,93 (0,10)	7,87 (0,10)	6,54* (0,07)	6,42* (0,06)
Nitrato (mg/L)	6,44 (0,77)	6,61 (0,65)	8,75* (0,70)	8,89* (0,77)
Nitrito (mg/L)	0,33 (0,03)	0,36 (0,03)	0,49* (0,04)	0,55* (0,07)
Amônia Total (mg/L)	0,78 (0,04)	0,85 (0,07)	2,98* (0,03)	3,01* (0,08)

Asterisco (*) compara as dietas em relação ao seu respectivo grupo controle; Valores médios acompanhados de letras iguais, ou ausente de letra, não diferem entre si estatisticamente ($p > 0,05$); Controle (amostragem realizada antes do desafio).

Este decréscimo pode estar relacionado com a produção de dióxido de carbono devido à respiração dos peixes, que leva a formação de ácido carbônico após sua dissociação em íons H^+ e HCO_3^- , acidificando ligeiramente a água (BOYD, 1982). Todos os compostos nitrogenados avaliados tiveram aumento significativo, expondo os peixes a condição

desfavorável e fora da faixa de conforto para os peixes (BOYD; TUCKER, 1998).

A exposição dos peixes à condição inadequada de qualidade de água influenciou no número de eritrócitos em ambos os grupos quando amostrados 24 horas após a Dieta AD (Tabela 4). A diminuição significativa ($p < 0,05$) para $0,93 \times 10^6/\mu\text{L}$ e $0,92 \times 10^6/\mu\text{L}$ em relação ao grupo controle nos peixes da dieta 1 e dieta 2, respectivamente, difere dos resultados de Póvoa *et al.* (2008) que, ao submeterem *Brycon opalinus* à condição de hipóxia, obtiveram um aumento no número de eritrócitos.

Tabela 4 – Valores médios e desvio padrão (entre parênteses) da série vermelha do sangue (RBC = eritrócitos, Ht = hematócrito e Hb = taxa de hemoglobina) e índices hematimétricos (VCM = Volume Corpuscular Médio e CHCM = Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média) de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, arraçoados com duas dietas (Dieta 1 = Ração comercial e Dieta 2 = Ração Comercial + *Arthrospira platensis*) e submetidos ao desafio da degradação da qualidade de água.

	Controle		24AD		48AD		72AD	
	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 1	Dieta 2
RBC ($10^6/\mu\text{L}$)	1,63 ($\pm 0,3$)	1,43 ($\pm 0,2$)	0,93A* ($\pm 0,3$)	0,92* ($\pm 0,3$)	1,52aB ($\pm 0,4$)	0,83b ($\pm 0,2$)	1,27AB ($\pm 0,3$)	1,23 ($\pm 0,3$)
Ht (%)	31,3 ($\pm 0,9$)	31,5 ($\pm 1,2$)	30,7AB ($\pm 2,1$)	28,2A ($\pm 1,8$)	24,3B* ($\pm 1,9$)	20,7B* ($\pm 1,3$)	33,3A ($\pm 1,5$)	19,3B* ($\pm 1,4$)
Hb (g/dL)	3,81 ($\pm 1,5$)	3,62 ($\pm 1,2$)	2,52a ($\pm 0,9$)	5,17bA* ($\pm 0,4$)	2,62 ($\pm 0,8$)	3,58B ($\pm 0,6$)	2,73a (1,0)	5,74bA* ($\pm 0,6$)
VCM (fL)	187,5 ($\pm 20,4$)	205,6 (40,0)	194,8 ($\pm 6,9$)	208,7A ($\pm 13,3$)	158,8 ($\pm 47,0$)	205,3A ($\pm 34,9$)	153,5 ($\pm 31,2$)	158,7B* ($\pm 15,3$)
CHCM (%)	21,8 ($\pm 1,3$)	20,8 ($\pm 1,0$)	21,8A ($\pm 0,9$)	23,7A* ($\pm 1,9$)	23,3B ($\pm 0,6$)	24,3A* ($\pm 0,6$)	20,7A ($\pm 1,0$)	28,8B* ($\pm 2,0$)

Letras minúsculas comparam as duas dietas no mesmo dia de amostragem; Letras maiúsculas comparam a mesma dieta nos diferentes dias de amostragem; Asterisco (*) compara as dietas em relação ao seu respectivo grupo controle; Valores médios acompanhados de letras iguais, ou ausente de letra, não diferem entre si estatisticamente ($p > 0,05$); Controle (amostragem realizada antes do desafio).

Segundo Tavares-Dias e Mariano (2015), a elevação do número de eritrócitos no sangue de peixes condiciona os animais a terem uma maior oxigenação no sangue, além disso o baço também contribui para o aumento destas células (ROJAS, 2011), sugerindo que a elevação na concentração de eritrócitos é uma resposta à condição de hipóxia. Os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que não houve elevação de eritrócitos nas primeiras vinte e quatro horas após o desafio, sugerindo que, embora tenha ocorrido a depleção de

oxigênio dissolvido na água, os animais não foram capazes de aumentar o número de células vermelhas, o que os condicionaria a uma maior oxigenação na condição desfavorável.

No presente trabalho, o percentual de hematócrito não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) 24AD entre as dietas e entre estas e seus respectivos grupos Controle. Porém, na amostragem 48AD ambas as dietas tiveram uma redução significativa, embora não tenha apresentado diferença entre si. Também foi observado que na amostragem 72AD os animais que se alimentaram apenas com ração comercial voltaram aos níveis basais, enquanto o grupo que se alimentou com ração e *Arthrospira* manteve a redução significativa ($p < 0,05$).

A redução de hematócrito pode estar relacionado à uma condição de anemia nos animais, indicando que eles não estariam se alimentando bem. Porém, neste estudo foi observado que todos os animais mantiveram comportamento alimentar normal, aceitando ambas as dietas fornecidas. Foi verificado também que durante a exposição dos peixes à redução da qualidade da água, houve um aumento na concentração de nitrito. Segundo Ciji *et al.* (2015), níveis elevados de nitrito podem causar a formação de metahemoglobina e, conseqüentemente, redução de eritrócitos, hemoglobina e percentual de hematócrito.

A hemoglobina é frequentemente utilizada como indicador do estado de saúde dos peixes, além de estar envolvida na regulação da função imunológica do organismo (ALI *et al.*, 2017). No presente trabalho, na amostragem realizada 24AD os peixes da dieta contendo a *Arthrospira* apresentaram um aumento significativo ($p < 0,05$) tanto em relação ao Grupo Controle como em relação aos peixes que se alimentaram apenas com ração comercial sem aditivo.

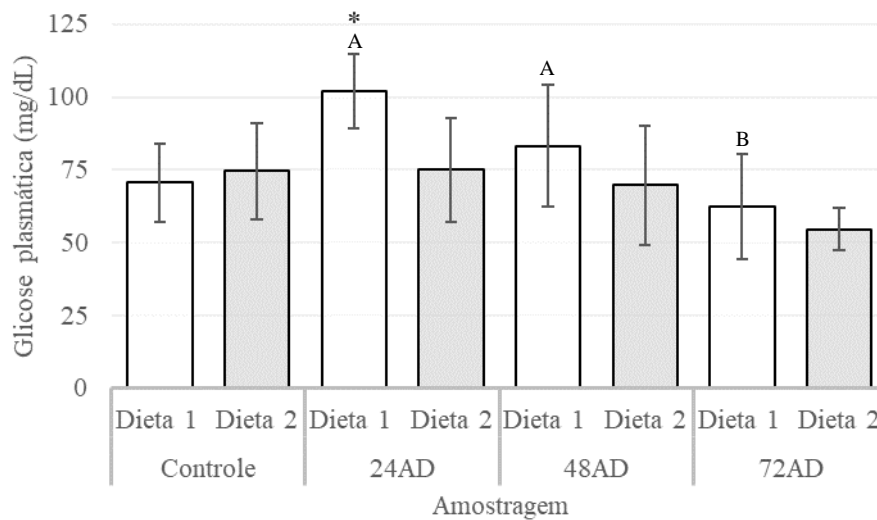
Os resultados obtidos aqui evidenciaram uma baixa quantidade de oxigênio na água após o desafio imposto e, segundo Damasceno *et al.* (2016), nesta condição os peixes confrontam a hipóxia sintetizando mais hemoglobina. Acar *et al.* (2015) também observaram efeito significativo na hemoglobina de tilápias de Moçambique (*Oreochromis mossambicus*) alimentadas com dietas contendo óleo essencial de laranja (1000 mg kg⁻¹ de ração) e desafiadas com *Streptococcus inae*.

O volume corpuscular médio sofreu pouca influência ao desafio imposto, sendo que apenas os animais da Dieta 2, na amostragem 72AD, apresentaram diferença significativa em relação ao grupo controle. A diminuição no número de eritrócitos, no teor de hemoglobina e no VCM pode estar relacionado ao quadro de anemia, como consequência de hemorragia, eritropoiese diminuída ou destruição dos eritrócitos (MATOS; MATOS, 1995).

Em relação à concentração de hemoglobina corpuscular média, os animais que se alimentaram da dieta contendo *Arthrospira*, apresentaram valores significativamente

superiores em relação ao grupo controle durante todo o experimento. Além disso, a amostragem realizada 72AD, apresentou o maior valor de CHCM (28,8%), diferindo, também, das amostragens realizadas 24AD e 48AD. Nossos resultados foram superiores aos relatados por Saha *et al.* (2017) ao avaliarem o efeito do antifúngico fluconazol ofertado durante 45 dias para alevinos de *Labeo rohita* contra *Saprolegnia parasítica*.

Gráfico 1 – Valores médios e desvio padrão da glicose plasmática de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, arraçoados com duas dietas (Dieta 1 = Ração comercial e Dieta 2 = Ração Comercial + *Arthrospira platensis*) e submetidos ao desafio da degradação da qualidade de água.



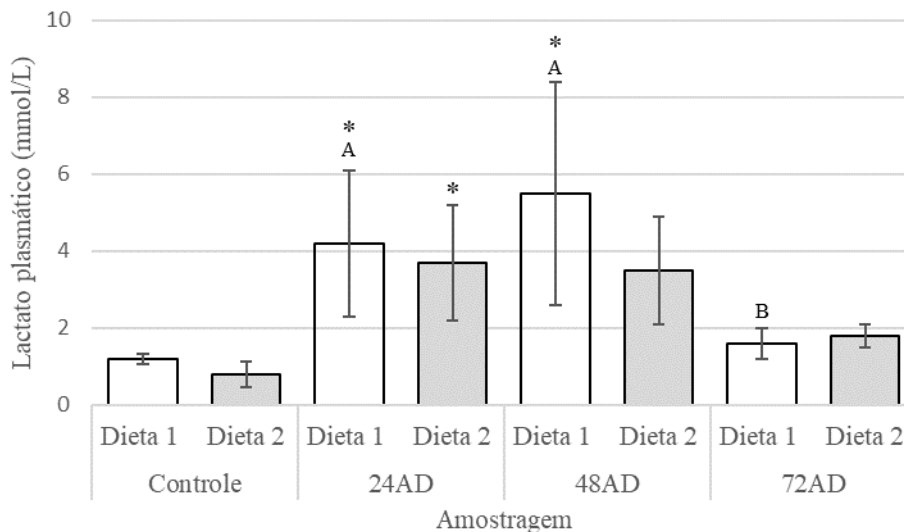
Letras minúsculas comparam as duas dietas no mesmo dia de amostragem; Letras maiúsculas comparam a mesma dieta nos diferentes dias de amostragem; Asterisco (*) compara as dietas em relação ao seu respectivo grupo controle; Valores médios acompanhados de letras iguais, ou ausente de letra, não diferem entre si estatisticamente ($p > 0,05$); Controle (amostragem realizada antes do desafio).

A concentração de glicose plasmática se manteve semelhante aos níveis iniciais nos peixes do grupo que se alimentaram de ração + *Arthrospira* durante todo o experimento (Gráfico 1). Também não houve diferença ($p > 0,05$) entre as duas dietas quando os animais foram comparados no mesmo momento de coleta. A única alteração expressiva ocorreu nos peixes que se alimentaram apenas com ração comercial, evidenciando um aumento significativo ($p < 0,05$) vinte e quatro horas após o desafio comparado ao grupo controle, tendo a tendência de retorno ao nível basal nas amostragens seguintes.

A glicose necessária para obtenção de energia é originada por meio da glicogenólise (SUMPTER, 1997), sendo comumente considerada como um indicador de estresse, quanto maior a concentração deste açúcar no sangue, maior a condição estressante do animal

(ESLAMLOO *et al.*, 2012). Neste sentido, os animais do tratamento que se alimentaram com a dieta contendo a suplementação de microalga não apresentaram nenhuma mudança significativa, enquanto houve um aumento 24 horas após o desafio no tratamento com a dieta 1. A elevação de glicose também foi observada em tilápias após os peixes serem submetidos a outros fatores estressantes (FALCON *et al.*, 2007; BARROS *et al.*, 2014; JUNIOR, *et al.*, 2016).

Gráfico 2 – Valores médios e desvio padrão de lactato plasmático de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, arraçoados com duas dietas (Dieta 1 = Ração comercial e Dieta 2 = Ração Comercial + *Arthrospira platensis*) e submetidos ao desafio da degradação da qualidade de água.



Letras minúsculas comparam as duas dietas no mesmo dia de amostragem; Letras maiúsculas comparam a mesma dieta nos diferentes dias de amostragem; Asterisco (*) compara as dietas em relação ao seu respectivo grupo controle; Valores médios acompanhados de letras iguais, ou ausente de letra, não diferem entre si estatisticamente ($p > 0,05$); Controle (amostragem realizada antes do desafio).

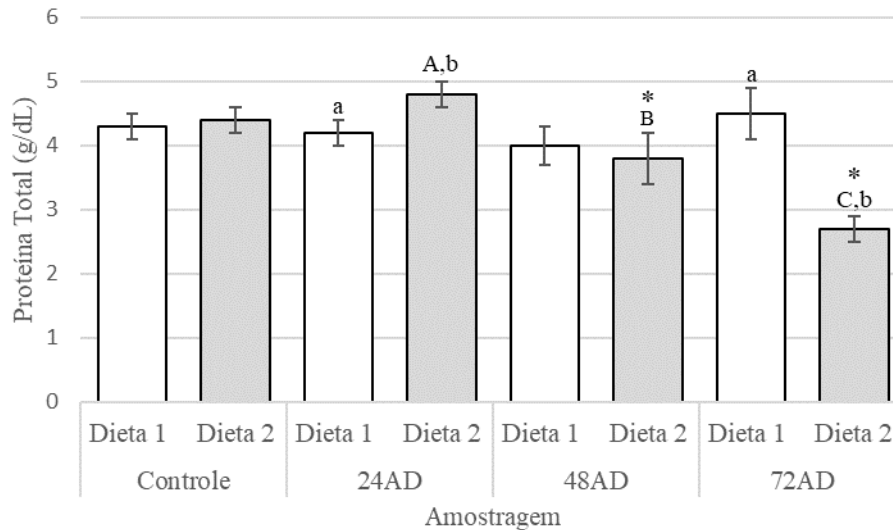
Na aquicultura é comum os animais cultivados ficarem expostos a situações inapropriadas, devido aos manejos realizados rotineiramente ou às intempéries naturais, resultando em condições estressantes. A depleção da qualidade de água influenciou oscilações acentuadas em relação à concentração de lactato plasmático nos animais de ambos os tratamentos (Gráfico 2). Os peixes da Dieta 1 apresentaram aumento significativo ($p < 0,05$) dessa concentração em relação ao controle, alcançando um pico de 5,5 mmol/L nas quarenta e oito horas que sucederam o desafio, retornando aos níveis basais apenas na última amostragem. Os animais que se alimentaram com a ração suplementada de *Arthrospira*

tiveram um aumento ($p < 0,05$) de lactato plasmático após vinte e quatro horas de desafio registrando 3,7 mmol/L, com a tendência de retorno aos níveis do grupo controle nas amostragens seguintes.

De acordo com Owen e Sunram-Lea (2011), a elevação do lactato plasmático pode condicionar a hipóxia dos tecidos em peixes, o que, por sua vez, ativa a produção de energia (ATP) por meio da glicólise anaeróbica, utilizando o glicogênio armazenado no fígado e tendo o lactato como produto final. No presente estudo, os níveis de lactato plasmático aumentaram significativamente nos peixes de ambas as dietas após vinte e quatro horas do desafio imposto, diferentemente do observado por Naderi *et al.* (2017) que, suplementando a dieta com vitamina E e nanopartículas de selênio, registraram aumento de lactato apenas durante as oito primeiras horas ao submeterem a truta arco íris ao estresse agudo. Yarahmadi *et al.* (2016) afirmaram que a quantificação de lactato pode ser utilizada como um bom indicador de estresse crônico, fato corroborado pelos nossos resultados.

A proteína plasmática total tem sido frequentemente utilizada para elucidar o estado de saúde e os mecanismos do metabolismo biológico dos animais sob estressores ambientais (CHENG *et al.*, 2017). De acordo com o Gráfico 3, a concentração de proteína total no plasma não sofreu influência nos animais alimentados apenas com ração comercial durante todo o período experimental. Em contrapartida, os peixes que tiveram oferta de ração suplementada com *Arthrospira* mantiveram a concentração próxima ao nível do Grupo Controle (4,4 g/dL) vinte e quatro horas após o desafio, caindo significativamente para 3,8 g/dL e 2,7 g/dL quando foram amostrados 48 e 72 horas após o desafio, respectivamente. Em contraste aos nossos resultados, Abu-Elala *et al.* (2013) observaram aumento significativo na concentração de proteína total em tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, alimentadas durante dois meses com ração suplementada do probiótico *Saccharomyces cerevisiae* e com o prebiótico MOS.

Gráfico 3 – Valores médios e desvio padrão de proteína total plasmática de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, arraçoados com duas dietas (Dieta 1 = Ração comercial e Dieta 2 = Ração Comercial + *Arthrospira platensis*) e submetidos ao desafio da degradação da qualidade de água.



Letras minúsculas comparam as duas dietas no mesmo dia de amostragem; Letras maiúsculas comparam a mesma dieta nos diferentes dias de amostragem; Asterisco (*) compara as dietas em relação ao seu respectivo grupo controle; Valores médios acompanhados de letras iguais, ou ausente de letra, não diferem entre si estatisticamente ($p > 0,05$); Controle (amostragem realizada antes do desafio).

Ainda de acordo Ramesh, Narmadha e Poopal (2015), os peixes sob condições estressantes podem mobilizar a proteína para atender a demanda necessária de energia para a manutenção da atividade fisiológica. A manutenção da concentração de proteína 24AD próxima ao valor basal nos peixes que se alimentaram da dieta suplementada de *Arthrospira* e a tendência à diminuição após 48 horas do desafio imposto mostrou que, provavelmente não foi necessária a utilização da energia oriunda das proteínas manutenção da atividade fisiológica frente à adversidade da depleção da qualidade de água. Alterações no nível de proteína total pode ser observada quando há danos no fígado (ATLI *et al.*, 2015) e a síntese proteica é prejudicada por transtornos hepáticos (CHENG *et al.*, 2017).

4.2 Adensamento

O adensamento é considerado um estressor crônico e, no cultivo de peixes, alguns manejos requerem que os animais permaneçam adensados por um tempo, como a vacinação, a biometria, a depuração para posterior transporte, dentre outros (FAST *et al.*, 2008). A transferência dos peixes das caixas de aclimação para aquários e a permanência dos animais durante um período de 24 horas em densidades maiores influenciou significativamente na glicose plasmática, no lactato plasmático e nas proteínas totais plasmáticas, conforme mostra a Tabela 5.

Também foi verificado que o perfil de glicose sofreu pouca alteração todo o experimento, sendo que os animais que tiveram sua dieta suplementada com *Arthrospira* não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) em relação aos níveis basais em nenhum momento. Andrade *et al.* (2015) também não observaram diferença no teor de glicose ao cultivarem *Solea senegalensis* durante 60 dias, utilizando três densidades (7, 17 e 24 Kg/m²). Do mesmo modo, Telli *et al.* (2014) não registraram nenhuma mudança significativa na glicose plasmática de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, cultivadas por 84 dias e duas densidades diferentes (18,75 peixes/m³ e 62,5 peixes/m³). Peixes submetidos a estresse crônico podem não exibir alterações ou apresentar apenas uma ligeira alteração no cortisol e na glicose (BARTON *et al.*, 2005; FAST *et al.*, 2008). Em alguns casos, as mudanças não podem ser observadas no nível de glicose plasmática porque o estresse rapidamente consome reservas de energia para manter a homeostase (MARTINÉZ-PORCHAS; MARTINÉZ-CÓRDOVA; RAMOS-ENRIQUEZ., 2009).

Por outro lado, os peixes da dieta 1 estocados na maior densidade apresentaram aumento significativo ($p < 0,05$) nas 48 horas seguintes após o desafio, retornando aos valores de referência apenas na amostragem 72AD. Segundo Moreira *et al.* (2011), o aumento do teor de glicose na corrente sanguínea indica um maior consumo de energia e uma resposta metabólica mais elevada. O aumento do teor de glicose pode indicar que a maior densidade neste tratamento resultou em uma condição estressante para os animais, tornando-os mais susceptíveis à entrada de patógenos e doenças. Montoya *et al.* (2017) registraram aumento no perfil glicêmico seis horas após exporem ao ar atmosférico matrinxãs, *Brycon amazonicus*, alimentados com β -glucano e retornando aos níveis basais em 24 horas.

Tabela 5 – Valores médios e desvio padrão (entre parênteses) da glicose plasmática, lactato plasmático e proteína total plasmática de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, arraçoados com duas dietas (Dieta 1 = Ração comercial e Dieta 2 = Ração Comercial + *Arthrospira platensis*) e submetidos ao adensamento.

		Tempo após o adensamento																			
		Controle		24AD						48AD						72AD					
				Densidade 1		Densidade 2		Densidade 3		Densidade 1		Densidade 2		Densidade 3		Densidade 1		Densidade 2		Densidade 3	
		D 1	D 2	D 1	D 2	D 1	D 2	D 1	D 2	D 1	D 2	D 1	D 2	D 1	D 2	D 1	D 2	D 1	D 2	D 1	D 2
Glicose (mg/dL)	67 (10,0)	76,2 (13,4)	a 68,2 (5,6)	a 62,3 (7,5)	b 82,0 (8,7)	a 67,0 (9,9)	c* 99,5 (10)	b 84,5 (20,4)	ab 80,8 (10)	a 75,2 (20,4)	ab 80,2 (10)	a 72,1 (20,4)	b* 87,8 (10)	b 80,8 (20,4)	a 59,0 (10)	a 58,5 (20,4)	ab 76,0 (10)	ab 70,8 (20,4)	b 78,9 (10)	ab 73,1 (20,4)	
Lactato (mmol/L)	1,1 (0,2)	0,89 (0,1)	acd* 4,7 (1,0)	b* 2,9 (0,5)	ac* 5,2 (1,0)	d* 3,6 (0,4)	c* 5,0 (0,8)	acd* 4,0 (0,2)	ab* 3,2 (0,4)	b* 2,3 (0,6)	c* 5,4 (0,5)	ad* 3,6 (0,5)	c* 5,8 (0,8)	d* 4,2 (0,4)	ac* 1,8 (0,2)	ab 1,2 (0,4)	a* 1,8 (0,6)	b 1,0 (0,2)	c* 1,9 (0,5)	b 1,1 (0,2)	
Proteína (g/dL)	3,5 (0,2)	3,6 (0,3)	a 4,0 (0,3)	b 3,1 (0,3)	ac* 4,4 (0,4)	b 3,5 (0,4)	c* 5,1 (0,4)	a 4,1 (0,3)	c 3,9 (0,2)	a 3,2 (0,4)	c* 4,2 (0,4)	ab 3,4 (0,3)	c 4,1 (0,6)	abc 3,8 (0,3)	a 3,0 (0,3)	a* 3,0 (0,2)	b 3,6 (0,5)	ab 3,2 (0,3)	ab 3,1 (0,3)	a* 2,9 (0,3)	

Letras minúsculas comparam as duas dietas em três densidades diferentes no mesmo dia de amostragem; Asterisco (*) comparam as dietas em relação ao seu respectivo grupo controle; Valores médios acompanhados de letras iguais, ou ausente de letra, não diferem entre si estatisticamente ($p > 0,05$); Controle (amostragem realizada antes do desafio).

Diferentemente da glicose que sofreu alterações pontuais, o lactato plasmático sofreu grandes alterações em seu perfil. Após 24 horas de adensamento, todos os peixes apresentaram um aumento estatisticamente significativo ($p < 0,05$). Além disso, nas três densidades avaliadas na amostragem 24AD, os peixes da Dieta 1 sempre apresentaram teor de lactato maior que os animais alimentados com a ração suplementada com *Arthrospira*. Os peixes podem recorrer ao metabolismo anaeróbico para atender às suas necessidades energéticas, o que normalmente resulta na acumulação de lactato. Li *et al.* (2014) observaram maior concentração de lactato quanto maior fosse a frequência alimentar de *Megalobrama amblycephala*, embora significativamente diferentes, ambos permaneceram próximos entre tratamentos. No mesmo trabalho, os autores registraram pouca mudança no perfil glicêmico, enquanto o lactato apresentou mudanças consideráveis, semelhante aos nossos resultados.

Após 48 horas do desafio imposto, todos os peixes permaneceram com níveis de lactato superiores aos grupos controle, tendo um pico de $5,8 \pm 0,8$ mmol/L nos peixes da Dieta 1 submetidos à maior densidade. Concentração semelhante foi registrada por Naderi *et al.* (2017) duas horas após aplicar um estresse agudo em truta arco-íris alimentadas com ração suplementadas com vitamina E. Finalmente, apenas na amostragem 72AD os peixes de todas as densidades do tratamento com *Arthrospira* voltaram a ter níveis de lactato sérico semelhantes ao Grupo Controle, enquanto os animais da Dieta 1 permaneceram com valores maiores ($p < 0,05$) à concentração basal. Naderi *et al.* (2017) sugerem que o lactato sérico não é um bom indicador em situações de estresse crônico, no entanto, esta observação não está de acordo com Yarahmadi *et al.* (2016) que mostraram que o estresse crônico aumentou os níveis séricos de lactato na truta arco íris.

A proteína plasmática foi afetada significativamente ($p < 0,05$) 24AD nos peixes da Dieta 1 nas duas maiores densidades, contudo, na amostragem seguinte, 48AD, apenas os peixes da densidade intermediária mantiveram-se seus níveis de proteína sérica com diferença estatística em relação ao controle. Na última amostragem, os peixes não apenas diminuíram a concentração de proteína plasmática, alguns registraram valores inferiores comparados aos peixes amostrados antes do adensamento. Este mesmo comportamento foi averiguado por Eslamloo *et al.* (2014) ao submeterem o *Carassius auratus* ao estresse agudo. As proteínas que possuem papéis fundamentais nos sistemas fisiológicos e imunológicos são os principais componentes do soro (KUMAR *et al.*, 2005) e a diminuição pode ser indicativo de deficiência fisiológica.

A série vermelha dos juvenis de tilápia também sofreu influência após os animais expostos ao adensamento por um período de 24 horas, conforme mostra a Tabela 6. A função primária dos eritrócitos é transportar o oxigênio, cuja função depende da quantidade de hemoglobina dentro da célula e dos mecanismos de troca de gás (FÁNGE, 1992), como a tensão parcial do oxigênio na atmosfera. Os peixes da menor densidade de ambas as dietas não apresentaram mudanças significativas 24 AD, no entanto, os animais alimentados com suplementação de *Arthrospira*, nas duas maiores densidades apresentaram aumento ($p < 0.05$) quando comparados ao seu Grupo Controle, o mesmo aconteceu na densidade intermediária com os espécimes alimentados com a Dieta 1. Contrariamente aos nossos resultados, houve diminuição nos eritrócitos em tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, a medida que os animais foram expostos a salinidades crescentes (PEREIRA *et al.*, 2016).

Na amostragem 48AD os animais das duas maiores densidades de ambas as dietas mantiveram os valores de eritrócitos bem acima dos níveis basais ($p < 0,05$). Segundo Pulsford *et al.* (1994), o aumento da contagem de eritrócitos pode ocorrer devido à sua liberação advinda do baço. A atividade do baço é diferente para diferentes espécies de peixe, podendo ser afetada pelo nível de proteína em sua dieta (ABDEL-TAWWAB *et al.*, 2010). Além disso o sangue de peixes contém populações heterogêneas de eritrócitos, onde as células imaturas são geralmente menores e contêm menos hemoglobina do que as mais velhas e maduras (HARDING; HOGLUND, 1983). Na última amostragem todos os peixes retornaram aos níveis de referência.

A contagem de células vermelhas (RBC) e o hematócrito são ferramentas utilizadas para diagnosticar condições estressantes nos peixes. Ambos os parâmetros são estudados de forma associada, onde o hematócrito representa a concentração de glóbulos vermelhos por volume de sangue e é expresso em porcentagem (GRANT, 2015). O setor de aquicultura mostrou um rápido crescimento nos últimos 30 anos com um aumento associado nos problemas de doenças como resultado da rápida expansão e, entre outros fatores, altas densidades de estocagem (VALLEJOS-VIDAL *et al.*, 2016)

Tabela 6 – Valores médios e desvio padrão (entre parênteses) da série vermelha do sangue (RBC = eritrócitos, Ht = hematócrito e Hb = taxa de hemoglobina) e índices hematimétricos (VCM = Volume Corpuscular Médio e CHCM = Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média) de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, arraçoados com duas dietas (Dieta 1 = Ração comercial e Dieta 2 = Ração Comercial + *Arthrospira platensis*) e submetidos ao adensamento.

		Tempo após o adensamento																								
		Controle		24AD				48AD				72AD														
				Densidade 1		Densidade 2		Densidade 3		Densidade 1		Densidade 2		Densidade 3		Densidade 1		Densidade 2		Densidade 3						
		D 1	D 2	D 1	D 2	D 1	D 2	D 1	D 2	D 1	D 2	D 1	D 2	D 1	D 2	D 1	D 2	D 1	D 2	D 1	D 2					
RBC (10 ⁶ /μL)	1,5 (0,1)	1,6 (0,2)	a 1,60 (0,1)	ab 1,72 (0,2)	a 1,91 (0,4)	a* 2,0 (0,2)	bc* 2,07 (0,2)	c* 2,36 (0,4)	a 1,82 (0,2)	a 1,89 (0,3)	ab* 2,11 (0,3)	ab* 2,18 (0,4)	ab* 2,11 (0,2)	b* 2,45 (0,4)	1,65 (0,1)	1,70 (0,2)	1,72 (0,2)	1,73 (0,2)	1,63 (0,2)	1,70 (0,3)						
Ht (%)	31,8 (1,7)	31,0 (2,4)	ab 30,3 (2,8)	a 29,0 (3,2)	bc 34,2 (1,8)	ac 32,7 (0,8)	c 35,3 (2,2)	bc 34,0 (1,4)	b 32,3 (2,1)	a 28,1 (2,9)	b* 35,3 (1,9)	b 33,7 (1,4)	c* 36,5 (2,1)	bc* 35,5 (2,0)	*	27,7 (1,2)	28,8 (3,6)	31,0 (2,8)	31,3 (3,1)	30,2 (2,1)	30,1 (2,1)					
Hb (g/dL)	6,48 (0,2)	6,71 (0,2)	a 6,88 (0,2)	a 6,96 (9,2)	ab* 7,42 (0,4)	b* 7,74 (0,4)	b* 7,91 (0,4)	c* 8,47 (0,4)	*	8,79 (0,6)	7,96 (1,4)	*	8,44 (0,9)	*	8,69 (0,9)	*	8,27 (0,7)	*	8,77 (0,8)	a* 9,99 (0,5)	a* 9,96 (0,6)	a* 10,1 (0,8)	ab* 10,7 (0,3)	b* 11,1 (0,4)	ab* 10,6 (0,5)	
VCM (fL)	216,0 (20,5)	199,2 (14,8)	190 21,8	171 31,8	185 36,9	165 20,9	173 21,4	146 23,7	*	180 27,0	135 17,1	*	171 29,7	*	158 28,0	*	174 19,7	*	149 30,0	168 10,0	171 28,4	182 18,8	183 10,5	188 31,5	180 33,1	
CHCM (%)	20,4 (0,9)	21,7 (1,6)	ab 22,8 (1,8)	ab 24,2 (2,6)	a 21,8 (1,6)	ab 23,7 (1,6)	ab 22,4 (1,1)	b* 24,9 (1,1)	ab* 27,2 (0,9)	b* 28,5 (5,3)	ab 23,9 (2,4)	ab 25,8 (2,1)	b 22,7 (2,3)	ab 24,8 (3,2)	*	36,2 (2,5)	*	35,3 (5,5)	*	32,6 (3,7)	*	34,4 (3,1)	*	36,9 (3,4)	*	35,7 (3,7)

Letras minúsculas comparam as duas dietas em três densidades diferentes no mesmo dia de amostragem; Asterisco (*) comparam as dietas em relação ao seu respectivo grupo controle; Valores médios acompanhados de letras iguais, ou ausente de letra, não diferem entre si estatisticamente ($p > 0,05$); Controle (amostragem realizada antes do desafio).

Após 24 horas de adensamento, nenhuma densidade, independente da dieta consumida apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) em relação aos níveis de hematócrito antes do desafio. No entanto, na amostragem 48AD os peixes alimentados com a Dieta 1 e Dieta 2 expostos a maior densidade apresentaram um aumento significativo ($p < 0,05$), atingindo $36,5 \pm 2,1\%$ e $35,5 \pm 2,0\%$, respectivamente, porém sem diferença estatística entre si. Em carpas alimentadas com dietas suplementadas de astaxantina e submetidas ao desafio contra *Aeromonas hydrophila* também foi observado aumento no hematócrito (JAGRUTHI *et al.*, 2014). Não houve nenhuma diferença entre os tratamentos na última amostragem, além disso, peixes da menor densidade de ambas as dietas apresentaram valores de hematócrito menores do que o grupo controle. Barcellos *et al.* (2004) afirmaram que o estresse crônico causa um decréscimo do hematócrito, por outro lado, Pierson *et al.* (2004) relataram que sob atuação de um agente estressor agudo o hematócrito tende a aumentar.

A hemoglobina é uma proteína presente no interior das células vermelhas, segundo Rodrigues; Castro (2015) ela participa da etapa inicial do processo respiratório, no qual o oxigênio é tomado do meio externo e transportado para os tecidos. Os peixes dos Grupos Controle da Dieta 1 e Dieta 2 apresentaram $6,48 \pm 0,2$ g/dL e $6,71 \pm 0,2$ g/dL, respectivamente. Após 24 de adensamento foi observado um aumento na hemoglobina em todos os peixes, sendo as duas maiores densidades de ambas dietas com valores significativamente mais elevados. Nesta amostragem, os peixes alimentados com ração suplementada de *Arthrospira* registraram $8,47 \pm 0,4$ g/dL, obtendo o maior valor registrado dentre todos os tratamentos. Os valores basais do nosso trabalho estão semelhantes aos registrados por Lorenz *et al.* (2018) ao avaliarem o perfil hematológico do dourado, *Salminus brasiliensis*, alimentados com dieta contendo fígado de suíno hidrolisado.

O aumento nos valores de hemoglobina manteve-se na amostragem 48AD. Com exceção dos peixes da Dieta suplementada com *Arthrospira* da menor densidade, os demais grupos apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao controle. A produção de hemoglobina pode estar associada a situações nas quais os peixes demandam por mais oxigênio. O aumento de eritrócitos e de hematócrito corroboram o aumento de hemoglobina no presente trabalho. Contrariamente aos nossos resultados, peixes alimentados com o probiótico *Bacillus subtilis* registraram menores valores de eritrócitos e hemoglobina comparado ao grupo controle (TELLI *et al.*, 2014). A tendência de elevação no teor de hemoglobina manteve-se na amostragem 72AD para

todos os grupos amostrados, variando de $9,96\pm 0,6$ g/dL a $11,1\pm 0,4$ g/dL, intervalo dentro dos valores de referência sugeridos para a espécie segundo Azevedo *et al.* (2016).

Após vinte e quatro do desafio imposto os valores de VCM diminuíram, porém apenas o grupo alimentado com ração suplementada de *Arthrospira* na maior densidade diferiu significativamente ($p<0.05$) do Grupo Controle. Contudo, após 72 horas os índices de VCM retornaram aos níveis basais em todos os grupos. Em relação ao CHCM, os animais tiveram uma tendência crescente neste parâmetro, registrando diferença estatisticamente em todos os grupos na amostragem 72AD. Os resultados de CHCM aqui obtidos estão bem superiores aos registrados por Pereira-Júnior *et al.* (2013) ao alimentarem juvenis de tambaqui com ração contendo farinha de crueira de mandioca por 75 dias.

4.3 Transporte

Todos os parâmetros físico-químicos não mostraram diferença significativa ($p > 0,05$) entre as duas dietas utilizadas, imediatamente após a abertura dos sacos de transporte, com exceção do teor de amônia total (Tabela 7). Em relação a estes parâmetros, apenas o pH apresentou valor em faixa desconfortável para os peixes, conforme Boyd e Tucker (1998), porém não letal. A diminuição do pH já era esperada devido a respiração dos peixes, resultando na liberação de CO_2 e consequente acidificação do meio.

Tabela 7 – Valores médios e desvio padrão dos parâmetros físico-químicos da água de cultivo de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, arraçoados com duas dietas (Dieta 1 = Ração comercial e Dieta 2 = Ração Comercial + *Arthrospira platensis*) antes do transporte e imediatamente após a abertura dos sacos (IAD).

Parâmetro	Controle		IAD	
	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 1	Dieta 2
Oxigênio dissolvido (mg/L)	5,29 (0,53)	6,11 (0,65)	9,92* (0,88)	10,33* (0,98)
Temperatura (°C)	26,22 (0,49)	26,46 (0,60)	27,02 (0,36)	27,34 (0,46)
pH	7,44 (0,10)	7,41 (0,12)	5,94* (0,09)	6,02* (0,08)
Nitrato (mg/L)	6,27 (0,77)	6,55 (0,65)	8,48* (0,94)	8,69* (0,80)
Nitrito (mg/L)	0,41 (0,03)	0,44 (0,03)	0,66* (0,10)	0,60* (0,13)
Amônia Total (mg/L)	0,71 (0,04)	0,74 (0,07)	3,23a* (0,06)	3,08b* (0,07)

Letras minúsculas comparam as duas dietas no mesmo dia de amostragem; Asterisco (*) compara as dietas em relação ao seu respectivo grupo controle; Valores médios acompanhados de letras iguais, ou ausente de letra, não diferem entre si estatisticamente ($p > 0,05$); Controle (amostragem realizada antes do desafio).

Carneiro *et al.* (2009) ao simular o transporte de juvenis de jundiás, *Rhamdia quelen*, em quatro diferentes densidades (75, 150, 250 e 350 g L⁻¹), durante quatro horas também não obtiveram diferença significativa na temperatura entre os tratamentos, assim como observado neste estudo.

Em sistemas fechados para transportar peixes pode ocorrer um déficit de

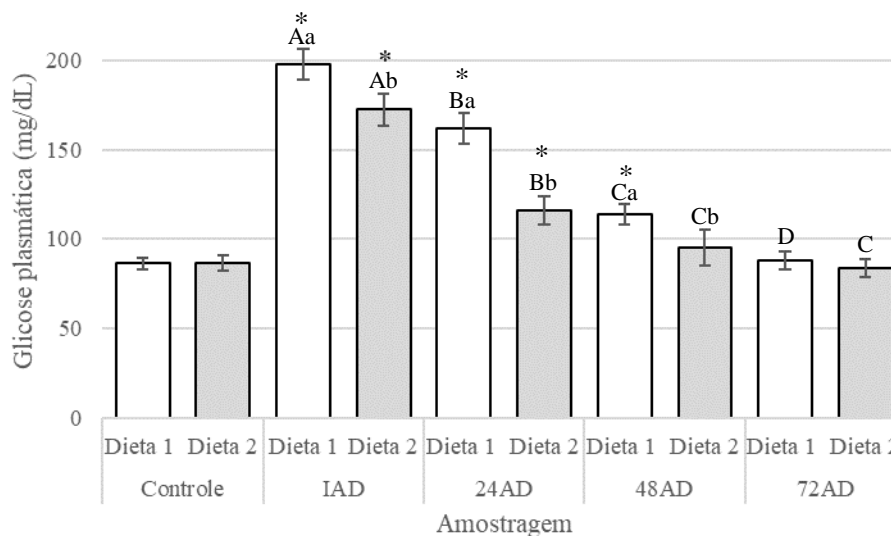
oxigênio quando a densidade utilizada é alta, ou quando o transporte for realizado por um longo período (GOLOMBIESKI *et al.*, 2003). No presente estudo, a concentração de O₂D ao final de quatro horas de simulação foi mantida em níveis bem superiores ($P < 0,05$) às concentrações dos Grupos Controle e sem diferença significativa entre os tratamentos.

A amônia total aumentou significativamente ($p < 0,05$) na água em ambos os tratamentos após as quatro horas e também apresentou diferença significativa entre si. Segundo Golombieski *et al.* (2005), níveis de amônia total acima de 0,5 mg L⁻¹ podem ser considerados prejudiciais aos peixes. Além disso, elevadas concentrações deste composto são preocupantes pois, como agente estressor, o mesmo pode desencadear a liberação de corticosteróides na circulação sanguínea, desencadeando respostas metabólicas, iônicas e hematológicas características do estresse (GONÇALVES *et al.* 2010).

A concentração de glicose apresentou um aumento substancial imediatamente após o desafio, alcançando os maiores valores em ambos os tratamentos, com 197,6±8,8 mg/dL nos animais alimentados com a Dieta 1 e 172,5±7,9 mg/dL nos espécimes alimentados com ração suplementada de *Arthrospira*, havendo diferença ($p < 0,05$) entre si (Gráfico 4). Para detectar se os animais estão passando por situações estressantes, indicadores fisiológicos como os níveis de cortisol e glicose sanguíneos (MARTÍNEZ-PORCHAS *et al.*, 2009). Neste sentido, os animais alimentados com a Dieta 2 apresentaram resistência frente ao agente estressor comparado aos peixes alimentados apenas com ração comercial, uma vez que a concentração de glicose foi significativamente menor em relação ao Grupo Controle nas amostragens IAD, 24AD e 48AD. Similarmente, Douxfils *et al.* (2014) também evidenciaram elevação abrupta de glicose plasmática imediatamente após a ação do agente estressor em juvenis de *Perca fluviatilis*.

O aumento do teor de glicose na corrente sanguínea está relacionado com um maior consumo de energia e uma resposta metabólica mais elevada (MOREIRA *et al.*, 2011). Diferentemente dos nossos resultados, Dawood *et al.* (2017) não observaram diferença estatística na concentração de glicose de juvenis de sea bream, *Pargus major*, alimentados por 56 dias com ração suplementada com β-glucano e vitamina C, enquanto Hossain *et al.* (2017) também não registraram mudanças no perfil glicêmico em juvenis de *Seriola dumerli* quando inosina foi adicionada à sua dieta.

Gráfico 4 – Valores médios e desvio padrão da glicose plasmática de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, arraçoados com duas dietas (Dieta 1 = Ração comercial e Dieta 2 = Ração Comercial + *Arthrospira platensis*) e submetidos ao desafio da simulação de transporte.

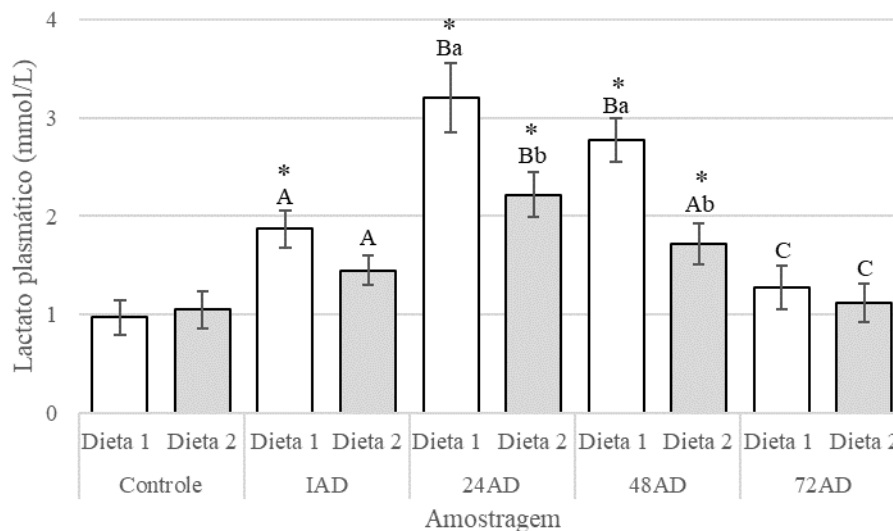


Letras minúsculas comparam as duas dietas no mesmo dia de amostragem; Letras maiúsculas comparam a mesma dieta nos diferentes dias de amostragem; Asterisco (*) compara as dietas em relação ao seu respectivo grupo controle; Valores médios acompanhados de letras iguais, ou ausente de letra, não diferem entre si estatisticamente ($p > 0,05$); Controle (amostragem realizada antes do desafio).

Após a abertura dos sacos de transporte, os peixes alimentados apenas com ração comercial tiveram aumento significativo em relação ao controle no lactato plasmático, porém não houve diferença estatística destes com os animais da dieta suplementada com *Arthrospira*, conforme mostra o Gráfico 5. No entanto, na amostragem 24AD o lactato dos peixes alimentados com a Dieta 1 atingiu o pico de $3,2 \pm 0,35$ mmol/L, diferindo com o Grupo controle e dos animais arraçoados com a Dieta 2. Esse aumento pode estar relacionado ao intenso trabalho realizado pelo metabolismo anaeróbico (BARBOSA; MORAES; INOUE., 2007). Isso ocorre quando a demanda energética é tão alta que o metabolismo aeróbico sozinho não é capaz de sustentar suas necessidades energéticas.

Trabalho realizado por Li *et al.* (2016) apresentou comportamento distinto no perfil do lactato. Os autores citados não registraram mudanças significativas no lactato sérico de juvenis de *Megalobrama amblycephala* submetidos à hipóxia após um período de 60 dias com diferentes taxas de arraçoamento.

Gráfico 5 – Valores médios e desvio padrão do lactato plasmático de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, arraçoados com duas dietas (Dieta 1 = Ração comercial e Dieta 2 = Ração Comercial + *Arthrospira platensis*) e submetidos ao desafio da simulação de transporte.



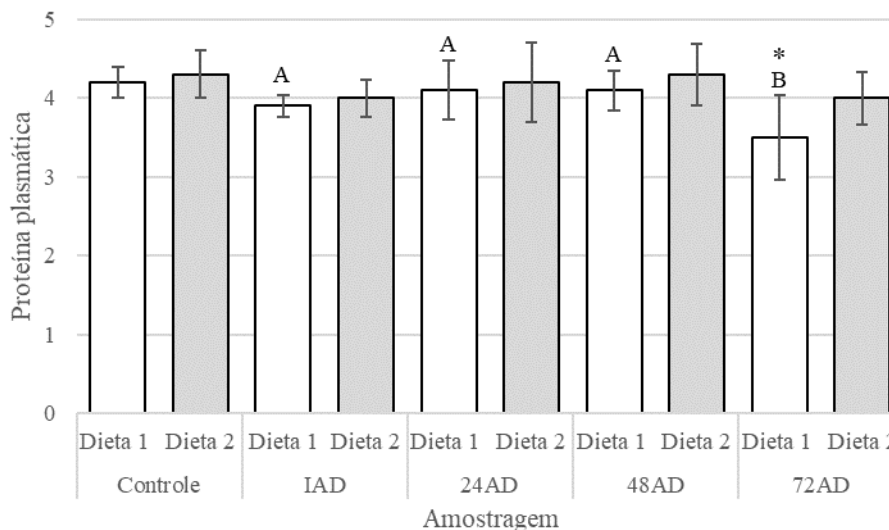
Letras minúsculas comparam as duas dietas no mesmo dia de amostragem; Letras maiúsculas comparam a mesma dieta nos diferentes dias de amostragem; Asterisco (*) compara as dietas em relação ao seu respectivo grupo controle; Valores médios acompanhados de letras iguais, ou ausente de letra, não diferem entre si estatisticamente ($p > 0,05$); Controle (amostragem realizada antes do desafio).

Segundo Hemre e Krogdahl (1996), mudanças nos teores de glicose e proteínas caracterizam os efeitos secundários do estresse. No presente estudo, houve pouca inconstância na concentração de proteínas totais no sangue durante o período experimental, conforme mostra o Gráfico 6. Imediatamente após a abertura dos sacos de transporte, houve uma diminuição deste metabólito, contudo sem diferença significativa entre os tratamentos. Este perfil apresentou com pouca oscilação até a amostragem 48AD. Apenas na última amostragem, 72AD, a proteína plasmática dos peixes alimentados apenas com ração diminuiu significativamente ($p < 0,05$) em relação ao controle. Resultados semelhantes aos nossos foram observados por Li *et al.* (2014), Tancredo *et al.* (2015) e Hashimoto *et al.* (2016), que também não registraram mudanças significativas no teor de proteína plasmática, enquanto Chen *et al.* (2016) averiguou alterações expressivas.

Para Carneiro e Urbinati (2001) a diminuição de proteínas totais no sangue implica num fornecimento de aminoácidos para o processo glicogênese que transforma a glicose em glicogênio. Por outro lado, Schorer (2008) afirmou que o aumento da proteína total plasmática está relacionado a uma situação de estresse, pois a elevação do

metabólito é uma alternativa para ter uma maior capacidade de defesa contra patógenos.

Gráfico 6 – Valores médios e desvio padrão de proteína total plasmática de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, arraçoados com duas dietas (Dieta 1 = Ração comercial e Dieta 2 = Ração Comercial + *Arthrospira platensis*) e submetidos ao desafio da simulação de transporte.



Letras minúsculas comparam as duas dietas no mesmo dia de amostragem; Letras maiúsculas comparam a mesma dieta nos diferentes dias de amostragem; Asterisco (*) compara as dietas em relação ao seu respectivo grupo controle; Valores médios acompanhados de letras iguais, ou ausente de letra, não diferem entre si estatisticamente ($p > 0,05$); Controle (amostragem realizada antes do desafio).

Conforme mostra a Tabela 8, o número de eritrócitos imediatamente após a abertura dos sacos de transporte não apresentou diferença significativa entre os tratamentos, no entanto na amostragem 24AD os peixes que se alimentaram com ração suplementada de *Arthrospira* apresentaram $2,12 \pm 0,4 \cdot 10^6/\mu\text{L}$, enquanto os animais da dieta apenas com ração comercial tiveram $1,80 \pm 0,2 \cdot 10^6/\mu\text{L}$, diferindo ($p < 0,05$) estatisticamente entre si e ambos em relação aos respectivos grupos controle. A elevação significativa de eritrócitos do tratamento da Dieta 2 está relacionada a maior eficiência na taxa respiratória, deixando os animais deste tratamento mais confortáveis com a situação adversa. Diferentemente da presente pesquisa, Bittencourt *et al.* (2010) não observaram mudanças nos eritrócitos de pacus, *Piaractus mesopotamicus*, criados em tanques-rede e em três diferentes densidades.

Após quarenta e oito horas do desafio os valores de eritrócitos continuaram a aumentar, retornando para os valores de referência apenas na última amostragem. Estudo com a mesma espécie do presente trabalho foi realizado por Da Silva *et al.* (2012). Estes autores não encontraram mudanças significativas nos eritrócitos ao

exporem ao ar atmosférico tilápias durante 30 a 90 min, registrando valores entre $1,48 \times 10^6/\mu\text{L}$ – $1,585 \times 10^6/\mu\text{L}$.

Os valores de hematócrito são excelentes para indicar efeitos dos fatores ambientais sobre os peixes, por apresentarem baixa variação (TAVARES-DIAS; FAUSTINO, 1998). Como pode ser observado na Tabela 8, não houve diferença significativa entre os dois tratamentos durante todo o experimento ao compará-los no mesmo dia de amostragem, no entanto, foi registrada um maior percentual de hematócrito imediatamente após o desafio comparado à última amostragem nos peixes alimentados com ração suplementada com *Arthrospira*. O elevado valor do hematócrito pode estar associado a eficiência da microalga utilizada na saúde do estado do peixe.

Aly *et al.* (2008) relataram que os valores de hematócrito foram significativamente maiores no grupo alimentado com dieta suplementada com probiótico, quando comparado com o grupo controle. No mesmo sentido, Abd-El-Rhman (2009) verificou aumento significativo no hematócrito de tilápia alimentada com dieta suplementada com 21% de própolis quando comparada ao controle que continha 9,5% de própolis.

Neste experimento de simulação de transporte, não foi observada queda no percentual de hematócrito, divergindo com os resultados de Signor *et al.* (2010), que evidenciaram diminuição de hematócrito em tilápias do Nilo alimentadas com dieta ausente de suplementação de levedura e zinco e submetida ao estresse do frio.

Segundo Pedron *et al.* (2007), elevados níveis de hemoglobina são desejáveis devido sua função de transporte de oxigênio aos tecidos. Neste sentido, podemos observar que os peixes alimentados com dieta suplementada com *Arthrospira* apresentaram concentração de hemoglobina maior que os animais arraçados apenas com ração comercial em todas as amostragens, evidenciando uma condição mais favorável frente ao estresse imposto. Diferentemente de nossos resultados, Araújo *et al.* (2017) não registraram diferença nos teores de hemoglobina ao submeterem alevinos de tilápia ao estresse ocasionado pelo frio. Por outro lado, nossos resultados estão de acordo com o intervalo de 5 a 10 g/dL proposto por Hrubec; Smith (2010).

Tabela 8 – Valores médios e desvio padrão (entre parênteses) da série vermelha do sangue (RBC = eritrócitos, Ht = hematócrito e Hb = taxa de hemoglobina) e índices hematimétricos (VCM = Volume Corpuscular Médio e CHCM = Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média) de juvenis de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, arraçoados com duas dietas (Dieta 1 = Ração comercial e Dieta 2 = Ração Comercial + *Arthrospira platensis*) e submetidos ao desafio da simulação de transporte.

	Tempo após a simulação de transporte									
	Controle		IAD		24AD		48AD		72AD	
	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 1	Dieta 2	Dieta 1	Dieta 2
RBC (10 ⁶ /μL)	1,52 (0,1)	1,55 (0,1)	A 1,58 (0,1)	A 1,67 (0,1)	aAB* 1,80 (0,2)	bB* 2,12 (0,4)	B* 2,03 (0,1)	B* 2,04 (0,2)	A 1,60 (0,1)	A 1,49 (0,2)
Ht (%)	31,3 (2,0)	30,7 (2,5)	33,3 (2,2)	34,8A (2,5)	33,4 (2,5)	33,6AB (4,2)	32,3 (2,8)	34,2A (2,6)	30,2 (3,6)	29,8B (3,5)
Hb (g/dL)	5,38 (0,2)	5,41 (0,3)	aA 5,75 (0,3)	bA* 6,38 (0,2)	aB 5,12 (0,2)	bA* 6,53 (0,3)	aAB 5,38 (0,3)	bAB* 6,74 (0,4)	aAB 5,59 (0,3)	bB* 7,28 (0,5)
VCM (fL)	205,8 (15,5)	200,1 (19,1)	A 211,5 (18,0)	A 209,6 (22,2)	AB 185,0 (11,5)	B* 158,1 (15,1)	B* 159,5 (16,5)	BC 168,9 (13,8)	AB 188,3 (27,0)	AC 200,2 (23,0)
CHCM (%)	17,2 (1,6)	17,7 (1,9)	17,3 (1,7)	A 18,4 (1,2)	a 15,4 (1,3)	bA 19,9 (2,9)	16,8 (2,1)	A 19,9 (2,8)	a 18,7 (2,1)	bB* 24,5 (1,9)

Letras minúsculas comparam as duas dietas no mesmo dia de amostragem; Letras maiúsculas comparam a mesma dieta nos diferentes dias de amostragem; Asterisco (*) comparam as dietas em relação ao seu respectivo grupo controle; Valores médios acompanhados de letras iguais, ou ausente de letra, não diferem entre si estatisticamente ($P > 0,05$); Controle (amostragem realizada antes do desafio).

A concentração de hemoglobina e o CHCM variaram entre as espécies de peixes e até mesmo em uma mesma espécie (RANZANI-PAIVA, 1991). Para Fries *et al.* (2013) essas variações podem ser atribuídas a diversos fatores exógenos (temperatura, oxigênio dissolvido, estresse) e endógenos (sexo, estágio de maturação gonadal, estado nutricional e doenças). Segundo Hrubec; Smith (2010), a faixa considerada normal para a concentração de CHCM é de 18,0 a 30,0g dL/L. O volume corpuscular médio está relacionado com a dinâmica cardíaca e com o fluxo sanguíneo (FRIES et a., 2013). No presente estudo o VCM não variou durante todo o experimento quando comparados os dois tratamentos entre si no mesmo dia de amostragem.

5 CONCLUSÃO

No primeiro experimento (degradação da qualidade de água), a adição da microalga na ração reduziu o estresse metabólico dos peixes, evidenciado pela menor concentração de glicose e lactato sérico, porém não apresentou diferenças significativas nos parâmetros hematológicos. Nos dois outros experimentos, adensamento e simulação de transporte, os animais arraçoados com dieta suplementada com *A. platensis* apresentaram quadro indicando redução de estresse frente aos agentes estressores quando comparados aos peixes do Grupo Controle. Além da diminuição da glicose e lactato, os animais da Dieta 1 apresentaram maiores valores de eritrócitos, hemoglobina e hematócritos, condicionando os peixes a uma condição mais confortável frente às situações adversas. Diante do exposto, o uso da microalga é recomendado para juvenis de tilápia no intuito de reduzir o estresse causado pelo manejo.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-TAWWAB, M.; EL-MARAKBY, H. I. **Length-weight relationship, natural food and feeding selectivity of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) in fertilized earthen ponds**. In: The 6th International Symposium of Tilapia in Aquaculture, Manila, p. 500–509, 2004.
- ABDEL-TAWWAB, M.; AHMAD, M. H. Live *Arthrospira* (*Arthrospira platensis*) as a growth and immunity promoter for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), challenged with pathogenic *Aeromonas hydrophila*. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 40, p. 1037–1046, 2009.
- ABDEL-TAWWAB, M.; AHMAD, M. H.; KHATTAB, Y. A. E.; SHALABY, A. M. E. Effect of dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 298, p. 367-274, 2010.
- ABD-EL-RHMAN, A. M. M.; Antagonism of *Aeromonas hydrophila* by propolis and its effect on the performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Fish & Shellfish Immunology**, Londres, v. 27, p. 454-459, 2009.
- ABU-ELALA, N.; MARZOUK, M.; MOUSTAFA, M. Use of different *Saccharomyces cerevisiae* biotic forms as immune-modulator and growth promoter for *Oreochromis niloticus* challenged with some fish pathogens. **International Journal of Veterinary Science and Medicine**, Cairo, v. 1, p. 21–29, 2013.
- ABREU, J. S.; ESTEVES, F. R.; URBINATI, E. C. Stress in pacu exposed to ammonia in water. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 41, n. 7, p. 1555 – 1560, 2012.
- ACAR, U.; KESBIÇ, O. S.; YILMAZ, S.; GULTEPE, N.; TURKER, A. Evaluation of the effects of essential oil extracted from sweet orange peel (*Citrus sinensis*) on growth rate of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and possible disease resistance against *Streptococcus iniae*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 437, p. 282-286, 2015.
- ADAMANTE, W. B.; NUÑER, A. P. O.; BARCELLOS, L.; SOSO, A. B.; FINCO, J. A. Stress in *Salminus brasiliensis* fingerlings due to different densities and times of transportation. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 3, p. 755-761, 2008.
- ALI, S. S. R.; AMBASANKAR, K.; MUSTHAFA, M. S.; HARIKRISHNAN, R. Jerusalem artichoke enriched diet on growth performance, immunohematological changes and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* in Asian seabass (*Lates calcarifer*). **Fish & Shellfish Immunology**, Londres, v. 70, p. 335-342, 2017.

ALY, S. M.; AHMED, Y. A. G.; GHAREEB, A. A. A.; MOHAMED, M. F. Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and resistance of *Tilapia nilótica* (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. **Fish & Shellfish Immunology**, Londres, v. 25, p. 128-136, 2008.

ANDRADE, T. AFONSO, A.; PÉREZ-JIMÉNEZ, A.; OLIVA-TELES, A.; DE LAS HERAS, V.; MANCERA, J. M.; SERRADEIRO, R.; COSTAS, B. Evaluation of different stocking densities in a Senegalese sole (*Solea senegalensis*) farm: Implications for growth, humoral immune parameters and oxidative status. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 438, p. 6-11, 2015.

ANDRWES, S. R.; SAHU, N. P.; PAL, A. K.; MUKHERJEE, S. C.; KUMAR, S. Yeast extract, brewer's yeast and spirulina in diets for *Labeo rohita* fingerlings affect haemato-immunological responses and survival following *Aeromonas hydrophila* challenge. **Research in Veterinary Science**, [S.l.], v. 91, p. 103–109, 2011.

ARAD, S.; LEVY-ONTMAN, O. Red microalgal cell-wallpolysaccharides: biotechnological aspects. **Current Opinion in Biotechnology**, Londres, v.21, p.358-364, 2010.

ARAÚJO, E. P.; CARVALHO, P. L. P. F.; FREITAS, J. M. A.; SILVA, R. L.; ROCHA, M. K. H. R.; TEIXEIRA, C. P.; DAMASCENO, F. M. SARTORI, M. M. P.; PEZZATO, L. E.; BARROS, M. M. Dietary spray-dried plasma enhances the growth performance, villus: crypt ratio and cold-induced stress resistance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 479, p. 675-681, 2017.

ARDIANSYAH; FOTEDAR, R. Water quality, growth and stress responses of juvenile barramundi (*Lates calcarifer* Bloch), reared at four different densities in integrated recirculating aquaculture systems. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 458, p. 113-120, 2016.

ASSIS, M.C.; FREITAS, R.R. Análise das práticas de biossegurança no cultivo de tilápias (*Oreochromis niloticus*) em região estuarina no sudeste do Brasil. **Revista de Gestão Costeira Integrada / Journal of Integrated Coastal Zone Management**, Lisboa, v. 12, n.4, p.559-568, 2012.

ATLI, G.; ARIYUREK, S. Y.; KANAK, E. G.; CANLI, M. Alterations in the serum biomarkers belonging to different metabolic systems of fish (*Oreochromis niloticus*) after Cd and Pb exposures. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, Amsterdam, v. 40, p. 508–515, 2015.

AZEVEDO, T. M. P.; ALBINATI, R. C. B.; GUERRA-SANTOS, B.; PINTO, L. F. B.; LIRA, A. D.; MEDEIROS, S. D. C.; AYRES, M. C. C. Valores de referência dos parâmetros hematológicos de *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) cultivados em tanques-rede em Paulo Afonso, no estado da Bahia, Brasil. **Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology**, Itajaí, v. 20, n. 2, p. 63-74, 2016.

BARBAS, L. A. L. **Avaliação da eficácia de novos extratos vegetais anestésicos e da tricaina para juvenis de tambaqui *Collossoma macropomum* (Cuvier, 1918): implicações sobre as respostas do estresse.** 2015. 144 p. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Universidade Federal do Rio Grande, Cassino, Rio Grande, 2015.

BARBOSA, L. G.; MORAES, G.; INOUE, L. A. K. A. Respostas metabólicas do matrinxã submetido a banhos anestésicos de eugenol. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá, v. 29, n. 3, p. 255-260, 2007.

BARCELLOS, L. J. G.; NICOLAIEWSKY, S.; DE SOUZA, S. M. G.; LULHIER, F. The effects of stocking density and social interaction on acute stress response in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 30, p. 887-892, 1999a.

BARCELLOS, L. J. G.; NICOLAIEWSKY, S.; DE SOUZA, S. M. G.; LULHIER, F. Plasmatic levels of cortisol in the response to acute stress in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), previously exposed to chronic stress. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 30, p. 437-444, 1999b.

BARCELLOS, J. G. B.; KREUTZ, L. C.; DE SOUZA, C.; RODRIGUES, L. B.; FIOREZE, I.; QUEVEDO, R. M.; CERICATO, L.; SOSO, A. B.; FAGUNDES, M.; CONRAD, J.; LACERDA, L. A.; TERRA, S. Hematological changes in jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy and Gaimard *Pimelodidae*) after acute and chronic stress caused by usual aquacultural management, with emphasis on immunosuppressive effects. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 237, p. 229-236, 2004.

BARROS, M. M.; FALCON, D. R.; ORSI, R. O.; PEZZATO, L. E.; FERNANDES-JÚNIOR, A.; PADOVANI, C. R.; SARTORI, M. M. P. Non-specific immune parameters and physiological response of Nile tilapia fed β -glucan and vitamin C for different periods and submitted to stress and bacterial challenge. **Fish & Shellfish Immunology**, Londres, v. 39, p. 188-195, 2014.

BARROSO, F. E. C.; RODRIGUES, J. A. G.; TORRES, V. M.; SAMPAIO, A. H.; FARAIS, W. R. L. Efeito do polissacarídeo sulfatado extraído da alga marinha vermelha *Botryocladia occidentalis* nas pós-larvas do camarão *Litopenaeus vannamei*. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 38, n.1, p.58-63, 2007.

BARTON, B. A. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference of to changes in circulating corticosteroids. **Integrative and Comparative Biology**, Oxford, v. 42, 517-525, 2002.

BARTON, B. A.; RIBAS, L.; ACERETE, L.; TORT, L. Effects of chronic confinement on physiological responses of the juvenile gilthead sea bream, *Sparus aurata* to acute handling. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 36, p. 172-179, 2005.

BATISTA, S.; OZÓRIO, R. O. A.; KOLLIAS, S.; DHANASIRI, A. K.; LOKESH, J.; KIRON, V.; VALENTE, L. M. P.; FERNANDES, J. M. O. Changes in intestinal microbiota, immune- and stress - related transcript levels in Senegalese sole (*Solea senegalensis*) fed plant ingredient diets intercropped with probiotics or immunostimulants. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 458, p. 149 – 157, 2016.

BATISTA, S.; RAMOS, M. A.; CUNHA, S.; BARROS, R. CRISTÓVÃO, B.; REMA, P.; PIRES, M. A.; VALENTE, L. M. P.; OZÓRIO, R. O. A. Immune responses and gut morphology of Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup 1858) fed monospecies and multispecies probiotics. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 21, p. 625-634, 2015.

BILLER, J. D.; BENDHACK, F.; TAKAHASHI, L. S.; URBINATI, E. C. Stress responses in juvenile pacu (*Piaractus mesopotamicus*) submitted to repeated air exposure. **Acta Scientiarum. Animal Science**, Maringá, v. 30, n. 1, p. 89-93, 2008.

BITTENCOURT, F.; FEIDEN, A.; SIGNOR, A. A.; BOSCOLO, W. R.; LORENZ, E. K.; MALUF, M. L. F. Densidade de estocagem e parâmetros eritrocitários de pacus criados em tanques-rede. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, n. 11, p. 2323-2329, 2010.

BOYD, C. E. **Water Quality Management for Ponds Fish Culture**. Elsevier, Amsterdam, 1982. 318 p.

BOYD, C.E. & TUCKER, C.S. **Pond aquaculture water quality management**. Boston: Kluwer Academic Publishers. 1998. 700 p.

BRANDÃO, F. R.; GOMES, L. C.; CHAGAS, E. C. Respostas de estresse em pirarucu (*Arapaima gigas*) durante práticas de rotina em piscicultura. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 36, n. 3, p. 349-356, 2006.

BRASIL. **Ministério da Pesca e Aquicultura. Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura**, Brasília, 2012.

BRASIL. **Ministério da Pesca e Aquicultura. Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura**, Brasília, 2015.

CAPELLI, B.; CYSEWSKI, G. R. Potential health benefits of spirulina microalgae: A review of the existing literature. **Nutra Foods**, Kailua-Kona, v. 9, n. 2, p. 19-26, 2010.

CARNEIRO, P. C. F.; URBINATI, E. C. 2001. Salt as a stress response mitigator of matrinxã *Brycon cephalus* (Teleostei: Characidae) during transport. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 32, p. 297-304, 2001.

CARNEIRO, P. C. F.; KAISELER, P. H. S.; SWAROFISKY, E. A. C.; BALDISSEROTTO, B. Transport of jundiá *Rhamdia quelen* juveniles at different loading densities: water quality and blood parameters. **Neotropical Ichthyology**, Londrina, v. 7, n. 2, p. 283-288, 2009.

- ÇEK, S.; TURAN, F.; ATIK, E. Masculinization of convict cichlid (*Cichlosoma nigrofasciatum*) by immersion in *Tribulus terrestris* extract. **Aquaculture International**, Oostende, v. 15, p. 109-119, 2007.
- CHAIKLAHAN, R.; CHIRASUWAN, N.; TRIRATANA, P.; LOHA, V.; TIA, S.; BUNNAG, B. Polysaccharide extraction from *Spirulina* sp. and its antioxidante capacity. **International Journal of Biological Mcromolecules**, Amsterdam, v. 58, p. 73-78, 2013.
- CHEN, T.; WONG, Y-S.; ZHENG, W. Purification and characterization of selenium-containing phycocyanin from selenium-enriched *Spirulina platensis*. **Phytochemistry**, Londres, v. 67, p. 2424-2430, 2006.
- CHEN, X. M.; GUO, G. L.; SUM, L.; YANG, Q. S.; WANG, G. Q.; QIN, G. X.; ZHANG, D. M. Effects of Ala-Gln feeding strategies on growth, metabolism, and crowding stress resistance of juvenile *Cyprinus carpio* var. Jian. **Fish & Shellfish Immunology**, Londres, v. 51, p. 365-372, 2016.
- CHENG, C. H.; YE, C. X.; GUO, Z. X.; WANG, A. L. Immune and physiological responses of pufferfish (*Takifugu obscurus*) under cold stress. **Fish & Shellfish Immunology**, Londres, v. 64, p. 137-145, 2017.
- CIJI, A.; SAHU, N. P.; PAL, A. K.; AKHTAR, M. S. Dietary L-tryptophan modulates growth and immuno-metabolic status of *Labeo rohita* juveniles exposed to nitrite. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 46, p. 2013-2024, 2015.
- COLLIER, H. B., The standardization of blood haemoglobin determinations. **Canadian Medical Association Journal**, Vancouver, v. 50, p. 550-552, 1944. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1581573/pdf/canmedaj00573-0133.pdf>> Acesso em: 20 de junho de 2017.
- CONCOLLATO, A.; PARISI, G.; OLSEN, R. E.; KVAMME, B. O.; SLINDE, E.; ZOTTE, A. D. Effect of carbon monoxide for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) slaughtering on stress response and fillet shelf life. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 433, p. 13-18, 2014.
- COSTA, D. V.; FERREIRA, M. W.; NAVARRO, R. D.; ROSA, P. V.; MURGAS, L. D. S. Parâmetros hematológicos de tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com diferentes fontes de óleo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 15, n. 3, p. 754-764, 2014.
- COSTA, F.H.F. *et al.* Enhancement of disease resistance against infectious myonecrosis virus (IMNV) of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* by sulfated polysaccharide extracts from the red seaweeds *Botryocladia occidentalis* and *Solieria filiformis*. **III Simpósio Internacional sobre a indústria do camarão cultivado**. Natal, RN. Março, 2006.

DAL'BÓ, G. A.; SAMPAIO, F. G.; LOSEKANN, M. E.; QUEIROZ, J. F. D.; LUIZ, A. J. B.; WOLF, V. H. G.; GONÇALVES, V. T.; CARRA, M. L. Hematological and morphometric blood value of four cultured species of economically important foodfish. **Neotropical Ichthyology**, Londrina, v. 13, p. 439-446, 2015.

DAMASCENO, F. M.; FLEURI, L. F.; SARTORI, M. M. P.; AMORIM, R. L.; PEZZATO, L. E.; SILVA, R. L.; CARVALHO, P. L. P. F.; BARROS, M. M. Effect of dietary inorganic copper on growth performance and hematological profile of Nile tilapia subjected to heat-induced stress. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 454, p. 257-264, 2016.

DAMATTA, R. A.; RIBEIRO, M. L. S.; CARVALHO, T. M. U.; NASCIMENTO, J. C. M. **Caracterização morfológica e funcional de leucócitos de peixes**. Manejo e Sanidade de Peixes em Cultivo. Embrapa, Macapá, 1º Edição, 2009.

DAWOOD, M. A. O.; KOSHIO, S.; EL-SABAGH, M.; BILLAH, M. M.; ZAINELDIN, A. I.; ZAYED, M. M.; OMAR, A. A. E. Changes in the growth, humoral and mucosal immune responses following β -glucan and vitamin C administration in red sea bream, *Pagrus major*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 470, p. 214-222, 2017.

DA SILVA, R. D.; ROCHA, L. O.; FORTES, B. D. A.; VIEIRA, D.; FIORAVANTI, C. S. Parâmetros hematológicos e bioquímicos da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) sob estresse por exposição ao ar. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 32, p. 99-107, 2012.

DEL'DUCA, A.; CESAR, D. E.; ABREU, P. C. Bacterial community of pond's water, sediment and in the guts of tilápia (*Oreochromis niloticus*) juveniles characterized by fluorescent *in situ* hybridization technique. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 46, p. 707 – 715, 2015.

DOUXFILS, J.; LAMBERT, S.; MATHIEU, C.; MILLA, S.; MANDIKI, S. N. M.; HENROTTE, E.; WANG, N.; DIEU, M.; RAES, M.; ROUGEOT, C.; KESTEMONT, P. Influence of domestication process on immune response to repeated emersion stressors in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*, L.). **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, Nova Iorque, v. 173, p. 52-60, 2014.

DURVILLE, P.; COLLET, A. Clove oil used as an anesthetic with juvenile tropical marine fish. **Live Reef Fish Information Bulletin**, Nova Caledônia, v. 9, p. 17-19, 2001.

ELLIS, T.; YILDIZ, H. Y.; LÓPEZ-OLMEDA, J.; SPEDICATO, M. T.; TORT, L.; OVERLI, O.; MARTINS, C. I. M. Cortisol and finfish welfare. **Fish Physiology Biochemistry**, Dordrecht, v. 38, p. 163-188, 2012.

ESLAMLOO, K.; FALAHATKAR, B.; YOKOYAMA, S. Effects of dietary bovine lactoferrin on growth, physiological performance, iron metabolism and non-specific immune responses of Siberian sturgeon *Acipenser baeri*. **Fish Shellfish Immunology**, Londres, v. 32, p. 976-985, 2012.

ESLAMLOO, K.; AKH AVAN, S. R.; FALLAH, F. J.; HENRY, M. A. Variations of physiological and innate immunological responses in goldfish (*Carassius auratus*) subjected acute stress. **Fish & Shellfish Immunology**, Londres, v. 37, p. 147 – 153, 2014.

FALCON, D. R. **β -glucano e vitamina C no desempenho produtivo e parâmetros fisiopatológicos em juvenil de tilápia do Nilo: nível de suplementação e tempo de administração**. 2007. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

FALCON, D. R.; BARROS, M. M. PEZZATO, L. E.; SAMPAIO, F. G.; HISANO, H. Physiological responses of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fed vitamin C and lipid diets and submitted to low temperatures stress. **Journal World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 38, p. 287 – 295, 2007.

FÁNGE, R. Fish blood cells. **Fish Physiology**, [S.l.], v. 12, p. 1-54, 1992.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2014**. Roma. 2014

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2016**. Roma. 2016

FARREL, A. P. Blood – **Cellular Composition of the Blood**. Encyclopedia of Fish Physiology, [S. l.], p. 984-991, 2011.

FAST, M. D.; HOSOYA, S.; JOHNSON, S. C.; AFONSO, L. O. Cortisol response and immunerelated effects of Atlantic salmon (*Salmo salar*, Linnaeus) subjected to shortand long-term stress. **Fish & Shellfish Immunology**, Londres, v. 24, p. 194-204, 2008.

FITZSIMMONS, K.; CEROZI, B.; TRAN, L. **Tilapia Global Supply and Demand in 2014**. In: World Aquaculture Society. Adelaide, Austrália. 2014.

FRIES, E. M.; ZAMINHAN, M.; LUCHESI, J. D.; COSTA, J. M.; MALUF, M. L. F.; SIGNOR, A.; BOSCOLO, W. R.; FEIDEN, A. Características hematológicas de *Carassius auratus*. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Niterói, v. 20, n. 2, p. 84-88, 2013.

FUCHS, V. I.; SCHMIDT, J.; SLATER, M. J.; ZENTEK, J.; BUCK, B. H.; STEINHAGEN, D.; The effect of supplementation with polysaccharides, nucleotides, acidifiers and *Bacillus* strains in fish meal and soy bean based diets on growth performance in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 437, p. 243-251, 2015.

GARCIA, F.; ROMERA, D. M.; GOZI, K. S.; ONAKA, E. M.; FONSECA, F. S.; SCHALCH, S. H. C.; CANDEIRA, P. G.; GUERRA, L. O. M.; CARMO, F. J.; CARNEIRO, D. J.; MARTINS, M. I. E. G.; PORTELLA, M. C. Stocking density of Nile tilapia in cages placed in a hydroelectric reservoir. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 410-411, p. 51-56, 2013.

GOLDENFARB, P. B.; BOWYER, F. P.; HALL, E.; BROSIUS, E. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. **American Journal Clininc Patology**, Baltimore, v. 56, n. 1, p. 35-39, 1971.

GOLOMBIESKI, J. I.; SILVA, L. V. F.; BALDISSEROTTO, B.; DA SILVA, J. H. S. Transport of silver catfish (*Rhamdia quelen*) fingerlings at different times, load densities, and temperature, **Aquaculture**, Amsterdam, v. 216, p. 95-102, 2003.

GOLOMBIESKI, J. I.; MARCHEZAN, E.; MONTI, M. B.; STORCK, L.; CAMARGO, E. R.; SANTOS, F. M. Qualidade da água no consórcio de peixes com arroz irrigado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 6, p. 1263-1268, 2005.

GONÇALVES, A. F. N.; TAKAHASHI, L. S.; URBINATI, E. C.; BILLER, J. D.; FERNANDES, J. B. K. Transporte de juvenis de curimatá *Prochilodus lineatus* em diferentes densidades. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 32, n. 2, p. 205-211, 2010.

GRANT, K. R. Fish Hematology and Associated Disorders. **Fish Hematology and Associated Disorders**, [S.l.], v. 18, p. 83-103, 2015.

GUIRY, M. D. How many species of algae are there? **Journal Phycology**, Nova Iorque, v. 48, p. 1057-1063, 2012.

HAI, N. V.; BULLER, R.; FOTEDAR, R. Effects of probiotics (*Pseudomonas synxantha* and *P. aeruginosa*) on the growt, survival and immune parameters of juvenile western king prawns (*Penaeus latisulcatus* Kishinouye, 1896). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 40, p. 590-602, 2009.

HAI, N. V.; FOTEDAR, R. Comparison of the effects of the probiotics (Bio-Mos® and [beta]-1,3-D-glucan) and the customised probiotics (*Pseudomonas synxantha* and *P. aeruginosa*) on the culture of juvenile western king prawns (*Penaeus latisulcatus* Kishinouye, 1896). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 289, n. 3-4, p. 310-316, 2009.

HAI, N. V. Research findings from the use of probiotics in tilapia aquaculture: A review. **Fish & Shellfish Immunology**, Londres, v. 45, p. 592-597, 2015.

HARDING, J.; HOGLUND, L. B. On accuracy in estimating fish blood variables. **Comparative Biochemistry Physiology Part A**, Nova Iorque, v. 75A, p. 35-40, 1983.

HARIKRISHNAN, R.; BALASUNDARAM, C.; HEO, M. S. Review: impact of plants products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 317, p. 1-15, 2011.

HASHIMOTO, G. S. O.; NETO, F. M.; RUIZ, M. L.; ACCHILE, M.; CHAGAS, E. C.; CHAVES, F. C. M.; MARTINS, M. L. Essential oils of *Lippia sidoides* and *Mentha piperita* against monogenean parasites and their influence on the hematology of Nile tilapia. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 450, p. 182-186, 2016.

HEMRE, G. I.; KROGDAHL, A.; Effect of handling and fish size on secondary changes in carbohydrate metabolism in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 2, p. 249-252, 1996.

HOSSAIN, M. S.; KOSHIO, S.; ISHIKAWA.; YOKOHAMA, S.; SONY, N. M.; KADER, M. A.; MAEKAWA, M. U.; FUJIEDA, T. Effects of dietary administration of inosine on growth, immune response, oxidative stress and gut morphology of juvenile amberjack, *Seriola dumerili*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 468, p. 534-544, 2017.

HOUSTON, A.H., Blood and circulation. Methods for fish biology. **American Fisheries Society**, Washington, p. 273-334, 1990.

HRUBEC, T.C.; SMITH, S.A. **Hematology of Fishes**. In: WEISS, D.J.; WARDROP, J.; SCHALM, O.W. (Eds.) Schalm's Veterinary Hematology. Iowa: Blackwell Publishing, 2010, p. 994-1003.

IBGE. **Produção Pecuária Municipal**, v. 44, p. 1-53. Rio de Janeiro. 2016.

IBRAHEM, M. D.; FATHI, M.; MESALHY, S.; ABD EL-ATY, A. M. Effect of dietary supplementation of inulin and vitamin C on the growth, hematology, innate immunity, and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish Shellfish Immunology**, Londres, v. 29, p. 241-246, 2010.

IBRAHEM, M. D.; MOHAMED, F. M.; IBRAHIM, M. A. The role of *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) in growth and immunity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and its resistance to bacterial infection. **Journal of Agricultural Science**, Londres, v. 5, n. 6, p. 109-117, 2013.

IBRAHEM, M. D.; IBRAHIM, M. A. The potential effects of *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) on tissue protection of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) through estimation of P53 level. **Journal of Advanced Research**, Cairo, v. 5, p. 133-136, 2014.

IVERSEN, M.; ELIASSEN, R. A. The effect of AQUI-S® sedation on primary, secondary, and tertiary stress responses during salmon smolt, *Salmo salar* L., transport and transfer to sea. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 40, n. 2, p. 216-225, 2009.

JAGRUTHI, C.; YOGESHWARI, G.; ANBAZAHAN, S. M.; MARI, L. S. S.; AROCKIARAJ, J.; MARIAPPAN, P.; SUDHAKAR, G. R. L.; BALASUNDARAM, C.; HARIKRISHNAN, R. Effect of dietary astaxanthin against *Aeromonas hydrophila* infection in common carp, *Cyprinus carpio*, **Fish & Shellfish Immunology**, Londres, v. 41, p. 674-680, 2014.

JUNOR, A. C. F.; CARVALHO, P. L. P. F.; PEZZATO, L. E.; KOCH, J. F. A.; TEIXEIRA, C. P.; CINTRA, F. T.; DAMASCENO, F. L.; AMORIN, R. L.; PADOVANI, C. R.; BARROS, M. M. The effect of digestible protein to digestible energy ratio and choline supplementation on growth, hematological parameters, liver steatosis and size-sorting stress response in Nile tilapia under field condition. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 456, p. 83 – 93, 2016.

KUMAR, S.; SAHU, N. P.; PAL, A. K.; CHOUDHURY, D.; YENGGOKPAM, S.; MUKHERJEE, S. C. Effect of dietary carbohydrate on haematology, respiratory burst activity and histological changes in *L. rohita* juveniles. **Fish & Shellfish Immunology**, Londres, v. 19, p. 331-334, 2005.

KUBTIZA, F. O status atual e as tendências da tilapicultura no Brasil. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 124, p.10-19, 2011

LEFRANÇOIS, C.; CLAIREAUX, G.; MERCIER, C.; AUBIN, J. Effect of density on the routine metabolic expenditure of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 195, n. 3-4, p. 269-277, 2001.

LI, P.; RAY, B.; GATLIN, D. M.; SINK, T.; CHEN, R.; LOCHMANN, R. Effect of handling and transport on cortisol response and nutrient mobilization of golden shiner, *Notemigonus crysoleucas*. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v.40, n. 6, p. 803-809, 2009.

LI, X. F.; TIAN, H. Y.; ZHANG, D. D.; JIANG, G. Z.; LIU, W. B. Feeding frequency affects stress, innate immunity and disease resistance of juvenile blunt snout bream *Megalobrama amblycephala*. **Fish & Shellfish Immunology**, Londres, v. 38, p. 80-87, 2014.

LI, X. F.; XU, C.; TIAN, H. Y.; JIANG, G. Z.; ZHANG, D. D.; LIU, W. B. Feeding rates affect stress and non-specific immune responses of juvenile blunt snout bream *Megalobrama amblycephala* subjected to hypoxia. **Fish & Shellfish Immunology**, Londres, v. 49, p. 298-305, 2016.

LIMA, L. C.; RIBEIRO, L. P.; LEITE, R. C.; MELO, D. C. Estresse em peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Salvador, v. 30, n. 3-4, p. 113-117, 2006.

LISHENG, L.; BAOJIANG, G.; JIHONG, R.; GUANGQUAN, Q.; BOTANG, W. Inhibitive effect and mechanism of polysaccharide of *Spirulina platensis* on transplanted tumor cells in mice. **Marine Science**, [S.l.], v. 5, p. 33-38, 1991.

LOPES, S. T. A; BIONDO, A. W; SANTOS, A. P. **Manual de patologia clínica veterinária. Departamento de Clínica de Pequenos Animais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, 3º Edição, 2007.**

LORENZ, E. K.; BARONE, R. C. S.; FRANÇA, W. G.; SABIONI, R. E.; KOCH, J. F. A.; CYRINO, J. E. P. Performance, hematology and immunology of *Salminus brasiliensis* fed diets containing swine liver hydrolysate. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 483, p.46-52, 2018.

MAGHNA, S. A.; ALAM, M. J.; ISLAM, S. R.; KHATUM, A.; JAMAN, N. Studies on the stocking density of hormone treated tilápia (*Oreochromis niloticus*) fry. **Academic Research International**, [S.l.], v. 7, n. 1, p. 58-70, 2016.

MARTINÉZ-PORCHAS, M.; MARTINÉZ-CÓRDOVA, L. R.; RAMOS-ENRIQUEZ, R. Cortisol and glucose: reliable indicators of fish stress? **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, [S.l.], v. 4, n. 2, p. 158-178, 2009.

MATOS, M. S.; MATOS, P. F. **Laboratório Clínico Médico-Veterinário**. Editora Atheneu. 2ª Ed. SP/RJ/BH. 238p. 1995.

McEWEN, B. S.; WINGFIELD, J. C. What is in a name? Integrating homeostasis, allostasis and stress. **Hormones and Behavior**, Schaumburg, p. 105-111, 2010.

McEWEN, B. S.; GIANAROS, P. J. Stress and allostasis-induced brain plasticity. **Annual Review of Medicine**, [S.l.], v. 62, p. 431-445, 2011.

MEZEAUD, M. M.; MEZEAUD, F.; DONALDSON, E. M. Primary, and secondary effects on stress in fish: some new data with general review. **Transactions of the American Fisheries Society**, Filadélfia, v. 106, p. 201-212, 1977.

MONTOYA, L. N. F.; MARTINS, T. P.; GIMBO, R. Y.; ZANUZZO, F. S.; URBINATI, E. C. β -Glucan-induced cortisol levels improve the early immune response in matrinxã (*Brycon amazonicus*). **Fish & Shellfish Immunology**, Londres, v. 60, p.197-204, 2017.

MORAES, C. C.; BURKET, J. F. M.; KALIL, S. J. C-Phycocyanin extraction process for large-scale use. **Journal of Food Biochemistry**, Hoboken, v. 34, p. 133 – 148, 2010.

MOREIRA, A. G. L.; TEIXEIRA, E. G.; MOREIRA, R. L.; FARIAS, W. R. L. Glicose plasmática em juvenis de tilápia do Nilo anestesiados com óleo de cravo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 12, n. 3, p. 794-804, 2011.

MOREIRA, A. G. L.; COELHO, A. A. C.; ALBUQUERQUE, L. F. G.; MOREIRA, R. T.; FARIAS, W. R. L. Efeito do eugenol como agente mitigador do estresse no transporte de juvenis de tilápia do Nilo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 11, p. 893-898, 2015.

NADERI, M.; KEYVANSHOKOOH, S.; SALATI, A. P.; GHAEDI, A. Effects of dietary vitamin E and selenium nanoparticles supplementation on acute stress responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) previously subjected to chronic stress. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 473, p. 215-222, 2017.

NARDOCCI, G.; NAVARRO, C.; CORTÉS, P. P.; IMARAI, M.; MONTOYA, M.; VALENZUELA, B.; JARA, P.; ACUÑA-CASTILLO, C.; FERNÁNDEZ, R. Neuroendocrine mechanisms for immune system regulation during stress in fish. **Fish & Shellfish Immunology**, Londres, v. 40, p. 531-538, 2014.

NAYAK, S. K. Probiotics and immunity: A fish perspective. **Fish & Shellfish Immunology**, Londres, v. 29, p. 2 – 12, 2010.

OLIVA-TELES, A. Nutrition and health of aquaculture fish. **Journal Fish Disease**, v. 35, p. 83 – 108, 2012.

OWEN, L.; SUNRAM-LEA, S. Metabolic agents that enhance ATP can improve cognitive functioning: a review of the evidence for glucose, oxygen, pyruvate, creatine, and L-carnitine. **Nutrients**, Basileia, v. 3, p. 735-755, 2011.

PATIL, G.; CHETHANA, S.; MADHUSUDHAN, M. C.; RAGHAVARAO, K. S. M. S. Fractionation and purification of the phycobiliproteins from *Spirulina platensis*. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, p. 7393 – 7396, 2008.

PEDRON, F.A.; LAZZARI, R.; CORRÊIA, V.; FILIPETTO, J.E.S.; SILVA, L. P. E NETO, J.R. **Parâmetros hematológicos de juvenis de jundiá alimentados com fontes e níveis de fibra**. In: 1º CONGRESSO BRASILEIRO DE PRODUÇÃO DE PEIXES DE ÁGUA DOCE E 1º ENCONTRO DE PISCICULTORES DE MATO GROSSO DO SUL, 2007. **Anais...** Dourados: 1º Congresso Brasileiro de Produção de Peixes de Água Doce E 1º Encontro de Piscicultores de Mato Grosso do Sul, 2007. 1 CD-ROM.

PERCIVAL, E.; McDOWELL, R.H. Chemistry and Enzymology of Marine Algal Polysaccharides. **Academic Press**, ED., Nova Iorque. 1967.

PEREIRA, D. S. P.; GUERRA-SANTOS, B.; MOREIRA, E. L. T.; ALBINATI, R. C. B.; AYRES, M. C. C. Parâmetros hematológicos e histológicos de tilápia do Nilo em resposta ao desafio de diferentes níveis de salinidade. **Boletim Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 42, n. 3. p. 635-647, 2016.

PEREIRA JÚNIOR, G.; PEREIRA, E. M. O.; PEREIRA FILHO, M.; BARBOSA, P. S.; BRASIL, E. M.; SHIMODA, E. Parâmetros hematológicos de juvenis de tambaqui alimentados com rações contendo farinha de crueira de mandioca. **Acta Biomedica Brasiliensia**, Santo Antônio de Pádua, v. 4, n. 1, p. 1-11, 2013.

PIERSON, P. M.; LAMERS, A.; FLIK, G.; MAYER-GOSTAN, N. The stress axis, stanniocalcin, and ion balance in rainbow trout. **General Comparative Endocrinology**, Nova Iorque, 137, p. 665-678, 2004.

PÓVOA, I. C. F. ***Brycon opalinus* (Cuvier, 1819) (Characiformes): avaliação hematológica e genético-bioquímica frente à hipóxia**. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciência Biológicas) – Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, 2008.

PULSFORD, A. L.; LEMAIRE-GONY, S.; TOMLINSON, M.; COLLINGWOOD, N.; GLYNN, P. J. Effects of acute stress on the immune system of the dab, *Limanda limanda*. **Comparative Biochemistry Physiology Part C**, Nova Iorque, v. 109C, p. 129–139, 1994.

RAMESH, M.; NARMADHA, S.; POOPAL, R. K. Toxicity of furadan (carbofuran 3% g) in *Cyprinus carpio*: Haematological, biochemical and enzymological alterations and recovery response. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, Beni Suef, v. 4, p. 314 – 326, 2015.

RANZANI-PAIVA, M. J. T. 1991. Hematologia de peixes, p.65-70. In: Santos H.S.L. (Ed), **Histologia de Peixes**. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, São Paulo.

RANZANI-PAIVA, M. T. J.; SILVA-SOUZA, A. T. **Hematologia de Peixes Brasileiros. Sanidade de Organismos Aquáticos**, Editora Varela, São Paulo, 2004.

RANZANI-PAIVA, M. T. J.; PÁDUA, S. B.; TAVARES-DIAS, M.; EGAMI, M. I. **Métodos para análise hematológica em peixes**. Ed. Eduem, Maringá. 1ª ed. 140 p. 2013.

RODRIGUES, G. G.; CASTRO, F. J. Adaptações fisiológicas à hipóxia em peixes com respiração exclusivamente aquática. In: TAVARES-DIAS, M.; MARIANO, W. S. **Aquicultura no Brasil: novas perspectivas**. [Vol 1] São Carlos: Pedro & João Editores, 2015, 429 p.

ROJAS, J. E. J. **Influência do oxigênio dissolvido no desempenho de juvenis de piava (*Leporinus obtusidens*)**. 2011. 54 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

ROSELET, F.F. G. **Escalonamento do cultivo e da flocculação da microalga marinha *Nannochloropsis oculata***. 2015. 121 p. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Universidade Federal do Rio Grande, Cassino, Rio Grande, 2015.

ROTHWELL, S. E.; BLACK, S. E.; JERRETT, A. R.; FORSTER, M. E. Cardiovascular changes and catecholamine release following anaesthesia in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawtscha*) and snapper (*Pargus auratus*). **Comparative Biochemistry and Physiology A – Molecular & Integrative Physiology**, Nova Iorque, v. 140, n. 3, p. 289-298, 2005.

SAHA, H.; PAL, A. K.; SAHU, N. P.; SAHA, R. K.; GOSWAMI, P. Effects of fluconazole based medicated feed on haemato-immunological responses and resistance of *Labeo rohita* against *Saprolegnia parasitica*. **Fish & Shellfish Immunology**, Londres, v. 71, p. 346-352, 2017.

SANTOS, R. B. S.; TAVARES-DIAS, M. Células sanguíneas e resposta hematológica de *oxydoras niger* (Pisces, Doradidae), oriundos da bacia do médio rio Solimões, estado do Amazonas (Brasil), naturalmente parasitados. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v.36, n4, p. 283 – 292, 2011.

SATAKE, F; PÁDUA S. B; ISHIKAWA, M. M. **Distúrbios morfológicos em células sanguíneas de peixes em cultivo: uma ferramenta prognóstica. Manejo e Sanidade de Peixes em Cultivo.** Manejo e Sanidade de Peixes em Cultivo, p. 330-345, Macapá, 1ª Edição, 2009.

SCHORER, M. **Utilização do β -glucano sobre o desempenho produtivo, indicadores de estresse, perfil hematológico e sobrevivência do pacu (*Piaractus mesopotamicus*).** 2008. 96 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2008.

SHABANI, F.; ERIKSON, U.; BELI, E.; REXHEPI, A. Live transport of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) and subsequent live storage in market: Water quality, stress and welfare considerations. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 453, p. 110 – 115, 2016.

SIGNOR, A.; PEZZATO, L. E.; FALCON, D. R.; GUIMARÃES, I. G.; BARROS, M. M. Parâmetros hematológicos da tilápia-do-Nilo: efeito da dieta suplementada com levedura e zinco e do estímulo pelo frio. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 11, n. 3, p. 509-519, 2010.

SILVA-CARRILO, Y.; HERNÁNDEZ, C.; HARDY, R. W.; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, B.; CASTILLO-VARGAS M, S. The effect of substituting fish meal with soybean meal on growth, feed efficiency, body composition and blood chemistry in juvenile spotted rose snapper *Lutjanus guttatus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v.364-365, n. 1, p. 180-185, 2012.

SILVA, A. S. E; LIMA, J. T. A. X; BLANCO, B. S. Hematologia em peixes. Revisão Bibliográfica. **Revista Centauro**, Lisboa, v.3, n.1, p.24-32, 2012.

SMALL, B, C. Effect of dietary cortisol administration on growth and reproductive success of channel catfish. **Journal Fish Biology**, Oxford, v.64, n. 2, p.589-596, 2004.

SONG, S. K.; BECK, B. R.; KIM, D.; PARK, J.; KIM, J.; KIM, H. D.; RINGO, E. Probiotics as immunostimulants in aquaculture: A review. **Fish & Shellfish Immunology**, Londres, v. 40, p. 40-48, 2014.

SOUSA, F. M. C.; CONDE JÚNIOR, A. M.; FERNANDES, H. B.; EDLIN, E. N. S.; FORTES, E. A. M. Morfologia das células sanguíneas de Mandi (*Pimelodusma culatus*, Lacépède, 1803). **Revista Científica de Medicina Veterinária**, Garça/SP, v. 23, p. 1-13, 2014.

STYER, L. (1996) **Bioquímica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1000p.

SUGANYA, T.; VARMAN, M.; MASJUKI, H. H.; RENGANATHAN, S. Macroalgae and microalgae as a potential source for commercial applications along with biofuels productions: A biorefinery approach. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Golden, Colorado, v. 55, p. 909-941, 2016.

SUMPTER, J. P. The endocrinology of stress. In: IWANA, G. K.; PICKERING, A. D.; SUMPTER, J. P.; SCHRECK, C. B. **Fish stress and health in aquaculture**. University Press, Cambridge, p. 95-118, 1997.

TAKAOKA, O.; JI, S.-C.; ISHIMARU, K.; LEE, S.-W.; JEONG, G.-S.; ITO, J.; BISWAS, A.; TAKII, K. Effect of rotifer enrichment with herbal extracts on growth and resistance of red sea bream, *Pagrus major* (Temminck & Schlegel) larvae against *Vibrio anguillarum*. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 42, p. 1824–1829, 2011.

TALPUR, A.D.; IKHWANUDDIN, M.; AMBOK BOLONG, A.-M. Nutritional effects of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) on immune response of Asian sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch), and disease resistance against *Vibrio harveyi*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 400, p. 46 – 52, 2013.

TANCREDO, K. R.; GONÇALVES, E. L. T.; BRUM, A.; ACHCHILE, M.; HASHIMOTO, G. S. O.; PEREIRA, S. A.; MARTINS, M. L. Hemato-immunological and biochemical parameters of silver catfish *Rhamdia quelen* immunized with live theronts of *Ichthyophthirius multifiliis*. **Fish & Shellfish Immunology**, Londres, v. 45, p. 689-694, 2015.

TAVARES-DIAS, M.; FAUSTINO, C.D. Parâmetros hematológicos da tilápia-do-Nilo *Oreochromis niloticus* (Cichlidae) em cultivo extensivo. **Revista Ars. Veterinária**, Jaboticabal, v.14, p. 254-263, 1998.

TAVARES-DIAS, M; MORAES, F. R. Características hematológicas *Tilapia rendalli* capturadas em “Pesque-Pague” de Franca, São Paulo, Brasil. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 19, n. 1, p. 103 – 110, 2003.

TAVARES-DIAS, M; MORAES, F. R. **Hematologia de peixes teleósteos**. Editora Eletrônica e Arte Final. Ribeirão Preto, São Paulo, 144p. 2004.

TAVARES-DIAS, M.; MARIANO, W. S. **Aquicultura no Brasil: novas perspectivas**. Vol. 1. São Carlos: Pedro & João Editores, 2015. 429p.

TELLI, G. S.; RANZANI-PAIVA, M. J. T.; DIAS, D. C.; SUSSEL, F. R.; ISHIKAWA, C. M.; TACHIBANA, L. Dietary administration of *Bacillus subtilis* on hematology and non-specific immunity of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised at different stocking densities. **Fish & Shellfish Immunology**, Londres, v. 39, p. 305-311, 2014.

THRALL, M. A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 1ª Edição, São Paulo, 592p. 2007.

UNGSETHAPHAND, T.; PEERAPORNPIPAL, Y.; WHANGCHAI, N.; SARDSUD, U. Effect of feeding *Spirulina platensis* on growth and carcass composition of hybrid red tilapia (*Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*). **Maejo International Journal of Science and Technology**, Chiang Mai, v. 4, n. 2, p. 331 – 336, 2010.

VALLEJOS-VIDAL, E.; REYES-LÓPEZ, F.; TELES, M.; MACKENZIE, S. The response of fish to immunostimulant diets. **Fish & Shellfish Immunology**, Londres, v. 56, p. 34- 69, 2016.

YARAHMADI, P.; MIANDARE, H. K.; FAYAZ, S.; CAIPANG, C. M. A. Increased stocking density causes changes in expression of selected stress- and immune-related genes, humoral innate immune parameters and stress responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Fish & Shellfish Immunology**, Londres, v. 48, p. 43 – 53, 2016.

YEGANEH, S.; TEIMOURI, M.; AMIRKOLAI, A. Dietary effects of *Spirulina platensis* on hematological and serum biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Research in Veterinary Science**, [S. l.], v. 101, p. 84-88, 2015.

WANG, M.; LU, M. Tilapia polyculture: a global review. **Aquaculture Research**, Oxford, p. 1-12, 2015.

WENDELAAR BONGA, S. E.; The stress response in fish. **Physiological Reviews**, [S. l.], v. 77, p. 591-625, 1997.

WINTROBE, M. M. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. **Folia Haematologica**, Leipzig, v. 51, p. 32-49. 1934.

WORLD BANK. **Fish to 2030: prospects for fisheries and aquaculture**. Agriculture and Environmental Services Discussion Paper No. 3. World Bank Group, Washington DC, 2013.

WUANG, S. C.; KHIN, M. C.; CHUA, P. Q. D.; LUO, Y. D. Use of *Spirulina* biomass produced from treatment of aquaculture wastewater as agricultural fertilizers. **Algal Research**, Amsterdam, v. 15, p. 59-64, 2016.