



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

LEONARDO FREITAS GALVÃO DE ALBUQUERQUE

**PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BROMATOLÓGICOS NA ALEVINAGEM
DE TILÁPIAS DO NILO, ALIMENTADAS COM RAÇÃO SUPLEMENTADA COM**

Spirulina (Arthrospira) platensis

FORTALEZA

2014

LEONARDO FREITAS GALVÃO DE ALBUQUERQUE

**PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BROMATOLÓGICOS NA ALEVINAGEM
DE TILÁPIAS DO NILO, ALIMENTADAS COM RAÇÃO SUPLEMENTADA COM
*Spirulina (Arthrospira) platensis***

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Pesca.

Orientador: Prof. Dr. Wladimir Ronald Lobo Farias

FORTALEZA

2014

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)

- A311p Albuquerque, Leonardo Freitas Galvão de.
Parâmetros hematológicos e bromatológicos na alevinagem de tilápias do nilo, alimentadas com ração suplementada com spirulina (arthrospira) platensis / Leonardo Freitas Galvão de Albuquerque. – 2014.
53 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2014.
Orientação: Prof. Dr. Wladimir Ronald Lobo Farias.
1. Peixes. 2. Cultivo. 3. Nutrição. 4. Sangue. 5. Filés. I. Título.

CDD 639.2

**PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BROMATOLÓGICOS NA ALEVINAGEM
DE TILÁPIAS DO NILO, ALIMENTADAS COM RAÇÃO SUPLEMENTADA COM
*Spirulina (Arthrospira) platensis***

Dissertação de mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Engenharia
de Pesca da Universidade Federal do Ceará,
como requisito parcial para obtenção do Título
de Mestre em Engenharia de Pesca

APROVADA EM: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Wladimir Ronald Lobo Farias (Orientador)

Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Glacio Souza Araújo

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará

Prof. Dr. Aldeney Andrade Soares Filho

Universidade Federal do Ceará

Dedico esse trabalho primeiramente a DEUS e à minha família, Jairo Galvão de Albuquerque (Pai), Maria de Fátima Freitas Galvão de Albuquerque (Mãe), Raphaela Barros Gadelha (Esposa), e Eduardo Barros Gadelha Galvão de Albuquerque (Filho)

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Wladimir Farias, pela dedicação e atenção prestados durante a graduação e pós graduação.

A Universidade Federal do Ceará e ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, pelo apoio e infraestrutura necessários para a realização do presente trabalho.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Maggioni e a técnica Maria das Graças Coelho, pela orientação e apoio durante as atividades realizadas no LABOMAR-UFC.

Aos amigos que colaboraram com o meu trabalho: Alan Coêlho, Renato Teixeira, Antonio Glaydson, Ítalo Rocha e Sergio Almeida.

Agradeço também a todos os estagiários e bolsistas que sob minha orientação trabalharam comigo durante o desenvolvimento deste trabalho científico.

Agradeço a minha esposa Raphaela e meu filho Eduardo pela paciência e apoio incondicional durante a minha jornada na pós graduação.

Aos meus pais e irmãos que sempre estiveram ao meu lado em todos os momentos de minha vida.

Ao meu sogro José Façanha e minha sogra Maria Walneide por todo apoio, respeito e amizade.

You can't trust freedom when it's not in your hand.

William Bailey, 1992.

RESUMO

Atualmente, a população mundial tem enfrentado múltiplos desafios correlacionados que vão desde crises econômicas a alterações climáticas significativas, o que torna cada vez mais difícil a conciliação entre a pressão produtiva e a utilização dos recursos naturais. Enquanto a pesca extrativa continua com uma produção estagnada, a aquicultura vem se expandindo continuamente, sendo um dos setores da produção animal com maior crescimento anual. Dentre os custos produtivos envolvidos na aquicultura, a alimentação artificial é frequentemente citada como sendo o custo mais expressivo, o que tem justificado a realização de diversos estudos, utilizando farinha de algas como fonte proteica para peixes. O presente trabalho teve por objetivo avaliar os parâmetros hematológicos de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados com ração comercial adicionada de diferentes percentuais da microalga *Spirulina platensis*, bem como o desempenho zootécnico dos peixes, os parâmetros de qualidade de água e a composição centesimal dos filés. Dentre os parâmetros de qualidade de água, o fósforo reativo foi o único parâmetro que atingiu valores acima do recomendado para sistemas de cultivo, enquanto os outros parâmetros se mantiveram estáveis e dentro dos limites recomendados na atual legislação. Em relação aos parâmetros zootécnicos, o tratamento controle apresentou a menor taxa de sobrevivência, enquanto o tratamento com inclusão de 20% de *S. platensis* na ração apresentou a maior taxa de sobrevivência, peso médio final e ganho de biomassa. Os melhores resultados hematológicos foram obtidos nos tratamentos com inclusão de 10% e 20% de *S. platensis* na ração, com destaque para o valor do hematócrito, contagem de eritrócitos e concentração de hemoglobina. Todos os tratamentos apresentaram valores de volume corpuscular médio (VCM) acima de 100 fL, o que caracteriza o bom estado de saúde dos animais. A hemoglobina corpuscular média (HCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) apresentaram resultados semelhantes aos da concentração de hemoglobina nas suplementações com 10% e 20% de *S. platensis*, sendo os melhores resultados. Houve uma tendência crescente no teor de proteínas plasmáticas totais (PPT) dos peixes a partir do aumento dos teores de inclusão de *S. platensis* nas rações. Quanto à composição química do filé, as inclusões de 5% e 20% de *S. platensis* mostraram maiores índices de cinzas. Os maiores teores de proteína bruta (PB) foram encontrados nos tratamentos com 10% e 20% de *S. platensis*, enquanto os lipídios apresentaram apenas uma tendência crescente com o aumento de *S. platensis* nas rações administradas.

Palavras chave: Peixes, cultivo, nutrição, sangue, filés.

ABSTRACT

Currently, the world population has been faced multiple correlated challenges ranging from economic crises to significant climate changes, which makes increasingly difficult the conciliation between the productive pressure and limited natural resources. While extractive fisheries continues with a stagnant production, aquaculture has been expanding continuously, being one of the animal production sectors with greater annual growth. Among the production costs involved in aquaculture, artificial feeding is frequently cited as the most significant cost, which encourages several studies using algae meal as protein source for fish. This study aimed to: evaluate the hematological parameters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed with commercial feed added with different percentages of the microalgae *Spirulina platensis*, as well as the zootechnical performance of the fishes, water quality parameters and chemical composition of the fillets. Among water quality parameters, phosphorus was the only parameter that reached values above the recommended for culture systems while the other parameters remained stable and within the recommended limits of the current legislation. Regarding the zootechnical parameters, the control treatment had the lowest survival rate, whereas treatment with inclusion of 20% of *S. platensis* in commercial feed showed the highest survival rate, final average weight and biomass gain. The best hematological results were obtained in treatments with supplementation of 10% and 20% of *S. platensis*, especially the value of hematocrit, erythrocyte count and hemoglobin concentration. All treatments showed MCV (medium corpuscular volume) values above 100 fL, which characterizes the good health of the animals. The MCH (medium corpuscular hemoglobin) and MCCH (medium concentration of corpuscular hemoglobin) were similar to the results of the hemoglobin concentration, with the inclusion of 10% and 20% of *S. platensis* presenting the best results. There was an increasing trend on the content of total plasmatic proteins (PPT) of the fish according with the inclusion of *S. platensis* in the feed. Regarding the chemical composition of the fillets, the inclusions of 5% and 20% of *S. platensis* showed higher levels of ashes. The highest levels of crude protein (CP) were found in the treatments with 10% and 20% of *S. platensis*, whereas lipids showed only an increasing trend according to the levels of *S. platensis* in feed.

Keywords: Fish, culture, nutrition, blood, fillets.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Fotografias do cultivo integrado entre a <i>S. platensis</i> e a tilápia do Nilo em externo.....	22
Figura 2 - Sistema de cultivo utilizado no experimento.....	23
Figura 3 - Hematócrito em juvenis de tilápias do Nilo alimentados com ração adicionada de diferentes concentrações da microalga <i>Spirulina platensis</i>	35
Figura 4 - Número de eritrócitos em juvenis de tilápias do Nilo alimentados com ração suplementada com diferentes concentrações da microalga <i>Spirulina platensis</i>	36
Figura 5 - Número de neutrófilos (A) e linfócitos (B) em juvenis de tilápias do Nilo alimentados com ração suplementada com diferentes concentrações da microalga <i>Spirulina platensis</i>	37
Figura 6 - Proteínas plasmáticas totais no sangue de juvenis de tilápias do Nilo alimentados com ração adicionada de diferentes concentrações da microalga <i>Spirulina platensis</i>	38
Figura 7 - Concentração de hemoglobina em juvenis de tilápias do Nilo alimentados com ração adicionada de diferentes concentrações da microalga <i>Spirulina platensis</i>	39
Figura 8 - Índices hematimétricos em juvenis de tilápias do Nilo alimentados com ração adicionada de diferentes concentrações da microalga <i>Spirulina platensis</i> . A:HCM; B:VCM e C:CHCM	41
Figura 9 - Coloração dos filés de tilápias do Nilo alimentados com ração adicionada de diferentes concentrações da microalga <i>Spirulina platensis</i>	44

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Média dos parâmetros de qualidade da água do cultivo de juvenis de tilápias do Nilo alimentados com rações adicionadas de diferentes concentrações de <i>Spirulina platensis</i>	29
Tabela 2 - Parâmetros zootécnicos do cultivo de juvenis de tilápias do Nilo alimentados com rações adicionadas de diferentes concentrações de <i>Spirulina platensis</i>	32
Tabela 3 - Composição química das rações ofertadas aos juvenis de tilápias do Nilo com diferentes taxas de inclusão de <i>Spirulina platensis</i>	42
Tabela 4 - Composição química do filé de juvenis de tilápias do Nilo alimentados com rações adicionadas de diferentes concentrações de <i>Spirulina platensis</i>	43

In this great future, you can't forget your past.

Robert Nesta Marley, 1974

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1	Aquicultura	15
2.2	Parâmetros hematológicos	17
2.3	Composição bioquímica do filé de pescado	19
3	MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1	Local do experimento e material biológico	22
3.2	Obtenção da biomassa de <i>S. platensis</i>	22
3.3	Delineamento experimental	22
3.4	Parâmetros de Qualidade de água	24
3.5	Parâmetros zootécnicos	24
3.6	Parâmetros hematológicos	26
3.7	Composição bioquímica do filé	27
3.8	Análise estatística	28
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1	Qualidade de água	29
4.2	Parâmetros zootécnicos	32
4.3	Parâmetros hematológicos	34
4.4	Composição bioquímica do filé	41
	CONCLUSÃO	45
	REFERÊNCIAS	46

1 INTRODUÇÃO

A população mundial tem enfrentado múltiplos desafios correlacionados que vão desde crises econômicas a alterações climáticas significativas. Além disso, torna-se cada vez mais difícil conciliar a necessidade de produzir alimentos, originada pelo constante aumento na demanda alimentar de uma população mundial crescente, com o caráter limitante dos recursos naturais. O pescado é uma das principais *commodities* comercializadas mundialmente, com valores e volumes produtivos que atingiram novos recordes em 2011, com expectativa de crescimento para os próximos anos (FAO, 2012).

Enquanto a produção da pesca extrativa continua estagnada, a aquicultura vem se expandindo continuamente, sendo um dos setores da produção animal com maior crescimento anual, com uma produção de 79 milhões de toneladas em 2010, cujo valor estimado foi de 125 bilhões de dólares (FAO, 2012). Há muitos anos, a aquicultura vem sendo apontada como a solução mais viável de suprimento de pescado para atender sua crescente demanda mercadológica devido à redução constante da oferta de recursos naturais disponíveis (BOYD, TUCKER, 1998).

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma das espécies mais cultivadas no mundo atualmente (FAO, 2012), graças as suas características de crescimento rápido, bom rendimento de filé e resistência às diversas adversidades encontradas em sistemas de cultivo. Além dessas qualidades, é importante ressaltar seu alto valor comercial, grande aceitação a nível mundial e notável adaptação às várias modalidades de produção (CYRINO *et al.*, 2004).

No entanto, segundo Assis e Freitas (2012), a intensificação das metodologias de cultivo que ocorreram nos últimos anos graças à crescente consolidação mercadológica da tilápia fez com que os empreendimentos experimentassem densidades de estocagem muito altas. Esse aumento na pressão produtiva tem criado algumas adversidades como a maior dependência de alimentos formulados, intensificação no manejo, problemas de qualidade hídrica e doenças.

Dentre os custos de produção envolvidos na aquicultura, a alimentação artificial é frequentemente citada como sendo o custo mais expressivo, representando mais de 50% dos custos operacionais da aquicultura intensiva. O preço das rações depende de diversos fatores, como teor proteico, origem da proteína, ingredientes específicos e métodos de fabricação (GLENCROSS; BOOTH; ALLAN, 2007). As proteínas são ingredientes de alto custo em dietas formuladas e, por isso, devem ser incluídas cuidadosamente, com o intuito de atender as necessidades nutricionais do organismo cultivado, o que melhora a conversão alimentar, ao

mesmo tempo em que reduz os gastos e o aporte de efluentes ricos em nutrientes nos ecossistemas aquáticos (ABDEL-TAWWAB; AHMAD, 2009).

A aquicultura moderna, assim como outras atividades produtivas, deve seguir os preceitos da sustentabilidade, o que inclui a utilização sustentável de recursos naturais para alimentação e exige a substituição de farinha e óleo de peixe nas rações comerciais por componentes de menor custo e maior abundância na natureza, como as proteínas de origem vegetal. Tais ingredientes têm sido utilizados com certa restrição devido à presença de fatores antinutricionais, baixa qualidade protéica e digestibilidade reduzida (TUSCHE *et al.*, 2011). Vários estudos utilizando farinha de algas como fonte protéica para peixes têm sido realizados e confirmam que a adição de pequenas quantidades desse tipo de farinha resulta em pronunciados efeitos no crescimento, metabolismo lipídico, composição corporal, resistência às doenças e pigmentação (DIRAMAN; KORU; DIBEKLIOGLU, 2009; PROMYA; CHITMANAT, 2011; TONGSIRI; MANG-AMPHAN; PEERAPORNPISAL, 2010).

A Cyanophyta *Spirulina (Arthrospira) platensis* apresenta um grande potencial como suplemento alimentar natural, auxiliando no crescimento e intensificando a pigmentação de peixes cultivados. Sua parede celular não é composta de celulose, como em muitas microalgas, apresentando o mucopolímero mureína na sua composição, sendo facilmente digerida pelas enzimas digestivas dos peixes (TEIMOURI; AMIRKOLAIE; YEGANEH, 2013).

A *S. platensis* possui uma estrutura filamentosa (tricomas) e é conhecida por ser uma importante fonte de vitaminas, aminoácidos essenciais, minerais, ácidos graxos essenciais e pigmentos antioxidantes (JAIME-CEBALLOS *et al.*, 2006), além de ser produzida em grande quantidade atualmente, graças à sua facilidade de cultivo e processamento (DERNEKBASI *et al.*, 2010). Dessa forma, pode ser utilizada como suplemento proteico parcial ou alternativo em rações comerciais com menor custo do que os ingredientes de origem animal (HABIB *et al.*, 2008), uma vez que se pode utilizar efluentes industriais como meio de cultura alternativo para o cultivo de microalgas, reduzindo consideravelmente os custos operacionais (NEVES *et al.*, 2013).

Esta Cyanophyta está entre as mais estudadas para uso alimentício por combinar diversos componentes nutricionais de forma equilibrada, tais como proteínas, uma grande variedade de vitaminas, minerais, antioxidantes, beta caroteno e ácidos graxos polinsaturados, o que a caracteriza como um alimento funcional com propriedades nutracêuticas já bem comprovadas (AMBROSI *et al.*, 2008). Estas propriedades podem conferir melhorias

significativas na sanidade de animais aquáticos cultivados, o que pode ser constatado através de estudos hematológicos.

A hematologia é bastante utilizada para se avaliar o estado de saúde e nutrição animal. O sangue é um tecido líquido, móvel, do tipo conjuntivo, que está em equilíbrio com praticamente todos os outros tecidos, constituindo uma das grandes forças homeostáticas do organismo, sendo um importante agente responsável pelas funções de distribuição de calor, gases respiratórios, nutrientes e produtos da excreção, além de atuar na defesa do organismo (FERNANDES *et al.*, 2010).

O estudo da composição bromatológica do pescado é de fundamental importância para a elaboração de processos de conservação e elaboração de produtos derivados, além de servir de base para sua avaliação nutricional no que se refere aos teores de umidade, cinzas, proteína bruta e extrato etéreo (SANTOS *et al.*, 2006). O valor nutritivo e o preço do pescado dependem diretamente da textura da carne, da sua composição química, do rendimento e de outros fatores como o manejo na despesca e seu posterior processamento. Dentre esses fatores, a composição química é de fundamental importância para a padronização dos produtos alimentares na base de critérios nutricionais, subsidiando o processo decisório de cunho dietético, o acompanhamento de processos industriais e a seleção de equipamentos para otimização econômica e tecnológica (SIMÕES *et al.*, 2007).

O presente trabalho tem por objetivo geral avaliar os parâmetros hematológicos das tilápias do Nilo alimentadas com ração suplementada com diferentes quantidades de farinha de *S. platensis*, bem como o desempenho zootécnico dos peixes, os parâmetros de qualidade de água e a composição centesimal dos filés.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aquicultura

De acordo com o Glossário da Aquicultura (FAO, 2008), aquicultura é o cultivo de organismos aquáticos em áreas continentais ou costeiras, que envolvem a intervenção de comunidades rurais, empresas ou grupos empresariais nos processos de criação ou aumento populacional de espécies cultiváveis.

No Brasil, a definição de aquicultura está descrita na Lei nº 11.959, uma das principais medidas previstas na Política Nacional de Desenvolvimento Sustentável da Aquicultura e Pesca, publicada em junho de 2009, que descreve a aquicultura como sendo o cultivo de organismos cujo ciclo de vida, em condições naturais, ocorre total ou parcialmente em meio aquático (BRASIL, 2009).

A produção aquícola mundial atingiu outro recorde histórico de 90,4 milhões de toneladas em 2012, incluindo 66,6 milhões de toneladas de pescados e 23,8 milhões de toneladas de algas. Deste montante, a China produziu 43,5 milhões de toneladas de pescado e 13,5 milhões de toneladas de algas. A produção mundial de pescado proveniente da aquicultura cresceu a uma taxa média anual de 6,2% no período de 2000 a 2012, partindo de 32,4 milhões para 66,6 milhões de toneladas. No mesmo período, o crescimento foi relativamente mais rápido na África (11,7%), na América Latina e no Caribe, ambos com 10%. A taxa anual de crescimento na China, o maior produtor aquícola, foi em média 5,5% de 2000 à 2012 (SOFIA, 2014).

Com a estagnação da produção pesqueira extrativista e o aumento da demanda de alimento pela população humana, a aquicultura tem apresentado crescimento constante e sua participação na produção de alimentos deve aumentar ainda mais a fim de atender à necessidade futura de pescado (FAO, 2010). A previsão é que, até o ano de 2021, a produção pesqueira total atinja 172 milhões de toneladas, das quais 79 milhões deverão ser produzidas pela aquicultura, representando um incremento de 33% nesse setor produtivo, contra apenas 3% de expansão da pesca no mesmo período (FAO, 2012).

Segundo o Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura de 2012, publicado pelo Ministério da Pesca e Aquicultura em parceria com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (BRASIL, 2012), a produção brasileira de pescados em 2010 (1.264.765 t) apresentou incremento de 2% em relação à produção de 2009 (1.240.813 t). A pesca extrativa marinha foi responsável por 536.455 t (42,4% do total de pescado), seguida, sucessivamente,

pela aquicultura continental (394.340 t; 31,2%), pesca extrativa continental (248.911 t; 19,7%) e aquicultura marinha (85.057 t; 6,7%). Neste mesmo ano, a região nordeste foi responsável pela maior produção de pescado do País (410.532 t), correspondendo a 32,5% da produção nacional. Deste total, 145.906,4 t (35,5%) foram provenientes da aquicultura.

No Brasil, a aquicultura é uma atividade pecuária em 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 último triênio (2008-2010) o que correspondeu a 38% da produção total de pescados em 2010, sendo 32% representados somente pela aquicultura continental (BRASIL, 2012).

O principal peixe produzido no Brasil é a tilápia, representando 39% de toda a produção nacional em 2010, seguido pelas carpas, com 24%, além da crescente produção de tambaqui, tambacu e pacu, que juntos representaram 24,6%. Os estados de São Paulo (38 mil ton.ano⁻¹), Santa Catarina (36 mil ton.ano⁻¹) e Ceará (32 mil ton.ano⁻¹) são os maiores produtores aquícolas (BRASIL, 2012). Esta baixa colocação do estado do Ceará está, possivelmente, ligada a estiagem, o que ocasionou a migração dos piscicultores dos demais açudes, destacando-se, Sítios Novos, Pentecoste e General Sampaio, para o açude Castanhão, o qual, já se encontra com o nível de água reduzido, o que ocasionou mortalidades significativas, já em decorrência das mudanças dos parâmetros da qualidade de água.

Geralmente, a produção de tilápias no território brasileiro é realizada em pequenas e médias propriedades ou em águas da União, essencialmente em viveiros escavados e tanques-rede instalados em reservatórios (KUBITZA, 2011). A tilápia do Nilo é uma das principais espécies cultivadas na piscicultura continental e se destaca por sua resistência às doenças e tolerância a condições extremas de cultivo, como altas densidades em ambientes hostis que resultam em altos níveis de estresse (PONTES, 2011).

A produção aquícola mundial de crustáceos, moluscos e peixes precisa aumentar para satisfazer a demanda crescente por pescados (GJEDREM; ROBINSON; RYE, 2012) e também para compensar a redução da captura proveniente da pesca, pois algumas espécies já se encontram sobre-exploradas (KALIKOSKI; SEIXAS; ALMUDI, 2009). Para aumentar a produção de pescado é necessário estimular o crescimento sustentável da aquicultura em grandes corpos hídricos, aumentando a área de produção em reservatórios onde já existem polos aquícolas e reaproveitando a água de cultivos em tanques e viveiros (KUBTIZA, 2011).

No entanto, deve-se levar em consideração que essa atividade ainda é muito dependente da pesca extrativa, já que necessita de uma grande quantidade de subprodutos da pesca como, por exemplo, a farinha e o óleo de peixe para o preparo de rações, o que pode ser

um fator limitante já que os estoques pesqueiros naturais, em sua grande maioria, estão em estado de sobre-exploração (FAO, 2010).

Pesquisadores da área de nutrição animal têm conduzido estudos com a intenção de substituir a farinha e o óleo de peixe, utilizados nas rações comerciais, por ingredientes de origem vegetal, respeitando o balanço de nutrientes essenciais com a suplementação de aminoácidos sintéticos e complexos vitamínicos e minerais sempre que necessário. Esses estudos possuem o intuito de reduzir os custos de produção e, ao mesmo tempo, aliviar a pressão extrativa sobre os estoques pesqueiros naturais (GRAEFF; SERAFIN, 2010). A farinha de peixe é um ingrediente com excelentes características nutricionais, sendo muito bem aproveitada pelos peixes, mas seu alto custo e baixa disponibilidade comercial é uma das grandes preocupações da aquicultura contemporânea (PEREIRA JUNIOR *et al.*, 2013).

2.2 Parâmetros hematológicos

O sangue é um tecido conectivo de 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 e, além disso, o sangue transporta metabólitos, hormônios, enzimas e eletrólitos variados. 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 (RANZANI-PAIVA; SILVA-SOUZA, 2004).

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). 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).

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. Os eritrócitos maduros de peixes possuem uma morfologia que varia de oval a elipsoidal com núcleo central, o citoplasma tem aparência clara e homogênea, podendo conter quantidade variável de pontos claros rarefeitos ou vacúolos associados à degeneração de organelas celulares. As alterações morfológicas nestas células estão geralmente relacionadas à resposta orgânica frente a um processo anêmico (THRALL, 2007).

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, 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; HINE, 1992).

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, 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).

2.3 Composição bioquímica do filé de pescado

Segundo a FAO (2012), o pescado e seus derivados representam uma valiosa fonte de nutrientes de fundamental importância em dietas saudáveis e diversificadas, apresentando baixos teores de gorduras saturadas, carboidratos e colesterol. O pescado apresenta alto valor proteico e uma grande variedade de micronutrientes essenciais, onde se incluem várias vitaminas (D, A e B), minerais (cálcio, iodo, zinco, ferro e selênio) e ácidos graxos polinsaturados. Mesmo o consumo regular de pequenas quantidades de pescado pode oferecer um impacto positivo e significativo em termos nutricionais, por disponibilizar uma quantidade satisfatória de proteínas, aminoácidos e outros nutrientes que são escassos em outros produtos de origem animal.

Evidências científicas demonstram os efeitos benéficos do consumo de pescado no que diz respeito à prevenção de doenças coronárias, estreitamento dos vasos que suprem o

coração em decorrência do espessamento da camada interna da artéria devido ao acúmulo de gordura, e acidentes vasculares cerebrais, além de auxiliar na manutenção da saúde corporal e mental. O pescado é também altamente recomendado para gestantes e crianças, pois auxilia no desenvolvimento cerebral e no crescimento. O consumo *per capita* anual de pescado mundial apresentou um crescimento de 9,9 kg em 1960 para 18,4 kg no ano de 2009 (FAO, 2012). No Brasil, esse consumo aumentou de 7,62 kg/hab/ano em 1996 para 9,75 kg/hab/ano no ano de 2010 (BRASIL, 2010).

A carne de peixe deve ser incluída na dieta devido ao seu baixo teor de gorduras e alto teor proteico. Estudos datados da década de 70 demonstraram a baixa incidência de doenças cardiovasculares e câncer em populações de esquimós, apesar da dieta rica em gorduras praticada por essas populações (BANG; DYERBERG, 1972; BANG; DYERBERG; HJORNE, 1976).

Os peixes são constituídos basicamente por água, lipídios e proteínas, cujas quantidades variam de acordo com a espécie, fatores ambientais e alimentação, sendo a fração lipídica, a mais variável. Em peixes cultivados, os teores de proteína, lipídios, minerais e vitaminas estão diretamente relacionados aos teores desses compostos na alimentação que é ofertada durante o cultivo (SARTORI; AMANCIO, 2012).

O filé de tilápia “in natura” apresenta em sua composição cerca de 75% de umidade, 20% de proteína bruta, 2% de minerais e uma porcentagem variável de lipídeos, geralmente entre 3,4 e 8,5%. A composição química do filé pode variar de acordo com a dieta fornecida ao peixe, o manejo alimentar, a idade, o sexo e o tamanho do animal (FABRICIO, 2013).

As proteínas são as biomoléculas mais abundantes nos seres vivos e apresentam importantes funções fisiológicas, como a coagulação sanguínea, a nutrição dos tecidos, e outros processos que contribuem para a manutenção da homeostase (ALVES; WAITZBERG, 2009). Quando comparada a outras carnes, a proteína proveniente do pescado apresenta alta digestibilidade atribuída à maior fração miofibrilar e ao menor comprimento das fibras musculares, o que resulta numa maior área de atuação das enzimas digestivas (GONÇALVES, 2011).

Para que uma dieta apresente um melhor aproveitamento nutricional e um menor poder poluente das excretas resultantes da alimentação, é importante que haja equilíbrio entre as proteínas e os aminoácidos digestíveis, com o correto balanceamento de forma a atender as exigências de todos os aminoácidos essenciais para manutenção e crescimento dos organismos (GONÇALVES *et al*, 2009).

Alguns aditivos utilizados em rações possuem a capacidade de promover mudanças metabólicas que se traduzem em respostas celulares, resultando no aumento da deposição proteica e diminuição do teor lipídico (FABRICIO, 2013). Várias fontes proteicas de origem vegetal têm sido utilizadas no intuito de substituir as proteínas de origem animal, como óleo e farinha de peixe, desde que apresentem boa digestibilidade, boa atratibilidade e balanço nutricional adequado. Dentre estes ingredientes, a Cyanophyta *S. platensis* se destaca por sua excelente composição bioquímica, possuindo elevados níveis de proteínas, vitaminas, minerais e ácidos graxos polinsaturados, como por exemplo, o ácido graxo gama-linolênico (GLA), que possui a propriedade de estimular o sistema imunológico de peixes e crustáceos (MOREIRA *et al.*, 2011).

Spolaore *et al.* (2006) relatam que a produção comercial de *Arthrospira* se iniciou no México, nos anos 70, com a produção de *Arthrospira máxima*, a qual era encontrada naturalmente no lago Texcoco. Assim, o sucesso na produção de *S. platensis* em larga escala depende do desenvolvimento de culturas eficazes e econômicas. Estima-se que 25% do custo total da produção de cianobactérias está relacionada com o meio de cultivo, uma vez que o mesmo deve possuir uma fonte de nitrogênio, segundo elemento mais abundante na sua biomassa. Além do alto custo com meio de cultivo, as culturas desenvolvidas geram efluentes com alta salinidade que exigem tratamentos com preço também elevado (CARVALHO *et al.*, 2004).

Apesar de todos os estudos e possíveis aplicações de produtos com alto valor comercial, a utilização da *S. platensis* se limita praticamente apenas ao uso de sua biomassa na fabricação de farinha, comprimidos, cápsulas ou pastilhas para suplemento alimentar humano (PULZ; GROSS, 2004).

Diversos estudos têm comprovado a eficácia dos aditivos sintéticos e naturais para promover uma melhoria no desempenho produtivo de peixes cultivados, assim como melhorias no rendimento e na composição química do filé. Dentre essas melhorias, destacam-se o aumento do teor proteico, do teor de minerais, a diminuição do teor de gorduras, bem como mudanças organolépticas relacionadas ao sabor e a coloração dos filés (FABREGAT, 2011; MOREIRA, 2011; FABRICIO, 2013).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local do experimento e material biológico

O experimento foi realizado no Laboratório de Aquicultura do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Campus Morada Nova, Ceará, Brasil. Foram utilizados peixes da espécie tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) obtidos na Estação de Piscicultura Prof. Dr. Raimundo Saraiva da Costa, do Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará (UFC).

3.2 Obtenção da biomassa de *S. platensis*

A biomassa seca de *S. platensis* foi obtida após a filtragem da biomassa úmida, em tela 60 µm, de cultivos integrados entre a microalga e a tilápia do Nilo em tanques de 1.000 L em ambiente externo realizados na Estação de Piscicultura Prof. Dr. Raimundo Saraiva da Costa (Figura 1). Posteriormente a biomassa úmida contida na tela foi submetida à lavagem com água deionizada para retirada do sal e posteriormente seca em estufa a 60 °C.

Figura 1 - Fotografias do cultivo integrado entre a *S. platensis* e a tilápia do Nilo em ambiente externo.



Fonte: Arquivo pessoal.

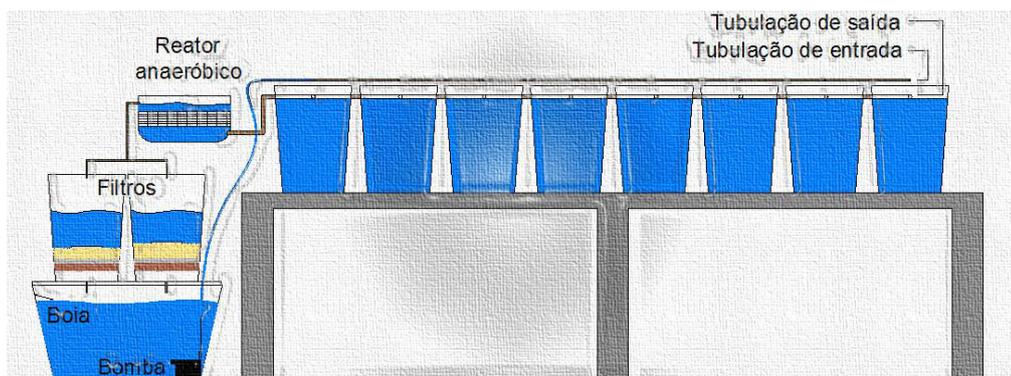
3.3 Delineamento experimental

Foram utilizados 12 tanques circulares com 80 L de volume útil, em um delineamento experimental totalmente ao acaso (Figura 2), sendo três tratamentos (T-01, T-02

e T-03) e um controle (C) com três repetições cada. Nos tratamentos T-01, T-02, e T-03 os peixes foram alimentados com ração comercial suplementada com 5, 10 e 20% da farinha de *S. platensis*, respectivamente, enquanto no controle, foi ofertada a ração sem a adição da microalga. A farinha de *S. 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 h na temperatura de 55 °C. A ração controle passou pelo mesmo processamento das outras com exceção da adição da farinha de *S. platensis*. Em todo o experimento foram utilizadas 192 tilápias com peso médio inicial de aproximadamente $0,6 \pm 0,1$ g, distribuídas em cada tanque na densidade de 0,2 alevinos L⁻¹.

Os cultivos foram dispostos em um sistema de recirculação de água, onde a tubulação de saída conduzia a água até um biofiltro do tipo reator anaeróbico com vazão de 25 L h⁻¹ (Figura 2). Posteriormente, a água era submetida à ação de um filtro mecânico de areia e brita, com a função de tratar a água antes do seu bombeamento e reutilização no sistema. Foram realizadas sifonagens quinzenais para retirada do excesso de matéria orgânica e limpeza dos filtros. Os tanques foram submetidos à aeração constante, utilizando um compressor de ar (CE Cubos Air 140) com vazão de 140L/min e iluminados 12 h por dia por duas lâmpadas fluorescentes de 40 W.

Figura 2 - Sistema de cultivo utilizado no experimento.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A alimentação foi ofertada diariamente até a saciedade aparente, nos horários de 07h00min, 12h00min e 17h00min, durante 90 dias de cultivo. As biometrias foram realizadas quinzenalmente, após suspender a alimentação que também foi suspensa no dia da coleta de sangue dos animais.

3.4 Parâmetros de Qualidade de água

Inicialmente, foi analisada a água bruta ofertada pelo Serviço Autônomo de Água e Esgoto (SAAE) do município de Morada Nova. Após o início do experimento, foram realizadas análises diárias às 09h00min para a determinação do pH com um medidor de bancada (HANNA HI 221), oxigênio dissolvido (mg L^{-1}) e temperatura ($^{\circ}\text{C}$) com o auxílio de uma sonda eletrônica (YSI 55).

As concentrações de N-amônia total (mg L^{-1}), N-nitrito (mg L^{-1}) e Fósforo reativo (mg L^{-1}), foram determinadas semanalmente seguindo metodologia apresentada no Standard Methods (APHA, 2005).

3.5 Parâmetros zootécnicos

Quinzenalmente, todos os peixes foram pesados em balança digital (Urano UD 1500/0,1 LE) com precisão de 0,1 g e medidos quanto ao comprimento total com paquímetro digital (Insize Digital Caliper Series 1108) com precisão de 0,01 mm.

Com a obtenção dos dados de peso e comprimento, foram determinados os seguintes parâmetros zootécnicos: Taxa de Sobrevivência (S%) (SOUZA *et al.*, 2008), Ganho de Biomassa (GB) (MARQUES *et al.*, 2004), Ganho de Peso Médio Diário (GPD) (SILVA *et al.*, 2006), Taxa de Crescimento Específico (TCE) (ASADUZZAMAN *et al.*, 2009), Conversão Alimentar Aparente (CAA), Crescimento em Comprimento (CC), Crescimento Diário (CD) (SANTOS; FURTADO-NETO; MOTA 2009) e Fator de Eficiência Proteica (FEP). Estes parâmetros foram estimados pelas seguintes equações:

$$S\% = N_f \cdot 100 / N_i \quad (1)$$

Onde,

S - taxa de sobrevivência (%);

N_f e N_i - número final e inicial de peixes, respectivamente.

$$GB = B_f - B_i \quad (2)$$

Onde,

GB – ganho de biomassa

B_f e B_i – biomassa final e inicial (g), respectivamente.

$$\text{GPD} = \text{PMf} - \text{PMi} / \text{T} \quad (3)$$

Onde,

GPD - ganho de peso médio diário (mg dia^{-1}),

PMf e PMi - peso médio final e inicial (mg),

T – tempo de cultivo (dias).

$$\text{TCE} = \ln \text{Pf} - \ln \text{Pi} / \text{T} \times 100 \quad (4)$$

Onde:

ln – logaritmo neperiano e;

Pf e Pi – peso médio inicial e final (mg);

T – tempo de experimento (d).

$$\text{CAA} = \text{QR} / \text{GB} \quad (5)$$

Onde,

CAA – conversão alimentar aparente (g de ração g de peixe⁻¹);

QR – quantidade de ração consumida (mg).

$$\text{CC} = \text{Ct}_f - \text{Ct}_i \quad (6)$$

Onde,

CC – Crescimento em Comprimento (mm)

Ct_f – Comprimento final (mm);

Ct_i – Comprimento inicial (mm).

$$\text{CD} = (\text{Ct}_f - \text{Ct}_i) / \text{t} \quad (7)$$

Onde,

CD – Crescimento Diário (mm dia^{-1});

Ct_f – Comprimento final (mm);

Ct_i – Comprimento inicial (mm);

t – tempo (dia).

$$\text{FEP} = \text{GB} / (\text{Teor de proteína bruta} \cdot \text{Quantidade de ração fornecida}) \quad (8)$$

Onde,

FEP – Fator de Eficiência Proteica (%).

3.6 Parâmetros hematológicos

Ao final dos experimentos foram realizadas coletas de sangue dos peixes previamente anestesiados com 100 mg L^{-1} de óleo de cravo (KUMAR *et al*, 2011). Para isso, quatro indivíduos de cada tratamento foram amostrados aleatoriamente e tiveram o sangue coletado por punção intracardíaca com a utilização de uma seringa (BD PlastipakTM) de 1 mL com agulha hipodérmica, sendo a alíquota de sangue transferida para microtubos plásticos de $500 \mu\text{L}$ (BD Microtrainer com K2EDTA[®]).

Após a coleta de sangue, foi realizado um esfregasso sanguíneo, adicionando uma gota de sangue em uma lâmina de vidro e, com uma lâmina guia inclinada em aproximadamente 45° , procedeu-se um movimento horizontal espalhando o sangue na lâmina. Essas lâminas receberam um banho de álcool 95% para conservação do esfregasso e para evitar a aglomeração de insetos. Após a secagem à temperatura ambiente, as lâminas foram coradas com o corante panótico, para posterior contagem diferencial de células por microscopia.

Os valores de hematócritos (%) foram obtidos imediatamente após a coleta do sangue fresco em tubos capilares de vidro que foram preenchidos por capilaridade em contato com os microtubos plásticos, e posteriormente centrifugados em microcentrífuga (SPIN 1000) a $18.500 \times g$ por cinco minutos. Após a centrifugação, foi realizada a leitura do hematócrito com o auxílio de uma régua específica.

A concentração de hemoglobina (Hb, g dL^{-1}) foi determinada com a utilização do reagente de Drabkin (Labtest), sendo diluídos $20 \mu\text{L}$ de sangue em 5 mL de reagente. Após a diluição, foi realizada a leitura em espectrofotômetro (GEHAKA UV-340G) a 540 nm de absorvância usando água destilada como branco, e o reagente de hemoglobina (10g dL^{-1} , labtest) como padrão. A concentração de hemoglobina foi calculada segundo a equação:

$$\text{Hemoglobina (g/dL)} = \text{Absorbância da amostra} \times \text{Fator de calibração} \quad (9)$$

Onde:

Fator de calibração = concentração do padrão (g/dL) / absorvância do padrão (nm).

A contagem de eritrócitos (células $\times 10^6 \mu\text{L}^{-1}$) foi realizada por microscopia usando o método do hemocitômetro após diluição de $10 \mu\text{L}$ de sangue em 2 mL de solução de formol citrato.

Para o cálculo dos índices hematimétricos, volume médio corpuscular (VCM, fL), hemoglobina corpuscular média (HCM, pg cel⁻¹) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM,%), foram utilizadas as seguintes equações (TORT; TORRES, 1988):

$$\text{VCM (fL)} = (\text{Ht} / \text{número de eritrócitos}) \times 10 \quad (10)$$

$$\text{HCM (pg cel}^{-1}\text{)} = (\text{Hb} / \text{número de eritrócitos}) \times 10 \quad (11)$$

$$\text{CHCM (\%)} = (\text{Hb} / \text{Ht}) \times 100 \quad (12)$$

Onde,

Ht – Hematócrito (%);

Hb – Concentração de hemoglobina (g/dL)

Número de eritrócitos – Número de hemácias contadas na câmara de Neubauer

Após a centrifugação do sangue para análise do hematócrito, foram retirados 20 µL de plasma do capilar centrifugado para análise das proteínas plasmáticas totais, cujas amostras foram diluídas em 1 mL do reagente birueto (Labtest) e foram levadas ao espectrofotômetro, previamente zerado com água destilada, para leitura a 545 nm, sendo também utilizado um padrão de proteínas totais (4g/dL, Labtest) para a determinação do teor de proteínas plasmáticas totais, segundo a equação:

$$\text{PPT (g dL}^{-1}\text{)} = \text{Absorbância da amostra} \times \text{Fator de calibração} \quad (13)$$

Onde:

Fator de calibração – concentração do padrão (g/dL) / absorbância do padrão.

3.7 Composição bioquímica do filé

Para a análise bromatológica, foram filetados quatro peixes de cada tratamento, e os filés foram embalados a vácuo e estocados à - 18 °C até o dia da análise.

Para a análise da umidade, 2 g de cada amostra foram depositados em cadinhos previamente secos em estufa a 105 °C por 24 horas. Para a realização da análise, as amostras

foram também aquecidas a 105 °C por 24 horas e, posteriormente, realizado o cálculo segundo a equação:

$$\% \text{ de umidade} = [(PC + AU) - (PC + AS)] \times 100 / AU \quad (14)$$

Onde:

PC – peso do cadinho (g)

AU – amostra de file úmida (g)

AS – amostra de file seca (g)

Para o cálculo do teor de cinzas, 2 g de cada amostra foram colocadas em cadinhos previamente secos que foram postos no forno mufla até a total incineração das amostras a 550 °C. O teor de cinzas nas amostras foi calculado segundo a equação:

$$\% \text{ cinzas} = [(PC + C) - (PC) \times 100] / [(PC + AU) - (PC)] \quad (15)$$

Onde:

C – cinzas (g)

O teor de proteína bruta foi calculado a partir de uma adaptação do método de Kjeldahl (GALVANI; GAERTNER, 2006) com a utilização do fator de conversão do nitrogênio proteico, enquanto o extrato etéreo foi analisado segundo a metodologia proposta por Soxhlet, com a utilização do éter etílico como solvente extrator.

3.8 Análise estatística

Os dados de parâmetros zootécnicos, qualidade de água, composição centesimal muscular e parâmetros hematológicos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) simples ($p \leq 0,05$).

Nos casos em que houve diferença significativa, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Os testes foram realizados no software BioEstat 5.0.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Qualidade de água

Dentre os parâmetros físicos e químicos medidos durante o experimento, a temperatura, o oxigênio dissolvido, o pH e as concentrações de amônia, nitritos e fósforo reativo não variaram de forma significativa nos diferentes tratamentos ($p \leq 0,05$) (TABELA 1).

Tabela 1 - Média dos parâmetros de qualidade da água do cultivo de juvenis de tilápias do Nilo alimentados com rações adicionadas de diferentes concentrações de *Spirulina platensis*.

Parâmetro	Tratamentos				Média geral
	Controle	T-01	T-02	T-03	
Temperatura (°C)	30,0 ± 1,5	29,2 ± 1,6	29,1 ± 1,5	29,1 ± 1,5	29,35 ± 0,4
Oxigênio dissolvido (mg L ⁻¹)	5,6 ± 0,3	5,9 ± 0,3	5,5 ± 0,5	5,4 ± 0,5	5,6 ± 0,21
pH (9h00min)	7,9 ± 0,2	7,9 ± 0,2	7,9 ± 0,2	7,9 ± 0,2	7,9 ± 0,2
Fósforo reativo (mg L ⁻¹)	0,64 ± 0,54	0,63 ± 0,54	0,70 ± 0,51	0,64 ± 0,52	0,65 ± 0,03
Amônia Total (mg L ⁻¹)	0,35 ± 0,31 ^a	0,25 ± 0,19 ^b	0,36 ± 0,29 ^a	0,36 ± 0,19 ^a	0,33 ± 0,05
Nitrito (mg L ⁻¹)	0,30 ± 0,14	0,29 ± 0,11	0,29 ± 0,13	0,32 ± 0,13	0,3 ± 0,01

*Os valores representam as médias ± desvio padrão. Letras diferentes representam diferença estatística ($p \leq 0,05$).

Fonte: Dados do experimento.

O monitoramento sistemático da qualidade da água é de fundamental importância para a vida aquática em unidades de produção aquícola, pois possibilita um manejo eficiente e racional desse tipo de sistema produtivo (SÁ, 2011).

A temperatura é um dos fatores de maior importância no que diz respeito ao crescimento de animais pecilotérmicos, pois influencia diretamente na velocidade do metabolismo e na capacidade de utilização dos nutrientes presentes na dieta (GUERREIRO *et al.*, 2012). A temperatura, medida diariamente nos quatro tratamentos, permaneceu de acordo com o recomendado (26 a 32°C) para o desenvolvimento satisfatório de tilápias do Nilo, se mantendo em média 29,3 °C (SÁ, 2011).

Em todos os tratamentos utilizados, a concentração média de OD (5,6 mg L⁻¹) se manteve dentro da faixa ideal para a tilápia do Nilo, o que é de extrema importância levando em consideração que juntamente com a temperatura, o OD é um fator de grande relevância para a manutenção de todos os processos fisiológicos dos peixes. Segundo Sá (2011), os

peixes toleram curtos períodos de tempo quando expostos a concentrações menores que $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ e podem sofrer com o aparecimento de bolhas de gás no sangue quando expostos à concentração acima de $15,0 \text{ mg L}^{-1}$. Por outro lado, concentrações de OD entre 4 e 15 mg L^{-1} são consideradas ideais, promovendo boas taxas de crescimento e integralidade biológica.

Sanchez e Matsumoto (2011) utilizaram um sedimentador e um biofiltro para a remoção de compostos orgânicos em um sistema de recirculação. O OD se manteve numa faixa acima de $6,0 \text{ mg L}^{-1}$, concentração essa considerada adequada tanto para as condições de cultivo como para um eventual descarte de efluentes em corpos de água receptores.

O pH se manteve estável durante o cultivo, não apresentando as variações diárias normalmente presentes em cultivos convencionais, e mantendo-se levemente alcalino (7,9). As alterações de pH na água estão relacionadas com as concentrações de gás carbônico, pois este gás reage na água formando o ácido carbônico, causando a redução do pH. O aumento do pH durante o dia é ocasionado pelo consumo de gás carbônico relacionado ao processo de fotossíntese, enquanto a redução do pH à noite ocorre por conta da produção de gás carbônico pelos processos de respiração e decomposição (SÁ, 2011).

Segundo Boyd (1979) valores de pH entre 6,5 e 9 são considerados ideais para o cultivo de peixes. Baixos valores de pH causam estresse ácido, podendo ocasionar morte por acidose sanguínea em valores abaixo de quatro, enquanto valores acima de 11 causam estresse alcalino, ocasionando a morte por alcalose sanguínea.

Os níveis de amônia e nitritos se mantiveram estáveis e de acordo com as condições ideais de cultivo, ou seja, abaixo de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ e abaixo de $0,3 \text{ mg L}^{-1}$ respectivamente (COELHO *et al.*, 2014), enquanto o fósforo reativo se manteve estável em torno de $0,7 \text{ mg L}^{-1}$, sendo o único que ultrapassou os limites recomendados pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (BRASIL, 2005).

O teor de fósforo reativo determinado nos tratamentos não ocasionou grandes interferências no experimento já que o fósforo reativo está relacionado à questão da produtividade primária, sendo um fator limitante para o desenvolvimento de microalgas, que não estiveram presentes no sistema de cultivo adotado.

O fósforo reativo pode causar um grande problema quando descartado em ecossistemas receptores por facilitar a eutrofização e conseqüentemente aumentar o consumo de oxigênio dissolvido. No entanto, em sistemas de recirculação, a água permanece circulando no sistema de cultivo e não é descartada em ecossistemas receptores, evitando problemas com a legislação vigente e anulando o problema da poluição ambiental (BRASIL, 2005).

A resolução CONAMA N° 357/2005 estabelece o limite máximo de $0,03 \text{ mg L}^{-1}$ de fósforo reativo para ambientes lênticos e $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ para ambientes intermediários, com tempo de residência de água de 2 – 40 dias. Níveis acima dos recomendados pela resolução supracitada podem resultar em grandes *blooms* fitoplanctônicos que por sua vez, aumentam a carga orgânica do ambiente, aumentando-se também a demanda de oxigênio do sistema (BRASIL, 2005).

Em viveiros de aquicultura essas concentrações podem alcançar níveis entre $0,2 - 0,3 \text{ mg L}^{-1}$, já que a presença de fitoplâncton nesses ambientes é benéfica para fins de alimentação natural dos organismos cultivados (SÁ, 2011).

Coelho *et al* (2014) obtiveram resultados semelhantes em sistema de recirculação utilizando a *S. platensis* como elemento fitorremediador da água. No caso em questão, os níveis de amônia se mantiveram entre $0,26 - 0,33 \text{ mg L}^{-1}$, enquanto os nitritos alcançaram níveis entre $0,0 - 0,37 \text{ mg L}^{-1}$. Os resultados encontrados demonstram entre outras vantagens, a minimização dos impactos ambientais e o reuso da água, que atualmente se constituem em duas fortes tendências ao futuro da atividade aquícola.

A estabilidade desses parâmetros foi alcançada graças ao sistema de recirculação de água utilizado, onde os efluentes eram previamente tratados através de biofiltragem e filtragem mecânica antes de recircularem.

Sanchez e Matsumoto (2011), utilizando um sistema de recirculação de água com tratamento por meio de sedimentador convencional e reator aeróbio, obtiveram uma remoção de amônia total de 41,2%, mantendo uma concentração média final de $0,079 \text{ mg L}^{-1}$.

Costa *et al* (2013) utilizaram um sistema de recirculação com um reator anaeróbico de fluxo ascendente, semelhante ao reator utilizado no presente trabalho. Os autores observaram uma remoção de amônia de 96,7%, mantendo esse parâmetro em torno de $0,08 \text{ mg L}^{-1}$, encontrando-se dentro dos limites aceitáveis na legislação vigente. O mesmo trabalho obteve como resultado uma remoção de aproximadamente 40% de ortofosfato reativo, o que também manteve o referido parâmetro dentro do limite recomendado pela legislação.

Os sistemas de recirculação são sistemas fechados que trazem várias vantagens, como por exemplo, a redução significativa do consumo de água, o controle de vários parâmetros físicos e químicos (pH, amônia, nitrito, fósforo reativo, etc.), bem como o tratamento e reutilização da água, o que pode diminuir ou eliminar completamente o descarte de efluentes no ambiente (CYRINO *et al*, 2004).

4.2 Parâmetros zootécnicos

No que se refere aos parâmetros zootécnicos analisados no presente trabalho, a maioria não apresentou diferenças significativas entre os quatro tratamentos ($p \leq 0,05$) (TABELA 2).

Tabela 2 - Parâmetros zootécnicos do cultivo de juvenis de tilápias do Nilo alimentados com rações adicionadas de diferentes concentrações de *Spirulina platensis*.

Parâmetro	Tratamentos			
	Controle	T-01	T-02	T-03
Sobrevivência (%)	58,4 ± 9,4 ^b	68,7 ± 12,5 ^{ab}	68,7 ± 4,9 ^{ab}	68,7 ± 6,3 ^a
PMF (g peixe ⁻¹)	42,0 ± 2,9 ^a	33,5 ± 2,3 ^b	35,8 ± 3,2 ^{ab}	41 ± 5,2 ^{ab}
Produtividade (kg m ⁻³)	5,0 ± 1,1	4,6 ± 0,9	4,9 ± 0,4	5,2 ± 1,5
GPD (g dia ⁻¹)	0,4 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,1
TCE (% dia ⁻¹)	4,2 ± 0,1	3,9 ± 0,1	4,0 ± 0,1	4,1 ± 0,1
GB (g)	393,3 ± 90,3 ^a	292,3 ± 10,4 ^b	384,4 ± 35,1 ^a	400,8 ± 52,4 ^a
CAA (g g ⁻¹)	2,6 ± 1,3 ^{ab}	3,2 ± 0,2 ^a	3,3 ± 0,4 ^a	2,5 ± 0,2 ^b
CC (mm)	104,54 ± 32,2	99,26 ± 24,47	89,70 ± 32,17	117,23 ± 23,16
CD (mm)	1,16 ± 0,04	1,10 ± 0,05	1,00 ± 0,36	1,31 ± 0,26
FEP (%)	1,5 ± 0,1 ^b	1,9 ± 0,2 ^a	1,9 ± 0,1 ^a	2,1 ± 0,3 ^a

*Os valores representam as médias ± desvio padrão. Letras diferentes representam diferença estatística ($p \leq 0,05$).

Os menores valores de PMF(g) e GB(g) foram obtidos no tratamento com suplementação de 5% de *S. platensis*, sendo significativamente inferiores aos do tratamento controle e com a adição de 10% de *S. platensis* na ração. No entanto, no tratamento controle, esse parâmetro pode ter sido influenciado pela mortalidade elevada, que possibilitou que houvesse menor competição por alimento, o que conseqüentemente melhorou o peso médio final e o ganho de biomassa.

A melhor CAA (2,5 g g⁻¹) ocorreu no tratamento com adição de 20% de *S. platensis*. Teimouri, Amirkolaie e Yeganeh (2013) obtiveram taxas de conversão alimentar de 1,04 e 1,03 com a inclusão de 7,5 e 10% de *S. platensis* na ração para Truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), demonstrando que a adição de *S. platensis* na ração melhora o aproveitamento da ração em termos de produção de biomassa convertida após o processo digestivo.

O resultado de CAA encontrado com a inclusão de 20% de *S. platensis* na ração foi melhor do que os resultados encontrados por Coêlho *et al.*, (2014) que obteve uma CAA entre 2,8 e 3,22, sendo o cultivo de alevinos realizado na densidade de 0,2 alevinos L⁻¹, mas com a inoculação de *S. platensis* diretamente na água, não havendo a inclusão na ração. Promya e Chitmanat (2011) e Teimouri, Amirkolaie e Yeganeh (2013) encontraram valores de CAA entre 1,2 e 1,5 em cultivos com inclusão de *S. platensis* na ração variando entre 2,5 e 10%, sendo que não houve recirculação de água nesses experimentos, cujos manejos foram realizados através de trocas de água diárias. Possivelmente, nestes casos, a presença de alimento natural tenha contribuído para a redução desta taxa.

Outro parâmetro que apresentou diferença estatística foi o fator de eficiência proteica (FEP), com o melhor resultado aparecendo no tratamento com suplementação de 20% de *S. platensis* na ração. O fator de eficiência proteica (FEP) indica quanto da PB da dieta foi convertida em peso corporal (ROSSATO *et al.*, 2014). Promya e Chitmanat (2011) obtiveram fatores de eficiência proteica de 4,95 e 4,89, após a inclusão de 5% de *S. platensis* e 5% de *Cladophora* na dieta do bagre africano (*Clarias gariepinus*), respectivamente. Bitarello *et al.* (2013) encontraram fatores de eficiência de 2,78 e 2,63 com a inclusão de 2,5 e 5% de farinha de mandioca na dieta da tilápia vermelha.

Vários estudos foram conduzidos com uso de *S. platensis* como suplemento nutricional ou como elemento substituto da farinha de peixe em rações comerciais para aquicultura, com resultados satisfatórios em vários aspectos, como por exemplo, efeito imunoestimulante, melhoria na conversão alimentar e na taxa de crescimento (JAIME-CEBALLOS *et al.*, 2007; PRADHAN *et al.*, 2012; SILVA-NETO *et al.*, 2012).

Jaime-Ceballos *et al.*, (2007) substituíram a farinha da microalga *Chaetoceros muelleri* pela farinha de *S. platensis*, em níveis de 0 – 100% na dieta de *Litopenaeus schimitti*, obtendo maiores taxas de crescimento a partir da taxa de 50% de substituição.

Silva-Neto *et al.* (2012), substituindo a farinha de peixe por farinha de *S. platensis* em 25%, obtiveram melhores pesos médios finais, sobrevivência e conversão alimentar em *Litopenaeus vannamei* cultivados em tanques de 500 L numa densidade de 44 camarões por tanque.

Outros estudos comprovam que a inclusão de *S. platensis* na dieta pode melhorar o desempenho produtivo de diferentes espécies de peixes. Dernekbası *et al.* (2010), incluíram *S. platensis* em 10%, 20%, 30% e 40% na ração para *Poecilia reticulata*, obtendo uma melhor conversão alimentar e maior sobrevivência na inclusão de 40% de *S. platensis* na ração. Tongsirı, Mang-Amphan e Peerapornpisal (2010) utilizaram a farinha de *S. platensis*

misturada à ração ofertada em cultivo de *Pangasianodon gigas*, em taxas de 5%, 10% e 20% e observaram um acréscimo de aproximadamente 100 g no ganho de biomassa nos tratamentos onde houve a inclusão da microalga.

Promya & Chitmanat (2011) testaram diferentes dietas contendo 3% e 5% de *S.platensis* e 5% de *Cladophora* no cultivo de *Clarias gariepinus*. Os autores observaram um incremento no ganho de peso, taxa de crescimento específico e crescimento médio diário no tratamento com a inclusão de 5% de *S.platensis* e *Cladophora*. Teimouri, Amirkolaie e Yeganeh (2013) substituíram a farinha de peixe pela farinha de *S. platensis* em taxas de 2,5, 5, 7,5 e 10% na ração ofertada para *Oncorhynchus mykiss*, obtendo melhores taxas de sobrevivência, ganho de peso e peso médio final nos tratamentos com substituição em 7,5 e 10%.

4.3 Parâmetros hematológicos

A aplicação da hematologia em pesquisas com animais é bem aceita e considerada como procedimento de rotina em métodos de diagnóstico, não revelando somente aspectos patológicos, mas também aspectos nutricionais de grande relevância (ARAÚJO *et al*, 2011).

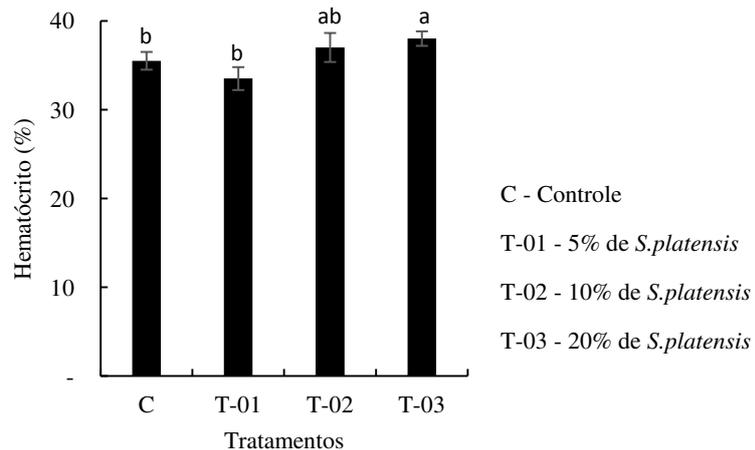
O monitoramento do estado de saúde dos peixes é fundamental para que haja um controle sanitário mais eficiente. Uma das ferramentas mais eficazes nesse sentido é a hematologia clínica, pois permite diagnóstico preciso de patologias, podendo atuar como um indicador prognóstico de condições patológicas, através da análise de alterações morfológicas e quantitativas das células sanguíneas (ISHIKAWA *et al*, 2010).

No que se refere aos parâmetros hematológicos do presente trabalho, o hematócrito dos peixes, em todos os tratamentos, foi maior do que o encontrado por Silva (2008), que variaram entre 25,92 e 28,94, utilizando vacinação polivalente por via oral, banho de imersão e injeção intraperitoneal de imunoestimulante em tilápias do Nilo.

Fernandes Junior *et al*. (2010) obtiveram resultados de 21,75 até 34,58, com a utilização do cloreto de colina como suplemento na dieta de tilápias do Nilo em taxas de 100,00; 200,00; 400,00; 600,00; 800,00; 1.000,00 e 1.200,00 mg de colina/kg de ração. Esses estudos demonstraram que a inclusão de compostos com capacidade imunoestimulante pode melhorar o processo de eritropoiese, que consiste na produção de glóbulos vermelhos do sangue.

A Figura 3 mostra que houve um acréscimo gradativo desse índice de acordo com o aumento da inclusão de *S. platensis* na ração, onde os tratamentos T-02 e T-03 apresentaram os maiores resultados.

Figura 3 - Hematócrito em juvenis de tilápias do Nilo alimentados com ração adicionada de diferentes concentrações da microalga *Spirulina platensis*.



Fonte: Dados do experimento.

Os índices de hematócrito encontrados (de 35,5 a 38,00%) foram semelhantes aos valores encontrados por Guimarães *et al.* (2014), utilizando suplementação de vitamina A (0, 2.500; 5.000; 10.000; e 20.000 UI/kg) na dieta de tilápias do Nilo num período de 10 semanas, atingindo valores máximos de 35%, no tratamento com inclusão de 20.000 UI de vitamina A/kg de ração. O hematócrito é um bom indicador de efeitos relacionados a fatores ambientais e nutricionais, pois é o índice do eritrograma com menor coeficiente de variação (TAVARES-DIAS; MORAES, 2003).

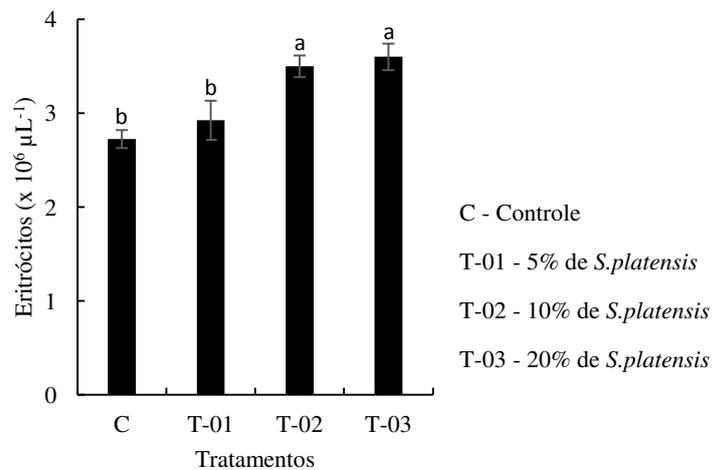
A contagem de eritrócitos foi maior nos tratamentos com inclusão de 10% e 20% (FIGURA 4) de *S. platensis* na ração, sendo estes resultados superiores aos resultados encontrados por Silva (2008), que obteve valores máximos em torno de $2,41 \times 10^6 \mu\text{L}^{-1}$ em tilápias que receberam vacina polivalente por banho de imersão.

Fernandes Junior *et al.* (2010), trabalhando com tilápias que receberam suplementação nutricional com diferentes quantidades de colina (100,00; 200,00; 400,00; 600,00; 800,00; 1.000,00 e 1.200,00 mg de colina/kg de ração), obtiveram como valor máximo na contagem de eritrócitos cerca de $1,92 \times 10^6 \mu\text{L}^{-1}$. O aumento no número de eritrócitos pode ser uma resposta ao estresse ambiental de cultivo, desde que as exigências nutricionais da espécie sejam devidamente atendidas, como demonstrado por Belo *et al.*

(2014) em pacus (*Piaractus mesopotamicus*) cultivados em diferentes densidades (5kg/m³; 20 kg/m³) por 18 semanas, que receberam suplementação de vitamina E (12,6; 58,2 e 310,4 mg de vitamina E/kg de ração), que resultou no aumento do número de eritrócitos de 2,64 para 3,44 x10⁶ μL⁻¹.

É importante ressaltar a tendência do aumento do número de eritrócitos de acordo com o aumento na inclusão de *S.platensis* na ração (Figura 4).

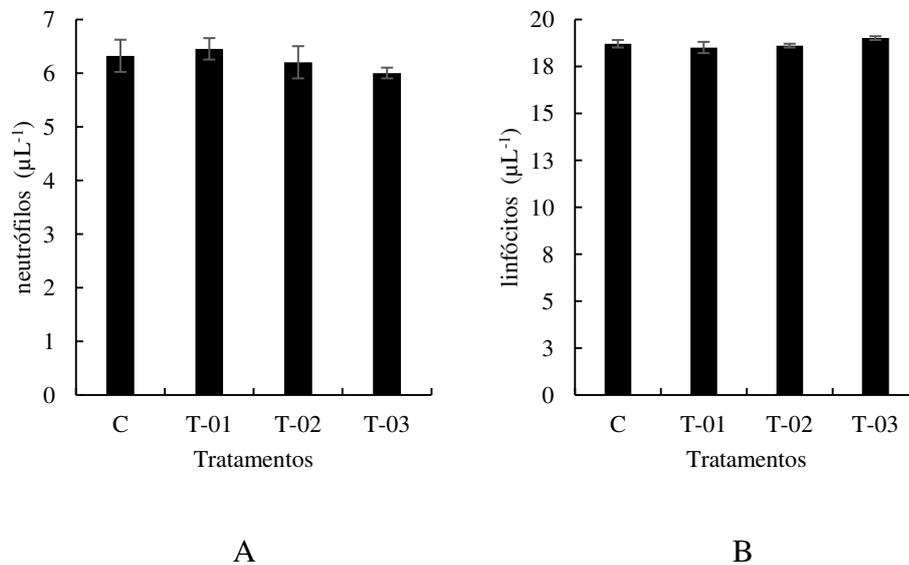
Figura 4 - Número de eritrócitos em juvenis de tilápias do Nilo alimentados com ração suplementada com diferentes concentrações da microalga *Spirulina platensis*.



Fonte: Dados do experimento.

A contagem de leucócitos (neutrófilos e linfócitos) não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos (FIGURA 5 A e B), o que já era esperado diante do fato de que os leucócitos são células relacionadas à defesa do organismo contra infecções e injúrias teciduais (TAVARES-DIAS; MORAES, 2004).

Figura 5 - Número de neutrófilos (A) e linfócitos (B) em juvenis de tilápias do Nilo alimentados com ração suplementada com diferentes concentrações da microalga *Spirulina platensis*.



Fonte: Dados do experimento.

Conforme Carra (2013), os linfócitos e neutrófilos são comumente observados na hematologia de tilápias, o que foi comprovado na observação microscópica das lâminas coradas com o esfregasso sanguíneo obtidas dos diferentes tratamentos, que apresentaram, em média, 18,7 linfócitos μL^{-1} e 6,24 neutrófilos μL^{-1} , sendo esses valores próximos aos valores de referência relatados pela autora (18,55 linfócitos μL^{-1} e 6,05 neutrófilos μL^{-1}).

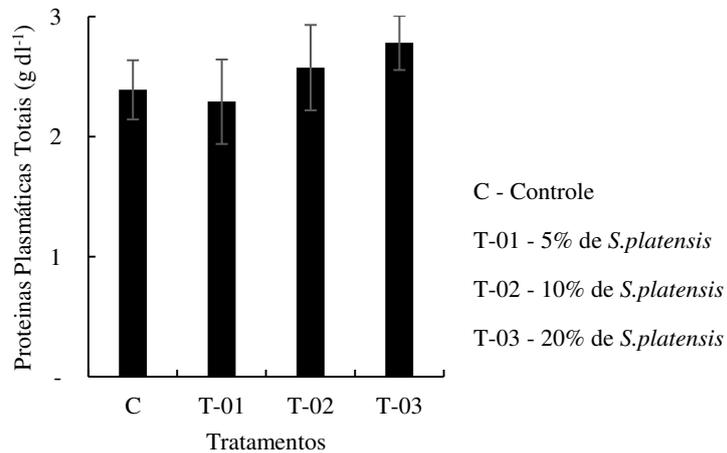
Silva (2010) demonstrou o aumento do número de monócitos e neutrófilos em surubins infectados por *Aeromonas hydrophila*, acompanhado pela redução na contagem de eritrócitos. Shah *et al* (2009) relataram aumento leucocitário e redução eritrocitária, indicando grave estado de anemia em *Cyprinus* sp. e *Schizothoprax* sp. relacionado a infestação parasitária.

Desta forma, todos os peixes apresentaram contagens compatíveis com um bom estado de saúde, denotando a ausência de qualquer infecção.

Não houve diferença significativa na concentração de proteínas plasmáticas totais entre os tratamentos (FIGURA 6), o que também ocorreu com *Lutjanus guttatus* alimentados com ração adicionada de farinha de soja como elemento substituto da farinha de peixe (SILVA-CARRILO *et al.*, 2012). As proteínas plasmáticas são imprescindíveis para a manutenção da homeostase em vertebrados, sendo responsáveis por funções vitais como o transporte de metabólitos, defesa humoral e coagulação, o que torna importante o

estabelecimento de valores basais para cada espécie como parâmetro referencial em estudos de sanidade (SATAKE; PADUA; ISHIKAWA, 2009).

Figura 6 - Proteínas plasmáticas totais no sangue de juvenis de tilápias do Nilo alimentados com ração adicionada de diferentes concentrações da microalga *Spirulina platensis*.



Fonte: Dados do experimento.

A concentração de proteínas plasmáticas totais no sangue pode aumentar em peixes alimentados com dietas enriquecidas. O enriquecimento na dieta da garoupa *Epinephelus bruneus* com cogumelos da espécie *Inonotus obliquus* (0%; 0,1%; 1,0%; 2,0%) resultou em um aumento de 1,3 a 2,6 g dL⁻¹ (HARIKRISHNAN; BALASUNDARAM; HEO, 2012).

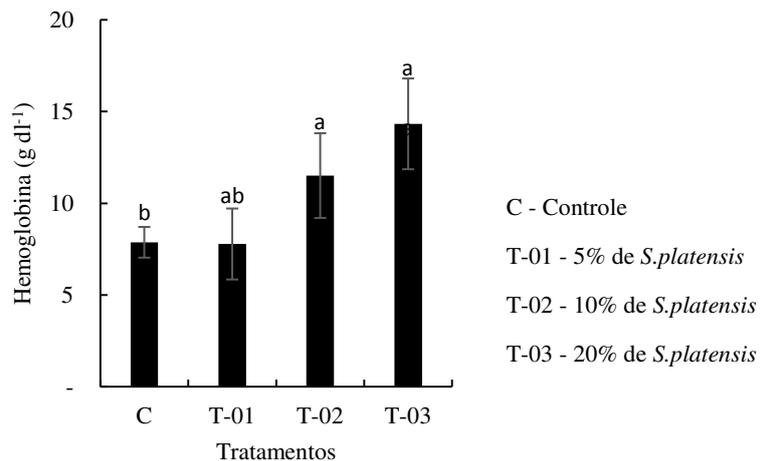
Os valores médios de PPT (2,509 g dl⁻¹) encontrados no presente trabalho foram superiores aos encontrados por Kumar *et al* (2011), que observaram um valor máximo de 1,79 g dL⁻¹ em juvenis de tilápia submetidos a diferentes concentrações de endossulfano (2,9; 3,3; 3,7; 4,1; 4,5; 5,0 µg/L), um pesticida organoclorado bastante utilizado na agricultura, que por sua vez, prejudica a produção de PPT.

Também na figura 6, pode-se observar que apesar de não haver diferença estatística entre os tratamentos, pode-se constatar uma tendência crescente em relação ao teor de PPT com o aumento da suplementação de *S. platensis* na ração.

As respostas mais comuns às situações de hipóxia incluem o aumento na ventilação branquial e aumento da afinidade sanguínea em relação ao oxigênio, o que se traduz no aumento da concentração de hemoglobina e no número de eritrócitos, que contribuem para o aumento da eficiência na oxigenação dos tecidos (TRAN-DUY *et al.*, 2008). Levando em consideração que no presente trabalho não houve situação de hipóxia em

nenhum dos tratamentos, o incremento na produção de hemoglobina pode ser atribuído a um melhor estado nutricional dos peixes que receberam a inclusão de *S. platensis* na ração (FIGURA 7).

Figura 7 - Concentração de hemoglobina em juvenis de tilápias do Nilo alimentados com ração adicionada de diferentes concentrações da microalga *Spirulina platensis*.



Fonte: Dados do experimento.

Rawling, Merrifield e Davies (2012) afirmaram que a concentração de hemoglobina é um dos parâmetros sanguíneos de maior confiabilidade na avaliação do estado nutricional em resposta à composição da dieta, estando também relacionado com as condições ambientais que podem afetar a sanidade de peixes cultivados.

A concentração de hemoglobina pode variar entre espécies diferentes, bem como dentro da mesma espécie, e essas variações podem ser atribuídas a diversos fatores exógenos, como temperatura, concentração de oxigênio dissolvido, ciclo sazonal e estresse; além de fatores endógenos, como sexo, estágio de maturação gonadal, doenças e estado nutricional (TAVARES-DIAS; MORAES, 2003).

No presente estudo, o único fator de variação foi o estado nutricional, já que todos os outros parâmetros foram mantidos em condições satisfatórias para o cultivo de tilápias. A concentração de hemoglobina foi o parâmetro hematológico que mais variou entre os tratamentos, com uma tendência crescente de acordo com a inclusão de *S. platensis* na ração. Os resultados encontrados foram considerados excelentes para tilápias do Nilo que, normalmente, apresentam valores entre 7,0 e 9,3 g dL⁻¹ (TAVARES-DIAS; MORAES, 2003).

Os maiores valores de hemoglobina foram observados nos tratamentos com inclusão de 10% e 20% de *S. platensis* na ração, demonstrando que nesses tratamentos os peixes possuíam uma melhor capacidade de transporte de gases no interior do corpo, o que é um indicativo de uma boa condição de saúde dos animais cultivados.

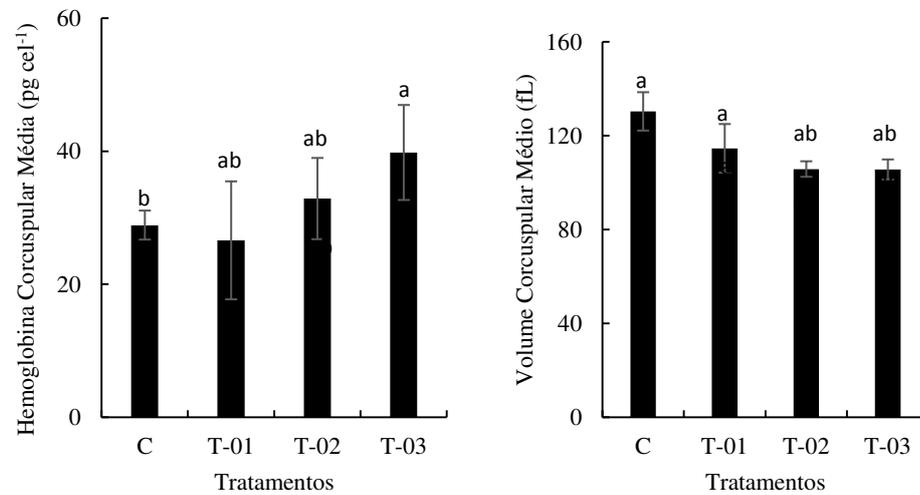
A Cyanophyta *S. platensis* é a mais rica fonte de ferro e proteína, contendo oito dos dez aminoácidos essenciais, o que faz dessa microalga uma alternativa contra a anemia e a má nutrição (ALENCAR *et al*, 2011). O ferro participa da síntese da hemoglobina, mioglobina e é um co-fator importante em várias reações enzimáticas, influenciando significativamente no transporte de oxigênio sanguíneo (BRANDÃO; CABRAL; CABRAL, 2011).

A *Spirulina* sp. apresenta elevado conteúdo proteico e é considerada uma das fontes mais ricas de provitamina A (beta-caroteno) e de ferro absorvível, além de apresentar altos níveis de vitaminas e outros minerais, compostos fenólicos, ficocianina, ácido gama-linolênico e outros ácidos graxos essenciais (AMBROSI *et al.*, 2008).

O HCM e o CHCM têm relação direta com a concentração de hemoglobina no sangue e se mostram superiores nos tratamentos com 10% e 20% de *S. platensis*, o que indica um melhor estado de saúde dos animais que receberam essa suplementação (FIGURA 8 A e C). Resultados semelhantes foram encontrados por Araujo *et al* (2011), em tilápias que receberam suplementação de óleo de girassol e linhaça na ração, onde o CHCM (%) variou entre 34,28 e 38,04. O aumento desses índices hematimétricos ajuda a confirmar a melhor condição hematológica dos peixes alimentados com suplementação de 10% e 20% de *S. platensis*, o que corresponde a uma melhor distribuição de oxigênio nos tecidos, e uma melhor resposta do sistema imune. Novamente ocorreu uma tendência crescente em relação aos parâmetros HCM e CHCM com o aumento da inclusão de *S. platensis* nos tratamentos.

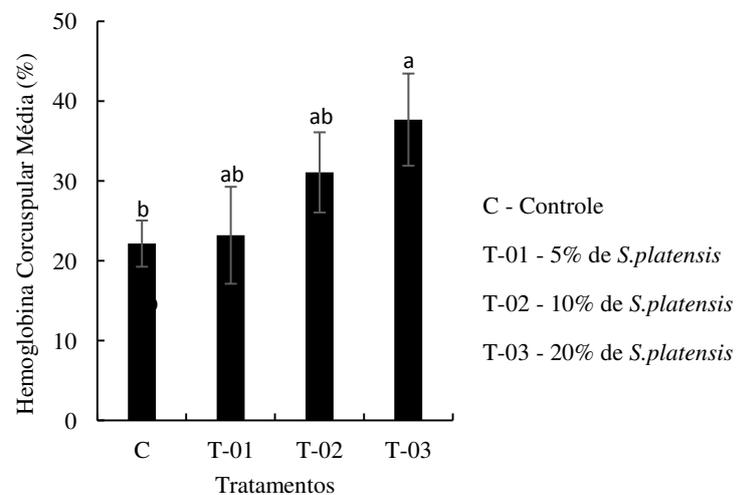
Os valores médios dos índices hematimétricos (VCM, HCM e CHCM) variam de acordo com a concentração de hemoglobina, hematócrito e número de eritrócitos, sendo essas variações derivadas de situações de estresse fisiológico proveniente de más condições ambientais e nutricionais. O tratamento controle resultou num maior VCM, mas em todos os tratamentos os valores de VCM foram superiores a 100 fL (FIGURA 8 B), o que caracteriza o bom estado de saúde dos animais (FERNANDES JUNIOR *et al*, 2010; ARAUJO *et al*, 2011), já que valores abaixo de 100 fL podem caracterizar um estado de microcitose, que é a diminuição do volume corpuscular decorrente dos efeitos deletérios do estresse geralmente relacionada com o aumento do cortisol no sangue (BELO *et al*, 2014).

Figura 8 - Índices hematimétricos em juvenis de tilápias do Nilo alimentados com ração adicionada de diferentes concentrações da microalga *Spirulina platensis*. A: HCM; B: VCM e C: CHCM



A

B



C

Fonte: Dados do experimento.

4.4 Composição bioquímica do filé

As dietas fornecidas aos peixes exercem efeitos diretos na composição muscular, no que se refere ao teor de minerais, lipídios e proteínas (COSTA *et al.*, 2012). As proteínas são geralmente os componentes mais caros em dietas para aquicultura, tanto que os

fabricantes tentam fazer uma inclusão mínima para atender as exigências relativas aos aminoácidos essenciais. A farinha de peixe é o ingrediente proteico mais desejável por conta do seu alto valor nutricional e palatabilidade, porém é o macroingrediente mais caro em rações comerciais (TROSVIK *et al*, 2012). Esse fato tem levado pesquisadores a testarem diferentes ingredientes como fontes proteicas de menor custo, mas mantendo a eficiência nutricional. Entre as alternativas, as farinhas de microalgas aparecem com destaque, principalmente a *S. platensis*.

A Tabela 3 mostra a composição bioquímica das rações ofertadas nos quatro tratamentos, com a PB e o teor de cinzas apresentando diferença significativa entre os tratamentos, o que pode ser atribuído à inclusão de *S. platensis*, já que a mesma pode apresentar mais de 60% de PB em seu peso seco (JAIME-CEBALLOS *et al*, 2007; HABIB *et al*, 2008). A farinha de *S. platensis* utilizada no presente trabalho apresentou 54,25% de PB, 5,54% de umidade, 12,75% de cinzas e 3,20% de lipídios. O alto teor de cinzas se deve a presença de sal no meio de cultivo da *S. platensis*, que acaba absorvendo a salinidade em sua biomassa seca.

Tabela 3 - Composição química das rações ofertadas aos juvenis de tilápias do Nilo com diferentes taxas de inclusão de *Spirulina platensis*.

Parâmetro	Tratamentos			
	Controle	T-01	T-02	T-03
Umidade	7,10 ± 0,17	7,00 ± 0,21	7,12 ± 0,17	6,38 ± 0,22
Cinzas	10,01 ± 0,35 ^b	10,32 ± 0,80 ^b	9,96 ± 0,1 ^b	10,38 ± 0,14 ^a
Proteína Bruta	32,03 ± 0,14 ^c	33,66 ± 0,45 ^b	34,06 ± 0,78 ^{ab}	36,01 ± 0,44 ^a
Lipídios	6,62 ± 0,78	6,97 ± 0,66	7,33 ± 0,26	7,82 ± 0,35

*Os valores representam as médias ± desvio padrão. Letras diferentes representam diferença estatística ($p \leq 0,05$).

Os teores de lipídios, umidade, cinzas e proteína bruta encontrados nos filés de tilápia dos quatro tratamentos apresentaram valores próximos aos já estabelecidos anteriormente por Simões (2007), sendo em média 77,13% de umidade, 1,09% de cinzas, 18,36% de PB, e 4,60% de lipídios. Como pode ser observado na Tabela 4. Os tratamentos T-01 e T-03 apresentaram os melhores resultados nos teores de cinzas, o que indica uma composição de minerais quantitativamente maior nesses tratamentos.

Assim como ocorreu com as rações, fica evidente a diferença nos teores de PB, o que apresenta forte relação com os teores proteicos das rações ofertadas, com diferentes taxas de inclusão da microalga *S. platensis*. O acréscimo no teor de PB nas rações traduziu-se em

acréscimo de PB nos filés, o que confirma a influência direta da dieta na composição química muscular do pescado no fim do cultivo (TABELA 4). De fato, a composição química do pescado sofre uma influência muito significativa dos componentes envolvidos na dieta, embora outros fatores também estejam envolvidos, como a idade, tamanho, estação do ano e desenvolvimento sexual (GONÇALVES, 2011). Os teores de lipídios não apresentaram diferença significativa, mas há uma tendência crescente de conteúdo lipídico que acompanha o aumento da porcentagem de inclusão de *S. platensis* na ração.

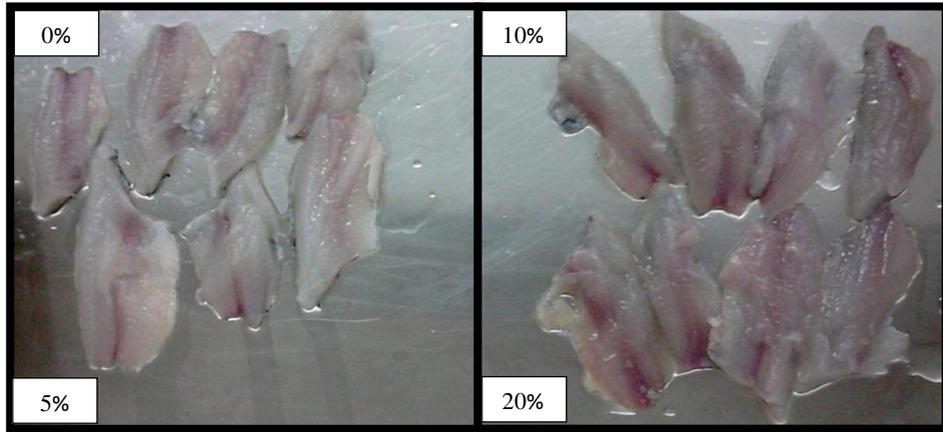
Tabela 4 - Composição química do filé de juvenis de tilápias do Nilo alimentados com rações adicionadas de diferentes concentrações de *Spirulina platensis*.

Parâmetro	Tratamentos			
	Controle	T-01	T-02	T-03
Umidade	79,53 ± 1,44 ^a	81,51 ± 3,06 ^{ab}	80,21 ± 0,41 ^a	76,25 ± 0,89 ^b
Cinzas	1,01 ± 0,08 ^b	1,07 ± 0,10 ^{ab}	1,03 ± 0,05 ^b	1,23 ± 0,02 ^a
Proteína Bruta	14,63 ± 0,33 ^c	16,75 ± 0,33 ^b	16,09 ± 0,85 ^{ab}	18,00 ± 0,49 ^a
Lipídios	5,26 ± 0,30 ^a	5,28 ± 0,17 ^a	5,34 ± 0,79 ^a	6,27 ± 0,42 ^a

*Os valores representam as médias ± desvio padrão. Letras diferentes representam diferença estatística ($p \leq 0,05$).

Em relação à presença de ácidos graxos polinsaturados na *S. platensis* pode-se destacar a presença do ácido gama-linolênico representando 20-25% dos lipídios totais (AMBROSI *et al*, 2008), e quanto aos carotenoides destaca-se o beta-caroteno com 52-69% dos pigmentos totais (MAZA *et al*, 2011), o que faz dessa microalga um componente nutricional com efeito pronunciado na coloração dos filés. A Figura 9 mostra a coloração dos filés nos diferentes tratamentos, mostrando um aumento gradativo da coloração avermelhada nos filés de acordo com o aumento da porcentagem de inclusão de *S. platensis* na ração.

Figura 9 - Coloração dos filés de tilápias do Nilo alimentados com ração adicionada de diferentes concentrações da microalga *Spirulina platensis*.



Fonte: Dados do experimento.

A composição da dieta pode influenciar consideravelmente a qualidade dos filés, inclusive no quesito coloração, que é uma questão importante a ser considerada, já que a preferência do consumidor parece estar mais voltada a uma coloração branca ou avermelhada, como no caso do salmão. A predominância da cor branca pode estar relacionada com um maior teor lipídico, enquanto uma coloração avermelhada pode estar relacionada à presença de carotenoides na dieta, como acontece em trutas e salmões (TYSKA *et al*, 2013).

CONCLUSÃO

Dentre os parâmetros de qualidade de água, todos se mantiveram dentro dos limites aceitáveis para a espécie cultivada, com exceção do fósforo reativo. Desta forma a adição de *S. platensis* na ração não afetou a qualidade de água.

Em relação aos parâmetros zootécnicos, o tratamento com inclusão de 20% de *S. platensis* na ração apresentou a maior taxa de sobrevivência, peso médio final e ganho de biomassa.

No que se refere aos parâmetros hematológicos, os melhores resultados foram obtidos no tratamento com inclusão de 20% de *S. platensis* na ração, com destaque para o valor do hematócrito, contagem de eritrócitos e concentração de hemoglobina, que apresentaram valores maiores do que os demais tratamentos.

Finalmente, quanto à composição química do filé, a proteína bruta apresentou maiores concentrações nos tratamentos com inclusão de 10 e 20% de *S. platensis* na ração, enquanto os lipídios apresentaram tendência crescente de acordo com as porcentagens de inclusão de *S. platensis* nas rações administradas.

Dessa forma, pode-se concluir que o tratamento com inclusão de 20% de *S. platensis* foi o que apresentou os melhores resultados dentre as análises realizadas, tanto em relação aos parâmetros zootécnicos, como hematológicos e bromatológicos. Esses resultados ocorreram, possivelmente, por conta das propriedades nutricionais e imunoestimulantes da *S. platensis*.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-TAWWAB, M., AHMAD, M.H. Effect of dietary protein regime during the growing period on growth performance, feed utilization and whole-body chemical composition of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture Research**, v.40, n.13, p.1532-1537, 2009.
- ABDEL-TAWWAB, M. Effects of dietary protein levels and rearing density on growth performance and stress response of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **International Aquaculture Research**, v.4, n.3, p.1-13, 2012.
- ALENCAR, D. B; PIRES-CAVALCANTE, K. M. S; SABOYA, J. P. S; SOUSA, M. B; FARIAS, W. R. L; SAKER-SAMPAIO, S. Teores de beta-caroteno em suplementos e biomassa de *Spirulina*. **Ciências Agrotécnicas**, v.35, n.2, p. 386-391, 2011.
- ALVES, C. C; WAITZBERG, D. Nutrição oral, Enteral e Parenteral na Prática Clínica. 4ª edição, p. 85-108, 2009.
- AMBROSI, M.A; REINEHR, C.O; BERTOLIN, T.E; COSTA, J. A. V; COLLA, L. M. Propriedades de saúde de *Spirulina spp*. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n.2, p.109-117, 2008.
- APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater. 21 ed. American Public Health Association**, Washington D.C. 2005.
- ARAÚJO, D. M; PEZZATO, A. C; BARROS, M. M; PEZZATO, L. E; NAKAGOME, F. K. Hematologia de tilápias do Nilo alimentadas com dietas com óleos vegetais e estimuladas pelo frio. **Pesquisa Agropecuária**, v. 46, n. 3, p. 294-302, 2011.
- ASADUZZAMAN, M.; WAHAB, M.A.; VERDEGEM, M.C.J.; BENERJEE, S.; AKTER, T.; HASAN, M.M.; AZIM, M.M. Effects of addition of tilapia *Oreochromis niloticus* and substrates for periphyton developments on pond ecology and production in C/N controlled freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* farming systems. **Aquaculture**. v. 287, n.3-4, p.371–380, 2009.
- 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**. v.12, n.4, p.559-568, 2012.
- BRANDÃO, A. H. F; CABRAL, M. A; CABRAL, A. C. V. A suplementação de ferro na gravidez: orientações atuais. **Femina**, v. 39, n. 5, p.285-289, 2011.
- BANG, H. O; DYERBERG, J. Plasma lipids and lipoproteins in Greenlandic West-coast Eskimos. **Acta medica Scandinavica**, v.192, n.1-2, p.85-94, 1972.
- BANG H. O; DYERBERG, J; HJORNE, N. The composition of food consumed by Greenland Eskimos. **Acta medica Scandinavica**, v.200, n.1-2, p.69-73, 1976.
- BELO, M. A. A; MORAES, F. R; YOSHIDA, L; PRADO, E. J. R; MORAES, J. R. E; SOARES, V. E; SILVA, M. G. Deleterious effects of low level of vitamin E and high

stocking density on the hematology response of pacus, during chronic inflammatory reaction. **Aquaculture**, v.422-423, n.1, p. 124-128, São Paulo, 2014.

BITARELLO, A. C; FRIES, E. M; FINKLER, J. K; SIVIDANES, V. P; FEIDEN, A; BOSCOLO, W. R; SIGNOR, A. Farinha de mandioca para alevinos de tilápia (*Oreochromis niloticus*). **Revista Agrarian**, v.6, n.21, p.326-332, 2013.

BOYD, C.E. **Water quality in warmwater fish ponds**. Auburn: Auburn University, AL, EUA. 359p. 1979.

BOYD, C.E., TUCKER, C.S. **Pond Aquaculture Water Quality Management**. Kluwer Academic Publisher, Boston, 1998.

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

BRASIL. **Lei nº 11.959, de 29 de junho de 2009**. Diário Oficial da União República Federativa do Brasil, Poder Legislativo, Brasília, DF, 30 jun. Seção 1, p. 1. 2009.

CARRA, M. L. Efeito da administração de sulfonamidas na hematologia de tilápias do nilo (*Oreochromis niloticus*). **Anais do Conic-Semesp**. V.1, 2013.

CARVALHO, J.C.M., FRANCISCO, F.R.; ALMEIDA, K.A.; SATO, S.; CONVERTI, A. Cultivation of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* (Cyanophyceae) by fed-batch addition of ammonium chloride at exponentially-increasing feeding rates. **Journal of Phycology**. **Journal of Phycology**, v.40, p.589-597, 2004.

COÊLHO, A. A. C; BEZERRA, J. H. C; SILVA, J. W. A; MOREIRA, R. T; ALBUQUERQUE, L. F. G; FARIAS, W. R. L. Desempenho zootécnico de alevinos de tilápia do Nilo em um sistema de recirculação de água com a microalga *Spirulina platensis*. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 15, n. 1, p. 149-159, 2014.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE – CONAMA. **Resolução nº 357 de 17 de março de 2005**. Classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para seu enquadramento. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, 2005.

COSTA, C. N; SILVA, J. R; MELO, F. V. T; HISANO, H; DRUZIAN, J. I; PORTZ, L. Incorporação de ômega-3 no tecido muscular da tilápia do Nilo alimentada com dietas contendo silagem de cabeça de camarão. **Ciência Rural**, v. 42, n. 1, p. 172-177, 2012.

COSTA, W. M; LAVANDER, H. D; OLIVEIRA, L; SOUZA, A. B; GÁLVEZ, A. O; ARANA, L. A. V. Remoção de compostos nitrogenados e fosfatados de efluentes por meio de reator anaeróbico com fluxo ascendente. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 8, p. 1167-1170, 2013.

CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSSO, D.M.; CASTAGNOLLI, N. **Tópicos Especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**, Tecart, São Paulo, 533p. 2004.

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, 1º Edição, 2009.

DERNEKBASI, S; UNAL, H; KARAYUCEL, I; ARAL, O. Effect of dietary supplementation of different rates of spirulina (*Spirulina platensis*) on growth and feed conversion in guppy (*Poecilia reticulata*). **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v.9, n.9, p1395-1399, 2010.

DIRAMAN, H; KORU, E; DIBEKLIOGLU, H. Fatty acid profile of *Spirulina platensis* used as a food supplement. **The Israeli Journal of Aquaculture**, v.61, n.2, p.134-142, 2009.

FABREGAT, T.E.P.; PEREIRA, T.S.; BOSCOLO, C.N.; ALVARADO, J.D.; FERNANDES, J.B.K. Substituição da farinha de peixe pelo farelo de soja em dietas para juvenis de curimba. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 37, n.3, p.289–294, 2011.

FABRICIO, L. F. F. **Desempenho e qualidade da carcaça e do filé de tilápias (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dietas contendo ractopamina.** 2013.Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2013.

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.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture. FAO Fisheries and Aquaculture Department.** Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 2014.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture. FAO Fisheries and Aquaculture Department.** Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 2012.

FAO. **A review on culture, production and use of *Spirulina* as food for humans and feeds for domestic animals and fish.** FAO Fisheries and Aquaculture circular. n.1034, 33p. 2008.

FARREL, A. P. Blood – **Cellular Composition of the Blood.** Encyclopedia of Fish Physiology, p. 984 – 991, 2011.

FERNANDES JUNIOR, A. C; PEZZATO. L. E; GUIMARÃES, I. G; TEIXEIRA, P. C; KOCH, J. F. A; BARROS, M. M. Resposta hemática de tilápias do Nilo alimentadas com dietas suplementadas com colina e submetidas a estímulo por baixa temperatura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 8, p. 1619-1625, 2010.

GALVANI, F.; GAERTNER, E. **Adequação da metodologia Kjeldahl para determinação de nitrogênio total e proteína bruta.** Embrapa, Circular técnica 63, 9p. 2006.

GJEDREM T.; ROBINSON N.; RYE M. The importance of selective breeding in aquaculture to meet future demands for animal protein: A review. **Aquaculture**, v. 350-353, n. 1, p. 117-119, 2012.

GLENCROSS B. D; BOOTH M; ALLAN G. L. A feed is only as good as its ingredients. A review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds. **Aquaculture Nutrition**, v.13, n.1, p.17-34, 2007.

GONÇALVES, A. A. **Tecnologia do Pescado**. Editora Atheneu, São Paulo, 1ª Edição, 2011.

GONÇALVES, G. S; PEZZATO, L. E; BARROS, M. M; TACHIBANA, L; ROSA, M. J. S; GUIMARÃES, I. G. Relação lisina digestível: proteína digestível em rações para tilápias do Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 12, p. 2299-2305, 2009.

GRAEFF, A; SERAFIN, R. L. Uso de diferentes fontes e níveis de lipídios na alimentação de jundiás (*Rhamdia quelen*) na fase de recria. **Revista Eletrônica de Veterinária**, v. 11, n.11, p. 1-13, 2010.

GUERREIRO, I; PERES, H; CASTRO-CUNHA, M; OLIVA-TELES, A. Effect of temperature and dietary protein/lipid ratio on growth performance and nutrient utilization of juvenile Senegalese sole (*Solea senegalensis*). **Aquaculture Nutrition**, v.18, n.1, p. 98-106, 2012.

GUIMARÃES, I. G; LIM, C; YLDIRIM-AKSOY, M; KLESIUS, P. H. Effects of dietary levels of vitamin A on growth, hematology, immune response and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to *Streptococcus iniae*. **Animal Feed Science and Technology**, v. 188, n. 1, p. 126-136, Goiás, 2014.

HABIB, M. A. B; PARVIN, M; HUNTINGTON, T. C; HASAN, M. R. **A review on culture, production and use of spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish**. FAO fisheries and aquaculture circular n° 1034, Rome, 2008.

HARIKRISHNAN, R; BALASUNDARAM, C; HEO, M. Effect of *Inonotus obliquus* enriched diet on hematology, immune response, and disease protection in kelp grouper, *Epinephelus bruneus* against *Vibrio harveyi*. **Aquaculture**, v.344-349, n.1, p.48-53, 2012.

HINE, P.M. The granulocytes of fish. **Fish Shellfish Immunology**, v.2, n.2, p.79-88, 1992.

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

ISHIKAWA, M. M; PÁDUA, S. B; SATAKE, F; PIETRO, P. S; HISANO, H. **Procedimentos básicos para colheita de sangue em peixes**. Circular Técnica, EMBRAPA, 2010.

JAIME-CEBALLOS, B; CIVIERA-CERECEDO, R; VILLAREAL, H; GALINDO-LÓPEZ, J; PÉREZ-JAR, L. Uso de la harina de *Spirulina platensis* como atrayente em el alimento para el camarón *Litopenaeus schimitti*. **Hidrobiológica**, v.17, n.2, p. 113-117, 2007.

KALIKOSKI C. D; SEIXAS C. S.; ALMUDI T. Gestão compartilhada e comunitária da pesca no Brasil: avanços e desafios. **Ambiente & Sociedade**, v. 12, n. 1, p. 151-172, 2009.

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

KUMAR, N; PRABHU, P. A. J; PAL, A. K; REMYA, S; AKLAKUR, M; RAMA, R. S; GUPTA, S; RAMAN, R. P; JADHAO, S. B. Anti-oxidative and immuno-hematological status of Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) during acute toxicity test of endosulfan. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 99, n.1, p. 45-52, 2011.

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, Rio Grande do Sul, 3º Edição, 2007.**

MACIAS-SANCHO, J; POERSCH, L. H; BAUER, W; ROMANO, L. A; WASIELESKY, W; TESSER, M. B. Fishmeal substitution with *Arthrospira (Spirulina platensis)* in a practical diet for *Litopenaeus vannamei*: Effects on growth and immunological parameters. **Aquaculture**, v.426-427, n.1, p.120-125, 2014.

MARQUES, N.R.; HAYASHI, C.; SOUZA, S.R.; SOARES, T. Efeito de diferentes níveis de arraçoamento para alevinos de carpa-capim (*Ctenopharyngodon idella*) em condições experimentais. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.30, n.1, p.51 - 56, 2004.

MARTINS, C. I. M; OCHOLA, D; ENDE, S. S. W; EDING, E. H; VERRETH, A. J. Is growth retardation present in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in low water exchange recirculating aquaculture systems?. **Aquaculture**, v.298, p1-2, p.43-50, 2011.

MAZZA, L. R; GUEVARA, M; VEGA, B. A; GOMEZ, B; LICETT, B; FREITES, L. Contenido de lípidos, ácidos grasos, exopolisacáridos y minerales de *Arthrospira maxima* cultivada en fotobiorreactores. **Agronomía Tropical**, v. 61, n. 3-4, 2011.

MOREIRA, R. L; COSTA, J. M; QUIEROZ, R. V; MOURA, P. S; FARIAS, W. R. L. Utilização de *Spirulina platensis* como suplemento alimentar durante a reversão sexual de tilápia do Nilo. **Revista Caatinga**, v. 23, n. 2, p. 134-141, 2011.

NEVES, F.F.; JEREMIAS, M.L.; SARDÁ, A.; RORIG, R.; DENER, R.B.; LISBOA, H.M. Efeito do uso de efluente doméstico tratado, como meio de cultura, sobre o crescimento e produtividade no cultivo de *Chlamydomonas* sp. isolada de lixiviado de aterro sanitário. **Tecno-lógica**, v.17, n.1, p.30-37, 2013.

PEREIRA JUNIOR, G; BARBOSA, P. S; SHIMODA, E; PEREIRA FILHO, M. Composição corporal de tambaqui alimentado com rações contendo farinha de folha de leucena. **Archivos de Zootecnia**, v. 62, n. 238, p. 211-216, 2013.

PONTES, A. S. G. C. **Influência das propriedades fluidodinâmicas na matriz do biodiesel metílico e suas misturas dieisels: Biodiesel de óleo de peixe.** 2011. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011.

PRADHAN, J; DAS, B. K; SAHU, S; MARHUAL, N. P; SWAIN, A. K; MISHRA, B. K; EKNATH, A. E. Traditional antibacterial activity of freshwater microalga *Spirulina platensis* to aquatic pathogens. **Aquaculture Research**, v. 43, n.9, p. 1287-1295, 2012.

- PROMYA, J; CHITMANAT, C. The effects of *Spirulina platensis* and *Cladophora* algae on the growth performance, meat quality and immunity stimulating capacity of the african sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*). **International Journal of Agriculture & Biology**, v.13, n.1, p77-82, 2011.
- PULZ, O.; GROSS, W. Valuable products from biotechnology of microalgae. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 65, p.635-648, 2004.
- RANZANI-PAIVA, M. T. J. e SILVA-SOUZA, A. T. **Hematologia de Peixes Brasileiros. Sanidade de Organismos Aquáticos**, Editora Varela, 2004.
- RAWLING, M. D; MERRIFIELD, D. L; DAVIES, S. J. Preliminary assessment of dietary supplementation of Sangrovit® on red tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and health. **Aquaculture**, v.294, n.1-2, p.118-122, , 2009.
- ROSSATO, S; LAZZARI, R; FREITAS, I. L; MASCHIO, D; CORRÊA, V; NETO, J. R. Diferentes níveis de incorporação de farinha de resíduos de jundiás (*Rhamdia quelen*) cultivados na dieta. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 3, p. 894-902, 2014.
- SÁ, M.V.C. **Limnocultura: Limnologia para aquicultura**. Edições UFC, 218p. 2012.
- SANCHEZ, I. A; MATSUMOTO, T. Ammonia removal in a water recirculating system for tilapia using an aerobic three-phase fluidized-bed reactor. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 24, n. 3, p. 263-271, 2011.
- SANTOS, A. B; GINAR, R. M. B; GALARÇA, R. C. G; NETO, J. B. Composição bromatológica do filé da palometa (*Serraslamus spilopleura*) na região de Uruguaiana –RS/ Brasil. **Revista da FZVA**, v.13, n. 2, p. 166-170, 2006.
- SANTOS, E.S.; FURTADO-NETO, M.; MOTA. S.; SANTOS, A.B.; AQUINO, M.D. Cultivo de tilápia do Nilo em esgoto doméstico tratado, com diferentes taxas de alimentação. **Revista DAE**, v.180, p.4-11, 2009.
- 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**, v.36, n4., p.283-292, 2011.
- SARTORI, A. G. O; AMANCIO, R. D. Pescado: importância nutricional e consumo no Brasil. **Segurança alimentar e Nutricional**, v.19, n.2, p.83-93, 2012.
- 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**. EMBRAPA, p.330-345, 2009.
- SHAH, A.W.; PARVEEN, M.; MIR, S.H.; SARWAR, S.G.; YOUSUF, A.R. Impact of helminth parasitism on fish haematology of Anchar Lake, **Journal of Nutrition**, v.8, n.1, p.42-45, 2009.

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

SILVA, B. C. **Resposta hematológica e imunológica de tilápia do Nilo após aplicação de vacina polivalente por banho de imersão, injeção intraperitoneal e administração oral**. 2008. Monografia (Graduação em Engenharia de Aquicultura) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

SILVA, B. C. **Septicemia hemorrágica em surubim híbrido causada por *Aeromonas hydrophila***. 2010. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 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**, v.364-365, n.1, p.180-185, 2012.

SILVA, L.B.; BARCELLOS; L.J.G.; QUEVEDO, R.M.; SOUZA, S.M.G.; KREUTZ, L.C.; RITTER, F.; FINCO, J.A.; BEDIN, A.C. Alternative species for traditional carp polyculture in southern South America: Initial growing period. **Aquaculture**, v.255, n.1-4, p.417-428, 2006.

SILVA-NETO, J; NUNES, A. J. P; SABRY-NETO, H; SAL, M. V. C. *Spirulina* meal has acted as a strong feeding attractant for *Litopenaeus vannamei* at a very low dietary inclusion level. **Aquaculture Research**, v. 43, n.3, p. 430-437, 2012.

SIMÕES, M. R; RIBEIRO, C. F. A; RIBEIRO S. C. A; PARK, K. J; MURR, F. E. X. Composição físico-química, microbiológica e rendimento de filé da tilápia tailandesa (*Oreochromis niloticus*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, p.608-613, 2007.

SOUZA, S.M.G.; OLIVEIRA, D.; SANTOS, C.V.; GOMES, M.E.C.; ESTEVES, C.D. Desempenho e conversão alimentar de juvenis de carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*) alimentadas com *Azolla filiculoides* e ração com baixo teor lipídico. **Ciências Agrárias**. v.29, n.2, p.459-464, 2008.

SPOLAORE, P; JOANNIS-CASSAN, C; DURAN, E; ISMABERT, A. Commercial applications of microalgae, Review. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v.101, n.2, p.87-96, 2006.

TAVARES-DIAS, M; MORAES, F. R. Características hematológicas da *Tilapia rendalii* capturada em pesque-pague de Franca - São Paulo. **Bioscience Journal**, v. 19, n. 1, p. 107-114, Uberlândia, Brasil, 2003.

TAVARES-DIAS, M; MORAES, F. R. Características hematológicas *Tilapia rendalii* capturadas em “Pesque-Pague” de Franca, São Paulo, Brasil. **Bioscience Journal**, 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.

TEIMOURI, M; AMIRKOLAIE, A.K; YEGANEH, S. The effects of *Spirulina platensis* meal as a feed supplement on growth performance and pigmentation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.396-399, n.1, p.14-19, 2013.

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

TONGSIRI, S; MANG-AMPHAN, K; PEERAPORNPISAL, Y. Effect of replacing fishmeal with *Spirulina* on growth, carcass composition and pigment of the Mekong giant catfish. **Asian Journal of Agricultural Sciences**, v.6, n.6, p.66-71, 2010.

TRAN-DUY, A; SCHRAMA, J. W; DAM, A. A. V; VERRETH, J. A. J. Effects of oxygen concentration and body weight on maximum feed intake, growth and hematological parameters of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v.275, n.1-4, p. 152-162, 2008.

TROSVIK, K. A; RAWLES, S. D; THOMPSON, K; METTS, L. A; GANNAM, A. TWIBELL, R; WEBSTER, C. D. Growth and Body Composition of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, Fry Fed Organic Diets Containing Yeast Extract and Soybean Meal as Replacements for Fish Meal, with and without Supplemental Lysine and Methionine. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 43, n.5, p. 636-647, 2012.

TUSCHE, K; WUERTZ, S; SUSENBETH, A; SCHULZ, C. Feeding fish according to organic aquaculture guidelines EC 710/2009: Influence of potato protein concentrates containing various glycoalkaloid levels on health status and growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.319, n.1-2, p.122-131, 2011.

TYSKA, T; MALLMANN, C. A; CORRÊIA, V; TAMIOSSO; MALLMANN, A. O; NETO, J. R. Concentrados proteicos vegetais na alimentação de Jundiás (*Rhamdia quelen*). **Ciência Rural**, v. 43, n. 7, 2013.