



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

**UTILIZAÇÃO DA MICROALGA *Desmodesmus armatus* COMO INGREDIENTE
FUNCIONAL EM DIETAS PARA TILÁPIA DO NILO *Oreochromis niloticus***

Douglas Lemos de Souza

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

**Prof. Dr. Ranilson de Souza
Bezerra**
Orientador

**Profa. Dra. Juliana Ferreira
dos Santos**
Co-orientadora

**Profa. Dra. Danielli Matias de
Macedo Dantas**
Co-orientadora

**Recife,
07/2025**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação Sistema Integrado de
Bibliotecas da UFRPE

Bibliotecário(a): Auxiliadora Cunha – CRB-4 1134

S719u Souza, Douglas Lemos de.

Utilização da microalga *Desmodesmus armatus* como ingrediente funcional
em dietas para tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* / Douglas Lemos de Souza.
– Recife, 2025.

54 f.; il.

Orientador(a): Ranilson de Souza Bezerra.

Co-orientador(a): Juliana Ferreira dos Santos.

Co-orientador(a): Danielli Matias de Macedo Dantas.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura, Recife,
BR PE, 2025.

Inclui referências.

1. Análise enzimática. 2. Biomassa microalgal. 3. Metabolismo de nutrientes.
I. Bezerra, Ranilson de Souza, orient. II. Santos, Juliana Ferreira dos, coorient.
III. Dantas, Danielli Matias de Macedo, coorient. IV. Título

CDD 639.3

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

**UTILIZAÇÃO DA MICROALGA *Desmodesmus armatus* COMO INGREDIENTE
FUNCIONAL EM DIETAS PARA TILÁPIA DO NILO *Oreochromis niloticus***

Douglas Lemos de Souza

Dissertação julgada adequada para
obtenção do título de mestre em Recursos
Pesqueiros e Aquicultura. Defendida e
aprovada em 25/07/2025 pela seguinte
Banca Examinadora.

Prof. Dr. Ranilson de Souza Bezerra
Orientador
Departamento de Bioquímica - UFPE

Prof. Dr. Ronaldo Olivera Cavalli
Membro externo titular
Instituto de Oceanografia – FURG

Profa. Dra. Roberta Borda Soares
Membro interno titular
Departamento de Pesca e Aquicultura – UFRPE

Dedicatória

Dedicamos este trabalho a Deus, à minha esposa e a todos que fizeram parte dessa conquista.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, pela dádiva da vida, pela força nos momentos difíceis e pela oportunidade de ter chegado até aqui com saúde, coragem e esperança.

À minha esposa Karolayne Ribeiro da Silva Oliveira, minha companheira incansável, que foi apoio, consolo e incentivo em todos os momentos desta caminhada. Sua presença, compreensão e amor foram fundamentais para que esta dissertação se tornasse realidade.

Aos meus orientadores, pela confiança, orientação e contribuições valiosas durante todo o desenvolvimento do trabalho. De modo especial, à minha coorientadora, que foi mais que uma mentora: foi uma verdadeira mãe acadêmica, acolhendo, ensinando e guiando com paciência, dedicação e carinho em cada etapa.

Aos meus colegas de trabalho Guilherme Melgaço Heluy, Marcele Trajano de Araújo, Maria Angélica da Silva e Vivian Costa Vasconcelos que tornaram a rotina mais leve, divertida e suportável mesmo nos momentos mais intensos da jornada. A convivência com vocês foi um alívio e uma motivação constante.

E, por fim, a todos os colaboradores, laboratorios parceiros e instituições que, direta ou indiretamente, contribuíram para que este trabalho fosse possível — seja na execução prática, nos conselhos, nos dados, ou na troca de experiências — deixo aqui minha profunda gratidão.

Resumo

Este estudo avaliou o efeito da inclusão da microalga *Desmodesmus armatus* como ingrediente funcional em dietas para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), cultivadas em sistema de recirculação. Um total de 200 peixes ($6,1 \pm 1,36$ g) foi distribuído aleatoriamente em cinco tratamentos com diferentes níveis de inclusão (0,0%, 0,5%, 1,0%, 1,5% e 2,0%) durante 45 dias de alimentação. A inclusão de 1,0% de *D. armatus* promoveu melhora significativa no desempenho zootécnico, com ganho de peso 23% superior ($30,4 \pm 0,9$ g) e menor conversão alimentar ($1,06 \pm 0,03$) em comparação ao grupo controle ($24,7 \pm 1,2$ g; $1,39 \pm 0,05$). Observou-se ainda aumento de 12% na deposição mineral no filé, sugerindo melhor absorção e utilização dos nutrientes. Nesse mesmo tratamento, a concentração de malondialdeído (MDA) foi 18% menor, indicando um estado redox mais equilibrado. As atividades enzimáticas digestivas apresentaram os melhores resultados nos níveis intermediários (1,0% e 1,5%), com incremento de 15–20% nas atividades de proteases totais e amilase em relação ao controle. A morfologia intestinal demonstrou vilosidades mais altas e organizadas nos peixes alimentados com 1,0% da microalga, refletindo maior área absorptiva. Os parâmetros bioquímicos séricos, como proteína total, albumina e transaminases hepáticas, mantiveram-se dentro da faixa fisiológica descrita para a espécie, indicando estabilidade metabólica. Conclui-se que a inclusão de 1,0% de *D. armatus* representa uma alternativa funcional, eficiente e ambientalmente sustentável para a nutrição de tilápias cultivadas em sistemas de aquicultura.

Palavras-chave: Alimento funcional; análise enzimática; biomassa de microalga; metabolismo de nutrientes.

Abstract

This study evaluated the effect of including the microalga *Desmodesmus armatus* as a functional ingredient in diets for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared in a recirculating aquaculture system. A total of 200 fish (6.1 ± 1.36 g) were randomly distributed into five treatments with different inclusion levels (0.0 %, 0.5 %, 1.0 %, 1.5 %, and 2.0 %) over 45 days. The inclusion of 1.0 % *D. armatus* significantly improved growth performance, with a 23 % higher weight gain (30.4 ± 0.9 g) and a lower feed conversion ratio (1.06 ± 0.03) compared to the control group (24.7 ± 1.2 g; 1.39 ± 0.05). Mineral content in the fillet increased by 12 % in the 1.0 % treatment, suggesting enhanced nutrient absorption. At the same inclusion level, malondialdehyde (MDA) concentration decreased by 18 %, indicating a more balanced oxidative state. Digestive enzyme activities showed the best results at intermediate inclusion levels (1.0 % and 1.5 %), with total protease and amylase activities increasing by 15–20 % relative to the control. Histological evaluation revealed that fish fed with 1.0 % *D. armatus* exhibited taller and more organized intestinal villi, improving absorptive capacity. Serum biochemical parameters, including total protein, albumin, and hepatic transaminases, remained within the physiological range for the species, indicating metabolic stability. Overall, the inclusion of 1.0 % *D. armatus* in tilapia diets represents an efficient and environmentally sustainable strategy to enhance growth performance, digestion, and oxidative balance in aquaculture systems.

Key words: Functional feed; Enzymatic analysis; Microalgal biomass; Nutrient metabolism.

Lista de figuras

- Figura 1: Ganho de peso (%) de tilápias do Nilo alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de biomassa de *Desmodesmus armatus* durante 45 dias. Os valores são apresentados como média \pm DP. O modelo de regressão quadrática ($y = -142,88x^2 + 279,94x + 474,01$; $R^2 = 0,8134$) indicou um nível ideal de inclusão de 0,97% de biomassa de *Desmodesmus armatus* para o ganho de peso máximo. 30
- Figura 2: Conversão alimentar de tilápias do Nilo alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de biomassa de *Desmodesmus armatus* durante 45 dias. Os valores são apresentados como média \pm DP. O modelo de regressão quadrática ($y = 0,3114x^2 - 0,6009x + 1,4317$; $R^2 = 0,8038$) indicou um nível ideal de inclusão de 0,96% de biomassa de *Desmodesmus armatus* para melhor conversão alimentar..... 30
- Figura 3: Atividade enzimática digestiva de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inclusão da microalga *Desmodesmus armatus* (0,0%; 0,5%; 1,0%; 1,5% e 2,0%). Valores expressos como média \pm desvio..... 33
- Figura 4: Micrografias representativas – 5 μ m – da mucosa intestinal de juvenis de *Oreochromis niloticus* alimentados com diferentes níveis de inclusão de *D. armatus* na dieta: (A) - Controle; (B) - 0,5%; (C) - 1,0%; (D) - 1,5%; (E) - 2,0%. 35

Lista de tabelas

Tabela 1. Formulação e composição proximal estimada das dietas experimentais contendo diferentes níveis de inclusão da microalga <i>Desmodesmus armatus</i>	22
Tabela 2. Desempenho zootécnico de alevinos de tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) alimentadas com diferentes níveis de inclusão da microalga <i>Desmodesmus armatus</i> por 45 dias.	29
Tabela 3. Média (\pm DP) da composição centesimal (% de matéria seca) e energia bruta (kcal kg ⁻¹) do corpo inteiro de alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com diferentes níveis de inclusão da microalga <i>D. armatus</i>	31
Tabela 4. Média (\pm DP) dos marcadores de estresse oxidativo no fígado de alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com diferentes níveis de inclusão da microalga <i>D. armatus</i> ...	32
Tabela 5. Médias (\pm DP) da altura e dos comprimentos da base e do ápice (μ m) das vilosidades intestinais de alevinos de tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) alimentadas com diferentes níveis de inclusão da microalga <i>Desmodesmus armatus</i> por 45 dias.....	34
Tabela 6. Média (\pm DP) dos parâmetros bioquímicos séricos de alevinos de tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) alimentadas com diferentes níveis de inclusão da microalga <i>Desmodesmus armatus</i> por 45 dias.	36

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	11
1.1	CONTEXTUALIZAÇÃO DA PESQUISA	11
1.2.	OBJETIVOS.....	14
1.3.	HIPÓTESE.....	15
2.	Artigo - Suplementação com <i>Desmodesmus armatus</i> em dietas para tilápia do Nilo: implicações digestivas, metabólicas e fisiológicas	20
2.1.	INTRODUÇÃO.....	20
2.2.	METODOLOGIA.....	21
2.2.1.	Aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais.....	21
2.2.2.	Produção da biomassa da microalga <i>D. armatus</i>	21
2.2.3.	Formulação das dietas e preparo das rações.....	22
2.2.4.	Delineamento experimental.....	23
2.2.5.	Condições experimentais, manejo alimentar e coleta de amostras.....	23
2.2.6.	Desempenho zootécnico	24
2.2.7.	Composição centesimal do peixe inteiro	24
2.2.8.	Obtenção do extrato bruto	25
2.2.8.1.	Atividade antioxidante e marcadores de estresse oxidativo	25
2.2.8.2.	Atividade das enzimas digestivas	25
2.2.9.	Análise histológica das vilosidades intestinais.....	27
2.2.10.	Avaliação dos parâmetros bioquímicos do sangue	27
2.2.11.	Análise dos dados	28
2.3.	RESULTADOS	28
2.4.	DISCUSSÃO	37
2.5.	CONCLUSÃO.....	44
3.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	44
4.	REFERÊNCIAS	45

1. INTRODUÇÃO

1.1 CONTEXTUALIZAÇÃO DA PESQUISA

A aquicultura mundial segue em expansão, impulsionada pelo aumento da demanda por produtos de origem animal destinados ao consumo humano. Nesse cenário, a piscicultura continental se destaca no Brasil, contribuindo com 968.745 toneladas de peixes em 2024 (PEIXEBR, 2025). Dentro dessa produção, a espécie que se destaca é a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), sendo que a tilapicultura brasileira desempenha um papel significativo nos números de cultivo de peixes, representando 662.230 toneladas. Isso representa um aumento próximo de 14,0% quando se comparado com 2023 (PEIXEBR, 2025). O crescimento notável da aquicultura no Brasil, especialmente na produção de tilápia, destaca o potencial desse setor e seu papel vital no atendimento às crescentes demandas globais por proteína animal de alta qualidade.

A tilápia do Nilo, uma espécie dulcícola pertencente à família *Cichlidae*, foi introduzida, com sucesso, em várias regiões tropicais e subtropicais, incluindo o Brasil, a partir da década de 1960 (PILLAY E KUTTY, 2005; NOBREGA *et al.*, 2020). Entre as espécies de peixes cultivadas, a tilápia do Nilo é uma escolha popular devido a suas características favoráveis, que incluem crescimento rápido, facilidade de reprodução em cativeiro, filé com boas características organolépticas e a capacidade de resistir a uma variedade de condições ambientais, estresse e doenças. Além disso, sua natureza onívora oportunista facilita a aceitação de alimentos diversos e dietas comerciais, o que resulta em uma boa conversão alimentar (FURUYA, 2010; NG E ROMANO, 2013; EL-SAYED, 2020).

Apesar do elevado desempenho produtivo, a alimentação permanece como o principal fator de custo na piscicultura, especialmente devido ao aumento dos preços do milho e da soja, que constituem os principais insumos utilizados na formulação de rações (XIMENES E VIDAL, 2023). Além da composição básica da ração, é importante destacar o papel dos microingredientes na dieta de tilápias, esses insumos, podem exercer papel funcional, modulando propriedades físico-químicas da dieta e promovendo respostas fisiológicas que otimizam o desempenho produtivo e a qualidade do produto (BARROWS E HARDY, 2000; PASTORE *et al.*, 2013; BAI *et al.*, 2015). Nesse cenário, investir em ingredientes funcionais — como os compostos naturais — torna-se uma

estratégia promissora.

A busca por alternativas que melhorem a qualidade nutricional e funcional das dietas tem incentivado o uso de alimentos funcionais naturais na aquicultura, com foco na promoção da saúde, desempenho e bem-estar dos organismos cultivados. Nesse contexto, as microalgas emergem como uma promissora alternativa funcional na nutrição aquícola. Esses microrganismos são capazes de produzir, mesmo quando incluídos em baixas concentrações, uma variedade de metabólitos primários e secundários resultantes da bioconversão de nutrientes inorgânicos em macromoléculas de alto valor nutricional, como aminoácidos, ácidos graxos, polissacarídeos, carotenóides, vitaminas, entre outros (PRIYADARSHANI & RATH, 2012).

O cultivo de microalgas, em comparação com outras culturas aquícolas, normalmente demanda pequenas áreas para produção. Além disso, a demanda por nutrientes e o impacto ambiental associado são consideravelmente reduzidos, conferindo características de sustentabilidade ambiental e viabilidade econômica. Adicionalmente, por serem organismos fotossintetizantes, as microalgas atuam como consumidoras de CO₂, contribuindo para o sequestro de carbono e a mitigação das emissões de gases de efeito estufa, o que reforça ainda mais seu papel no contexto da sustentabilidade ambiental (RIZWAN et al., 2018; MOLAZADEH et al., 2019; NAGAPPAN et al., 2021). A exploração de espécies de microalgas com potencial na aquicultura representa uma alternativa promissora para o uso como alimentos funcionais em rações, uma vez que podem ser utilizadas com diferentes finalidades, desde o suporte às necessidades nutricionais até a modulação de funções metabólicas específicas, devido ao seu conteúdo de proteínas, aminoácidos essenciais e ácidos graxos, especialmente os PUFAs ômega-3 (NAGAPPAN et al., 2021; ŠTĚRBOVÁ et al., 2023).

Embora o número de espécies de microalgas seja fruto de discussão, com estimativas que variam entre 30.000 e 1.000.000 de espécies potenciais e cerca de 200.000 descritas (COSTA et al., 2022; EILAM et al., 2023), as *Chlorophytas* de água doce destacam-se para aplicações na aquicultura. Essa escolha é justificada não apenas pela sua ampla distribuição nos ambientes aquáticos, mas também por seu potencial como alimentos funcionais em dietas (BECKER, 2013; ZMORA et al., 2013). Como produtores primários, esses organismos desempenham papel essencial na base das cadeias alimentares aquáticas, participando ativamente do ciclo de nutrientes e sendo

responsáveis por grande parte da produção de oxigênio na atmosfera terrestre (FIELD et al., 1998; BEARDALL et al., 2009).

Entre os gêneros mais estudados entre as *Chlorophytas* estão *Chlorella* e *Scenedesmus*, reconhecidos por ampla pesquisa e aplicação comercial na aquicultura (DINESHBABU et al., 2019). Suas propriedades como alimento funcional estão associadas à capacidade de influenciar positivamente a imunidade e a resposta antioxidante, contribuindo para a sanidade animal. A riqueza bioquímica dessas microalgas é um dos fatores que sustentam seu uso funcional: sua biomassa contém altos teores de proteínas, carboidratos, lipídios, vitaminas, minerais e compostos bioativos como carotenoides, clorofilas e ácidos graxos essenciais (SHEIKHZADEH et al., 2024).

A aplicação de microalgas do filo *Chlorophyta* como alimentos funcionais tem demonstrado efeitos promissores na aquicultura, como ganhos significativos no desempenho zootécnico. Ahmad et al. (2022) destacaram os benefícios de espécies dos gêneros *Chlorella*, *Scenedesmus* e *Spirulina* na melhoria do crescimento, na elevação da taxa de sobrevivência e na qualidade do filé. Além disso, Sherif et al. (2024) relataram a influência positiva no sistema antioxidante com a suplementação de *Spirulina platensis*. Estes autores observaram o aumento na atividade da catalase (CAT) e glutatona reduzida (GSH), bem como redução dos níveis de malondialdeído (MDA). As *Chlorophytas* também têm se destacado pela capacidade de fortalecer a resposta imunológica dos peixes, contribuindo para maior resistência a patógenos e redução da necessidade do uso de agentes terapêuticos (NAGAPPAN et al., 2021).

Contudo, ainda que *Chlorella*, *Scenedesmus* e *Spirulina* estejam entre as mais estudadas, é importante destacar outras *Chlorophytas* de água doce com potencial. Dentre essas microalgas descritas com potencial para a nutrição animal, pode-se citar o gênero *Desmodesmus*, que possui características biológicas e nutricionais relevantes para a aquicultura. Espécies desse gênero, como *D. armatus*, são microalgas verdes da divisão *Chlorophyta*, comumente encontradas em ambientes de água doce ao redor do mundo. São organismos cosmopolitas, podendo ocorrer tanto em ambientes lênticos quanto lóticos, e algumas linhagens apresentam tolerância a variações de salinidade, o que amplia seu potencial de cultivo em diferentes sistemas (PANIS E CARREON, 2016; OLIVEIRA et al., 2019).

Desmodesmus apresenta elevada taxa de crescimento, fácil cultivo em condições laboratoriais e industriais, e uma parede celular resistente composta por polissacarídeos não amiláceos algenano e pectina. Sua composição bioquímica inclui elevado teor de proteínas (podendo ultrapassar 40–50% da matéria seca), lipídios (18–22%), carboidratos estruturais e diversos compostos bioativos (CAO et al., 2020; LIMA et al., 2023). Esses compostos incluem ácidos graxos poli-insaturados (ácido eicosapentaenoico – EPA e o ácido alfa-linolénico – ALA), pigmentos antioxidantes como luteína e β -caroteno, além de vitaminas e minerais essenciais (NAGAPPAN et al., 2021).

Estudos com diferentes espécies de peixes indicam que microalgas do gênero *Desmodesmus* podem ser incorporadas às dietas sem comprometer parâmetros produtivos, composição corporal, indicadores fisiológicos ou integridade intestinal, demonstrando seu potencial como alimento funcional seguro e promissor para aplicações na aquicultura (KIRON et al., 2016; GONG et al., 2017). No entanto, o impacto positivo dessa microalga pode depender diretamente da concentração utilizada e da espécie-alvo (TREVI et al., 2023).

Apesar desses avanços, a literatura científica ainda necessita de estudos específicos avaliando o impacto da inclusão de *Desmodesmus* em diferentes níveis na dieta de tilápias. Dessa forma, pesquisas que explorem o uso de *D. armatus* como ingrediente funcional em dietas para tilápias são essenciais para ampliar o conhecimento sobre seu valor nutricional e potencial zootécnico, bem como para validar seu uso em sistemas intensivos de produção. A investigação desses aspectos pode contribuir significativamente para o desenvolvimento de dietas mais sustentáveis, funcionais e alinhadas com os princípios da aquicultura moderna.

1.2. OBJETIVOS

Avaliar o potencial da microalga *Desmodesmus armatus* como ingrediente funcional na alimentação no cultivo da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

Objetivos específicos

- Avaliar se a inclusão de diferentes níveis de *D. armatus* na alimentação de alevinos de tilápia do Nilo influenciam no desempenho zootécnico;

- Avaliar a composição bromatológica de tilápias inteiras alimentadas com dietas contendo concentrações crescentes de *D. armatus*;
- Determinar a relação das microalgas fornecidas na dieta com relação as atividades das enzimas digestivas e do sistema antioxidante;
- Analisar os possíveis efeitos decorrentes da inclusão da microalga na dieta sobre os parâmetros bioquímicos sanguíneos da tilápia do Nilo;
- Avaliar o efeito da suplementação de *D. armatus* na dieta sobre a histomorfologia intestinal da tilápias do Nilo.

1.3. HIPÓTESE

A inclusão da microalga *D. armatus* na dieta de juvenis de tilápia do Nilo tem influência positiva no desempenho zootécnico, nos parâmetros fisiológicos, bioquímicos e histomorfológicos.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, A.; HASSAN, S. W.; BANAT, F. An overview of microalgae biomass as a sustainable aquaculture feed ingredient: food security and circular economy. **Bioengineered**, v. 13, n. 4, p. 9521–9547, 2022. DOI: 10.1080/21655979.2022.2061148.
- BAI, S. C.; KATYA, K.; YUN, H. Additives in aquafeed: An overview. In: **HARDY, R. W. (Ed.)**. Feed and Feeding Practices in Aquaculture. Cambridge: Woodhead Publishing, 2015. p. 171–202. DOI: 10.1016/B978-0-08-100506-4.00007-6.
- BARROWS, F. T.; HARDY, R. W. Feed additives. In: **STICKNEY, R. R. (Ed.)**. Encyclopedia of Aquaculture. New York: Wiley-Interscience, 2000. p. 335–340. DOI: 10.1079/cabicompendium.82571
- BEARDALL, J.; ALLEN, D.; BRAGG, J.; FINKEL, Z. V.; FLYNN, K. J.; QUIGG, A.; REES, T. A. V.; RICHARDSON, A.; RAVEN, J. A. Allometry and stoichiometry of unicellular, colonial and multicellular phytoplankton. **New Phytologist**, v. 181, n. 2, p. 295–309, 2009. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2008.02660.x.
- BECKER, E. W. Microalgae for aquaculture: nutritional aspects. In: **RICHMOND, Amos; HU, Qiang (Eds.)**. Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology. 2. ed. Oxford: John Wiley & Sons, 2013. Cap. 36, p. 671–690.

CAO, M.; WANG, S.; GAO, Y.; PAN, X.; WANG, X.; DENG, R.; LIU, P. Study on physicochemical properties and antioxidant activity of polysaccharides from *Desmodesmus armatus*. **Journal of Food Biochemistry**, v. 44, e13243, 2020. DOI: 10.1111/jfbc.13243

COSTA, M.; FONSECA, J. G.; SILVA, J. L.; BERTHON, J. Y.; FILAIRE, E. Microalgae for animal and fish feed. In: **Algal Biorefineries and the Circular Bioeconomy**. Boca Raton: CRC Press, 2022. Cap. 6, p. 177–204. DOI: 10.1201/9781003195405-6.

DINESHBABU, G.; GOSWAMI, G.; KUMAR, R.; SINHA, A.; DAS, D. Microalgae – nutritious, sustainable aqua- and animal feed source. **Journal of Functional Foods**, v. 62, artigo 103545, 2019. ISSN 1756-4646. DOI: 10.1016/j.jff.2019.103545.

EILAM, Y.; KHATTIB, H.; PINTEL, N.; AVNI, D. Microalgae – Sustainable source for alternative proteins and functional ingredients promoting gut and liver health. **Global Challenges**, Hoboken, NJ, v. 7, n. 5, p. 2200177, 2023. DOI: 10.1002/gch2.202200177.

EL-SAYED, A. F. M. Tilapia Culture. 2. ed. San Diego: **Academic Press**, 2020. ISBN-10: 0-85199-014-2.

FIELD, C. B.; BEHRENFELD, M. J.; RANDERSON, J. T.; FALKOWSKI, P. Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components. **Science**, v. 281, n. 5374, p. 237–240, 10 jul. 1998. DOI: 10.1126/science.281.5374.237.

FURUYA, W.M. Tabelas brasileiras para nutrição das Tilápias. Toledo: **GFM**, 100p, 2010. ISBN: 978-85-60308-14-9

GONG, Y.; GUTERRES, H. A. D. S.; HUNTLEY, M.; SØRENSEN, M.; KIRON, V. Digestibility of the defatted microalgae *Nannochloropsis sp.* and *Desmodesmus sp.* when fed to Atlantic salmon, *Salmo salar*. **Aquaculture Nutrition**, v. 24, p. 56–64, 2017. DOI: 10.1111/anu.12533.

KIRON, V.; SØRENSEN, M.; HUNTLEY, M.; VASANTH, G. K.; GONG, Y.; DAHLE, D.; PALIHAWADANA, A. M. Defatted Biomass of the Microalga, *Desmodesmus sp.*, Can Replace Fishmeal in the Feeds for Atlantic Salmon. **Frontiers in Marine Science**, v. 3, p. 67, 2016. DOI: 10.3389/fmars.2016.00067.

LIMA, A. de S. P.; CAHÚ, T. B.; DANTAS, D. M. M.; VERAS, B. O.; OLIVEIRA, C. Y. B.; SOUZA, R. S.; MORAES, L. B. S.; SILVA, F. C. O.; ARAÚJO, M. I. F.; GÁLVEZ, A. O.; SOUZA, R. B. Accessing the biotechnological potential of a novel isolated microalga from a semi-arid region of Brazil. **Food Science and Technology International**, v. 31, n. 2, p. 128-141, 2023. DOI: 10.1177/10820132231186171.

MOLAZADEH, M.; AHMADZADEH, H.; POURIANFAR, H. R.; LYON, S.; RAMPELOTTO, P. H. The use of microalgae for coupling wastewater treatment with CO₂ biofixation. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 7, artigo 42, 2019. DOI: 10.3389/fbioe.2019.00042.

NAGAPPAN, S.; DAS, P.; ABDULQUADIR, M.; TAHER, M.; KHAN, S.; MAHATA, C.; AL-JABRI, H.; VATLAND, A. K.; KUMAR, G. Potential of microalgae as a sustainable feed ingredient for aquaculture. **Journal of Biotechnology**, v. 341, p. 1–20, 2021. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2021.09.003.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. Washington, DC: **National Academic Press**, 2011. DOI: 10.17226/13039.

NG, W. K.; ROMANO, N. A review of the nutrition and feeding management of farmed tilapia throughout the culture cycle. **Reviews in Aquaculture**, v. 5, n. 4, p. 220–254, 2013. DOI: 10.1111/raq.12014

NOBREGA, R. O.; BANZE, J. F.; BATISTA, R. O.; FRACALOSSO, D. M. Improving winter production of Nile Tilapia: What can be done? **Aquaculture Reports**, v. 18, p. 100453, 2020. DOI: 10.1016/j.aqrep.2020.100453

OLIVEIRA, C. Y. B.; GOMES, C. D.; SANTOS, F. J.; MORAIS, M. M. Prospecting the first culture collection of algae of the Pernambuco semiarid, Brazil. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, v. 11, n. 2, p. 27–34, 2019. DOI: 10.18817/repesca.v11i2.1625

PANIS, G.; CARREON, J. R. Commercial astaxanthin production derived by green alga *Haematococcus pluvialis*: A microalgae process model and a techno-economic assessment all through production line. **Algal Research**, v. 18, p. 175–190, 2016. DOI: 10.1016/j.algal.2016.06.007

PASTORE, S. C. G.; GAIOTTO, J. R.; RIBEIRO, F. A. S.; NUNES, A. J. P. Formulação de rações e boas práticas de fabricação. In: **FRACALOSSI, D. M.; CYRINO, J. E. P. (Eds.)**. Nutriaqua: Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2013. p. 295–346. ISBN: 9788560190034

PEIXE BR. Anuário Peixe BR da Piscicultura 2025. São Paulo: **Associação Brasileira da Piscicultura**, 2025. 79 p.

PILLAY, T. V. R.; KUTTY, M. N. Aquaculture: principles and practices. 2. ed. Oxford: **Blackwell Publishing Ltd**, 2005. 575 p. ISBN: 1-4051-0532-1

PRIYADARSHANI, I.; RATH, B. Bioactive compounds from microalgae and cyanobacteria: utility and applications. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 3, n. 11, p. 4123, 2012. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.3(11).4123-30

RIZWAN, M.; MUJTABA, G.; MEMON, S. A.; LEE, K.; RASHID, N. Exploring the potential of microalgae for new biotechnology applications and beyond: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 92, p. 394–404, 2018. DOI: 10.1016/j.rser.2018.04.034

SHEIKHZADEH, N.; SOLTANI, M.; HEIDARIEH, M.; GHORBANI, M. Role of dietary microalgae on fish health and fillet quality: Recent insights and future prospects. **Fishes**, v. 9, n. 1, p. 26, 2024. DOI: 10.3390/fishes9010026.

SHERIF, E. M.; ABD EL-RAZEK, I. M.; EL-SHARAWY, M. E.; AMER, A. A.; ZAINELDIN, A. I.; GEWAILY, M. S.; ASHRY, A. M.; YOUNIS, N. A.; AHMED, H. A.; DAWOOD, M. A. O. Growth performance, antioxidative status, and immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed dietary fermented *Spirulina platensis*. **Aquaculture Reports**, v. 39, 102324, 2024. DOI: 10.1016/j.aqrep.2024.102324.

ŠTĚRBOVÁ, K.; MANOEL, J. C.; LAKATOS, G. E.; et al. Microalgae as an aquaculture feed produced in a short light-path annular column photobioreactor. **J Appl Phycol. Journal of Applied Phycology**, v. 35, p. 603–611, 2023. DOI: 10.1007/s10811-023-02928-x.

TREVI, S.; UREN WEBSTER, T.; CONSUEGRA, S.; et al. Benefits of the microalgae *Spirulina* and *Schizochytrium* in fish nutrition: a meta-analysis. **Scientific Reports**, v. 13, p. 2208, 2023. DOI: 10.1038/s41598-023-29183-x.

XIMENES, L. F. E VIDAL, M. de F. Piscicultura. In: Caderno Setorial ETENE. Fortaleza: Banco do Nordeste, Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste – ETENE, ano 8, n. 272, mar. 2023. Disponível em: <https://www.bnb.gov.br/etene/caderno-setorial>. Acesso em: 2 set. 2025.

ZMORA, O.; GROSSE, D. J.; ZOU, N.; SAMOCHA, T. M. Microalgae for aquaculture: practical implications. In: **RICHMOND, Amos; HU, Qiang (Eds.)**. Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology. 2. ed. Oxford: Wiley-Blackwell, 2013. Cap. 34, p. 628–647.

2. Artigo - Suplementação com *Desmodesmus armatus* em dietas para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*): implicações digestivas, metabólicas e fisiológicas

2.1. INTRODUÇÃO

A expansão da aquicultura responde à crescente demanda global por fontes sustentáveis de proteína animal. Em 2022, a produção mundial de pescado (pesca e aquicultura) atingiu 223,2 milhões de toneladas, colocando a aquicultura como principal fonte de alimentos aquáticos. Em 2022, a produção mundial de tilápia foi de 5,3 milhões de toneladas (FAO, 2024). Dentre os peixes cultivados, a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) destaca-se como uma importante fonte de proteína alimentar e contribui para a segurança alimentar global (MOHAMAD et al., 2024). A tilápia do Nilo é amplamente cultivada e destaca-se por sua elevada adaptabilidade, desempenho produtivo, aceitação de dietas comerciais e qualidade do filé (FURUYA, 2010; NG e ROMANO, 2013; EL-SAYED, 2020).

Apesar dessas características favoráveis, a produção intensiva de tilápias enfrenta desafios associados à nutrição, sanidade e sustentabilidade. A alimentação representa parcela substancial dos custos produtivos e, além do fornecimento de nutrientes básicos, deve considerar estratégias que promovam maior eficiência metabólica, resiliência fisiológica e qualidade do produto (NAYLOR et al., 2021; ONOMU E OKUTHE, 2024). Nesse sentido, cresce o interesse pelo uso de alimentos funcionais, definidos como componentes capazes de exercer efeitos adicionais à nutrição convencional, modulando processos fisiológicos e contribuindo para a melhoria de parâmetros zootécnicos, da resposta imune e da resistência ao estresse oxidativo (ALEMAYEHU et al., 2018; HAYATGHEIB et al., 2020), mesmo quando adicionados em pequenas quantidades.

Entre os alimentos funcionais naturais promissores para aquicultura, as microalgas destacam-se pelo seu perfil bioquímico diversificado. Dentre os grupos mais estudados, as algas verdes da divisão *Chlorophyta*, como *Chlorella*, *Scenedesmus* e *Spirulina*, apresentam ampla aplicação em dietas para peixes, com benefícios documentados no desempenho zootécnico, metabolismo antioxidante e resposta imune (NAGAPPAN et al., 2021; ZHANG et al., 2021; AHMAD et al., 2022). Entretanto, outras espécies de *Chlorophytas* precisam ser investigadas devido ao seu potencial funcional. É o caso de *D. armatus*, uma microalga de água doce amplamente distribuída, caracterizada por

rápido crescimento, tolerância a diferentes condições de cultivo e elevados teores de compostos bioativos, como proteínas, ácidos graxos poli-insaturados, carotenoides e polissacarídeos com propriedades antioxidantes e imunomoduladoras (PANIS e CARREON, 2016; CAO et al., 2020; LIMA et al., 2023).

Apesar do seu potencial, ainda são limitadas as evidências científicas sobre o uso de *D. armatus* como ingrediente funcional na alimentação de tilápias. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da inclusão dessa microalga em dietas para juvenis de *O. niloticus*, considerando indicadores zootécnicos, bioquímicos, digestivos e histomorfológicos, com vistas à validação de seu uso em formulações mais sustentáveis e tecnicamente eficientes para a aquicultura.

2.2. METODOLOGIA

2.2.1. Aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais

Todos os procedimentos experimentais realizados neste estudo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), conforme protocolo nº 9683150424, atendendo às diretrizes estabelecidas pela legislação brasileira.

2.2.2. Produção da biomassa da microalga *D. armatus*

As cepas de *D. armatus* foram fornecidas pelo Laboratório de Maricultura Sustentável (LAMARSU) da UFRPE, onde foram originalmente isoladas do reservatório Cachoeira II (07°58'23.1"S 038°19'24.0"W), localizado no município de Serra Talhada, Pernambuco, Brasil. Os cultivos utilizaram o meio de cultura BBM – Bold's Basal Medium. A biomassa de *D. armatus* foi obtida por meio de cultivo semi-contínuo, com transferências sucessivas realizadas até atingir um volume final de 500 L. Durante o escalonamento, a microalga foi analisada no microscópio para averiguar eventuais contaminações por outros organismos. Ao fim do cultivo, o volume produzido nas unidades experimentais foi coletado, floculado e centrifugado a 2000 x g, seguido de congelamento a -80 °C (SANYO MDF U33V) e seco em estufa 55°C por 24 horas. A biomassa seca foi então pesada em balança analítica (0,001 g) para a determinação do rendimento (g L^{-1}) e produtividade ($\text{g L}^{-1} \text{dia}^{-1}$), baseado no número de dias de cultivo. A biomassa seca foi utilizada como alimento funcional nas dietas experimentais.

2.2.3. Formulação das dietas e preparo das rações

A composição bromatológica do mesmo lote de *D. armatus* utilizado neste estudo foi determinada por Lima et al. (2023): 40,56% de proteína bruta, 25,03% de carboidratos, 10,12% de lipídeos totais, 4,18% de fibra bruta e 20,11% de matéria mineral. Esses dados foram utilizados na formulação das dietas e na manutenção da equivalência entre os tratamentos. A biomassa foi desidratada e incorporada às dietas experimentais na forma de pó seco, em diferentes níveis de inclusão. As rações foram formuladas para serem isoprotéicas e isoenergéticas (Tabela 1), com o auxílio do software SuperCrac® 6.1 Premium, com base nas exigências nutricionais recomendadas para alevinos de tilápia do Nilo (FURUYA, 2010; FURUYA et al., 2013). A produção das dietas foi realizada no Departamento de Pesca e Aquicultura da UFRPE, sendo posteriormente armazenadas a -20 °C até o momento da utilização.

Tabela 1. Formulação e composição proximal estimada das dietas experimentais contendo diferentes níveis de inclusão da microalga *Desmodesmus armatus*.

Ingredientes (%)	Níveis de inclusão de <i>D. armatus</i> (%)				
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0
Farelo de Soja (44% PB)	63,89	63,2	62,51	61,82	61,12
Farinha de Milho (7,9% PB)	28,58	28,93	29,29	29,64	30,0
Biomassa de <i>D. armatus</i>	0	0,5	1,0	1,5	2,0
Calcário	2,43	2,45	2,46	2,48	2,5
Óleo de Soja	1,88	1,77	1,67	1,56	1,45
Fosfato Bicálcico	1,4	1,37	1,35	1,32	1,3
Carboximetilcelulose	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Premix mineral vitamínico ¹	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
DL-Metionina	0,34	0,34	0,33	0,34	0,32
L-Treonina	0,34	0,34	0,34	0,33	0,33
Sal Comum	0,22	0,18	0,13	0,09	0,06
BHT	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Total	100	100	100	100	100
Composição proximal (%)					
Matéria Seca	93,33	94,17	93,40	93,61	94,18
Proteína Bruta	34,72	34,58	34,01	34,08	34,66
Extrato Etéreo	4,2	4,1	3,99	3,88	3,78

Cinzas	5.55	5.45	5.35	5.25	5.15
Fibra Bruta	4.02	4.01	4.0	3.99	3.99
Energia Digestível (Kcal g ⁻¹)	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2

¹Vit. A (2500000 U.I); Vit. D3 (60000 U.I); Vit. E (37500 U.I); Vit. K3 (3750 mg); Vit. B1 (4000 mg); Vit. B2 (4000 mg); Vit. B5 (12 g); Vit. B6 (4000 mg); Vit. B12 (4000 mcg); Vit. C (50 g); ácido fólico (1250 mg); niacina (22,5 g); biotina (15 mg); ferro (15 g); zinco (12,5 g); manganês (12,5 g); cobre (2500 mg); iodo (375 mg); cobalto (125 mg); selênio (85,7 mg).

2.2.4. Delineamento experimental

O delineamento contava com um controle (0% de inclusão) e quatro tratamentos com diferentes níveis de suplementação (0,5%, 1,0%, 1,5% e 2,0%). O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado com quatro repetições, e duração de 45 dias. Um total de 200 machos revertidos, com peso médio inicial de $6,1 \pm 1,36$ g e comprimento médio inicial de $7,34 \pm 1,59$ cm, foram distribuídos em 20 tanques de polietileno com volume útil de 300 L, com 10 peixes por unidade experimental.

2.2.5. Condições experimentais, manejo alimentar e coleta de amostras

Os peixes foram aclimatados durante duas semanas às condições experimentais, quando foram alimentados com uma dieta basal com 45% de PB. Após a aclimação, os animais passaram pela primeira biometria antes do início do experimento. Durante o período experimental, os peixes foram alimentados *ad libitum* – até saciedade aparente, quatro vezes ao dia (9:00; 12:00; 14:00 e 17:00 horas) com as dietas experimentais. A quantidade de ração fornecida e a mortalidade foram monitorados diariamente.

O experimento foi conduzido em sistema de recirculação de água, com aeração constante e reposição da água perdida por evaporação. Os parâmetros físicos e químicos da água foram mensurados diariamente com uma sonda multiparâmetro (Instrutherm MO-920), pHmetro (HI98107 pHep®) e refratômetro (RHB-62ATC - ION), mantendo-se dentro de faixas consideradas adequadas para cultivo da espécie, com temperatura da água ($27,68 \pm 0,71$ °C); pH ($7,91 \pm 0,29$); salinidade ($2,5 \pm 0,5$ ppm) e oxigênio dissolvido ($6,58 \pm 0,5$ mg L⁻¹). Amônia e nitrito foram mensurados semanalmente com testes colorimétricos comerciais (LabconTest; Amônia toxica e Nitrito NO₂⁻; Camboriú, SC e Brasil) e estiveram dentro da faixa considerada tolerável para a espécie – amônia tóxica ($0,25 \pm 0,01$ mg L⁻¹) e nitrito ($0,67 \pm 0,33$ mg L⁻¹) (EL-SAYED, 2019).

Ao final do experimento, os peixes foram submetidos a um jejum de 24 horas. Posteriormente os animais foram anestesiados com 150mg/L de Tricaína metano sulfonato (MS-222, Sigma-Aldrich) para realização de biometria. Uma amostra de sangue de cinco peixes por unidade experimental foi coletada via punção da veia caudal com seringas contendo 1 mL de anticoagulante (EDTA 3,0%) – para quantificação dos parâmetros hematológicos – e seringas sem anticoagulantes, para quantificação dos parâmetros bioquímicos. Após esse processo, foram eutanasiados por meio da secção da medula óssea e sangria das brânquias (ARAÚJO et al., 2018). Também foram coletadas e pesadas amostras de fígado e vísceras de cinco tilápias por tanque, para determinação do Índice Hepatosomático (IHS) e do Índice Viscerosomático (IVS). Amostras de intestino médio foram coletadas para análises de histologia intestinal e atividade enzimática digestiva, amostras do estômago foram separadas para análise de atividade de enzima digestiva, enquanto amostras de fígado foram amostradas para avaliar a atividade antioxidante hepática. Adicionalmente, três peixes inteiros por tanque foram destinados à análise de composição centesimal.

2.2.6. Desempenho zootécnico

O desempenho zootécnico das tilápias do Nilo foi avaliado considerando os parâmetros descritos por Heluy et al. (2025): Sobrevivência (S) = (número final de peixes / número inicial de peixes) X 100; Ganho de peso (GP) (g) = ((peso biomassa final – peso biomassa inicial) / peso biomassa inicial) X 100; Consumo de Ração diário (CR) (g) = (quantidade de ração fornecida (g) / biomassa de peixe (g)) / dias; Taxa de Conversão alimentar (TCA) = ração fornecida / ganho de peso; Taxa de Eficiência Alimentar (TEA) = ganho de peso / ração fornecida; Taxa de Crescimento Específico (TCE) (% dia-1) = [(ln peso final – ln peso inicial) / dias de experimento] x 100; Taxa de Eficiência Proteica (TEP) = ganho de peso (g) / proteína ingerida (g); Fator de Condição (FC) = 100 x peso vivo (g) / comprimento corporal (cm); Índice Hepatosomático (IHS) = (Peso do fígado / Peso corporal) x 100; Índice Viscerosomático (IVS) = (Peso das vísceras / Peso corporal) x 100; produtividade (kg m⁻³) = (biomassa final (kg) / área unitária experimental (m³)).

2.2.7. Composição centesimal do peixe inteiro

A composição centesimal dos peixes foi determinada no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da UFRPE. Inicialmente, os animais foram secos

em estufa a 55 °C e, em seguida, triturados em moinho para posterior análise. As determinações seguiram Silva & Queiroz (2009): umidade obtida por secagem da amostra a 105 °C; o teor de proteína bruta determinado pelo método de Kjeldahl; os lipídios totais extraídos pelo método de Soxhlet; as cinzas obtidas por incineração em mufla a 500 °C; os carboidratos totais através da diferença da matéria seca pelos valores de extrato etéreo, proteína e matéria mineral e a energia bruta analisada por meio de bomba calorimétrica.

2.2.8. Obtenção do extrato bruto

Os tecidos coletados foram homogeneizadas na proporção de 40 mg mL⁻¹ em solução tampão Tris-HCl (0,1 M) com NaCl (0,15 mM), pH 8, e posteriormente centrifugadas a 8000 × g por 15 minutos a 4 °C (SILVA et al. 2020). O sobrenadante (extrato bruto) obtido foi utilizado para determinação da atividade enzimática. O teor de proteína total das amostras foi determinado pelo método de Bradford (1976), utilizando albumina bovina como padrão.

2.2.8.1. Atividade antioxidante e marcadores de estresse oxidativo

A atividade da catalase foi determinada, medindo a diminuição da concentração de peróxido de hidrogênio pela absorbância em 240 nm, à 25° C, em leitor de microplacas tipo ELISA (AEBI, 1974). Os níveis de peroxidação lipídica no fígado foram determinados com base nos níveis de malondialdeído (MDA). Na presença de ácido tiobarbitúrico, o MDA reage produzindo uma substância reagente ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), que foi medida conforme descrito por Buege e Aust (1978) e modificada pelo método de Pérez-Jiménez et al. (2009). Glutathion redutase foi medida pela absorbância de 340 nm, à 25° C, em leitor de microplacas tipo ELISA (Pérez-Jiménez et al., 2009).

2.2.8.2. Atividade das enzimas digestivas

Atividade proteolítica alcalina total

A atividade proteolítica alcalina foi determinada de acordo com Bezerra *et al.* (2005), onde azocaseína (1%) foi diluída em tampão Tris-HCl 0,1M pH 8,0 (50µL) com extrato bruto do intestino junto a 30µL durante 60min sob temperatura ambiente (25°C). Logo após foi adicionado 240µL de ácido tricloroacético (TCA 10%). Depois de 10min a solução foi centrifugada durante 5min à 8.000xg e 70µL do sobrenadantes foi misturado à 130µL de NaOH 1M em placa de 96 poços, para em sequência ser lido em

espectrofotômetro leitor de microplaca à 450nm. A atividade da protease ácida total foi medida usando 2% de hemoglobina como substrato em tampão Glicina-HCl 0,06 M (pH 3,0) e quantificada por análise espectrofotométrica a 280 nm, seguindo o método descrito por Santos et al. (2013).

Atividades proteolíticas específicas

As atividades para tripsina e quimotripsina foram determinadas de acordo com Buarque et al. (2010) utilizando o BApNA (N α -benzoil -DL-arginina-p-nitroanilida) 8mM e SapNA (succinil – alanina, alanina prolina fenilalanina – p – nitroanilida) 4mM como substratos específicos para tripsina e quimotripsina, respectivamente, utilizando DMSO (dimetil sulfóxido) como solvente. Todos os ensaios foram realizados em placas de 96 poços. Os extratos brutos do intestino (30 μ L) foram incubados com 140 μ L do tampão Tris-HCl 0,1M, pH 8.0 e 30 μ L do substrato por um período de 15 min a 25°C. Logo após, as leituras da absorbância foram medidas e registradas usando o espectrofotômetro leitor de microplacas em 405nm de comprimento de onda. A atividade da leucina aminopeptidase foi avaliada usando o substrato sintético específico leucina-p-nitroanilida (Leu-p-Nan), com leituras de absorbância feitas a 525 nm. Uma unidade de atividade enzimática foi definida como a quantidade de enzima necessária para liberar 1 μ mol de p-nitroanilina por minuto, usando um coeficiente de extinção de 9100 M⁻¹ cm⁻¹ (SILVA et al., 2020).

Atividade amilolítica total

A atividade amilolítica foi estimada conforme o método de Bernfeld (1955), utilizando solução de amido a 2% (p/v) como substrato. A reação se deu na incubação de 20 μ L do extrato bruto do fígado e intestino com 125 μ L de tampão Tris-HCl 0.1M, pH 8 e 125 μ L de substrato a 37°C durante 10 minutos. Depois, 30 μ L da solução foi incubada com DNSA (ácido 3,5 – dinitrossalicílico) a 100°C durante 10 minutos. Em seguida ocorreu o resfriamento e 200 μ L da solução foram transferidos para a microplaca e a absorbância foi medida a 570 nm usando espectrofotômetro leitor de microplacas.

Atividade da lipase

A atividade da lipase foi determinada usando uma modificação do método de Aryee et al. (2007) com palmitato de p-nitrofenil 8,0 mM dissolvido em 10% de isopropanol

(solução estoque de substrato). A solução de trabalho do substrato foi preparada dissolvendo 1 mL da solução estoque em 9 mL de Tris-HCl 50 mM com Tween 80 0,4 % (p/v) e goma arábica 0,1 % (p/v) pH 8,0. A hidrólise do palmitato foi medida a 405 nm após 20 min de reação. Os ensaios foram realizados adicionando 30 µL de extrato bruto do intestino a 27 µL de solução de trabalho de substrato. Os brancos foram semelhantes aos outros ensaios enzimáticos. Uma unidade de atividade enzimática (U) foi definida como a quantidade de enzima que catalisa a hidrólise de 1 µmol de p-nitrofenol (p-NF) por minuto por miligrama de proteína ($\epsilon = 17.500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

2.2.9. Análise histológica das vilosidades intestinais

As amostras foram imediatamente fixadas em solução de formalina a 10% por um período de 24 horas. Após a fixação, os tecidos foram submetidos a um protocolo padrão de processamento histológico, que incluiu desidratação gradual em etanol a 70% por meio de três banhos consecutivos com duração de 1 hora cada. Em seguida, os fragmentos foram diafanizados em xilol, também em dois banhos sucessivos de 1 hora, com o objetivo de remoção completa do etanol. Posteriormente, procedeu-se à infiltração em parafina histológica em estufa a 60 °C, por meio de dois banhos consecutivos, cada um com duração de 1 hora. A inclusão dos fragmentos foi realizada em blocos de parafina, que foram então seccionados em cortes histológicos de 5 µm de espessura, utilizando um micrótomo rotativo. Para cada unidade experimental, confeccionaram-se três lâminas histológicas, contendo oito fragmentos de tecido cada. As lâminas foram coradas com hematoxilina de Harris e eosina (HE) para posterior análise morfométrica das vilosidades intestinais. Foram avaliadas 30 vilosidades por tratamento, mensurando-se a altura, base e ápice das estruturas com auxílio de microscópio óptico Global Optics, sob aumento de 4x. As mensurações foram realizadas utilizando os softwares Yais e AMCap_Sonix v3.0.0 (PENG et al. 2013; FERREIRA et al. 2016; CHOWDHURY et al. 2018).

2.2.10. Avaliação dos parâmetros bioquímicos do sangue

Os parâmetros bioquímicos do sangue foram avaliados por kits de análise colorimétrico comercial da Laborlab[®] de acordo com a especificação do fabricante. As concentrações de glicose plasmática, colesterol e triglicerídeos foram lidos em 505nm; proteína sérica a 525nm; albumina a 630nm; as transaminases a 340nm; e as globulinas foram determinadas por cálculo diferencial entre a proteína sérica e a albumina.

2.2.11. Análise dos dados

Os dados foram inicialmente submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade e ao teste de Levene para avaliar a homocedasticidade. Para os conjuntos de dados que atenderam aos pressupostos de normalidade e homogeneidade, foi aplicada análise de variância (ANOVA) unidirecional, seguida pelo teste de Tukey para comparação entre médias, adotando-se um nível de significância de 5%. Entretanto, para os dados que apresentaram heterocedasticidade, foi aplicada a ANOVA de Welch, seguida pelo teste de Games-Howell. Todos os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão. As análises estatísticas foram realizadas no software Jamovi, versão 2.3.28.

2.3.RESULTADOS

2.3.1. Desempenho zootécnico

O peso final, ganho de peso, conversão alimentar, taxa de crescimento específico, eficiência alimentar e eficiência proteica dos juvenis de *O. niloticus* apresentaram diferenças significativas ao final do período experimental (Tabela 2) em função dos níveis de inclusão de *D. armatus*. Análises de regressão quadrática corroboraram essas tendências: para ganho de peso, o modelo estimou um nível 0,97% (Figura 1) de biomassa de *D. armatus* ($y = -142,88x^2 + 279,94x + 474,01$; $R^2 = 0,8134$). Para a conversão alimentar, o modelo quadrático indicou um nível 0,96% (Figura 2) de biomassa de *D. armatus* ($y = 0,3114x^2 - 0,6009x + 1,4317$; $R^2 = 0,8038$). A sobrevivência, consumo alimentar, fator de condição, índice hepatossomático, índice viscerossomático, percentual de peso eviscerado e produtividade não apresentaram diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos.

Tabela 2. Desempenho zootécnico de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com diferentes níveis de inclusão da microalga *Desmodesmus armatus* por 45 dias.

	Níveis de inclusão de <i>D. armatus</i> (%)					<i>P</i>
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0	
Sobrevivência (%)	97,5 ± 5,0	87,5 ± 9,57	90,0 ± 8,16	95,0 ± 5,77	85,0 ± 12,91	0,281
Peso inicial médio (g)	6,12 ± 0,18	6,07 ± 0,13	6,12 ± 0,18	6,07 ± 0,16	6,10 ± 0,18	0,986
Peso final médio (g)	36,35 ± 1,83 ^b	38,11 ± 2,43 ^b	45,58 ± 3,68 ^a	41,34 ± 2,24 ^{ab}	33,78 ± 2,28 ^b	<0,001
Ganho de peso (g)	493,91 ± 16,48 ^{cd}	527,77 ± 44,66 ^{bc}	643,15 ± 46,67 ^a	580,16 ± 19,97 ^{ab}	453,16 ± 31,17 ^d	<0,001
Consumo (g dia ⁻¹)	0,98 ± 0,12	0,98 ± 0,06	0,98 ± 0,14	1,01 ± 0,08	0,96 ± 0,13	0,982
Conversão alimentar	1,39 ± 0,15 ^b	1,32 ± 0,14 ^b	1,06 ± 0,07 ^a	1,23 ± 0,08 ^{ab}	1,49 ± 0,13 ^b	0,002
Eficiência alimentar	0,72 ± 0,07 ^b	0,76 ± 0,08 ^b	0,94 ± 0,06 ^a	0,81 ± 0,06 ^{ab}	0,67 ± 0,06 ^b	<0,001
Taxa de crescimento específico (% dia ⁻¹)	4,14 ± 0,06 ^{cd}	4,27 ± 0,16 ^{bc}	4,66 ± 0,14 ^a	4,46 ± 0,07 ^{ab}	3,97 ± 0,13 ^d	<0,001
Eficiência proteica (%)	2,40 ± 0,28 ^b	2,53 ± 0,27 ^b	3,14 ± 0,19 ^a	2,71 ± 0,19 ^{ab}	2,25 ± 0,2 ^b	<0,001
Fator de condição (g cm ⁻³)	2,17 ± 0,06	1,99 ± 0,22	2,22 ± 0,11	2,04 ± 0,05	1,99 ± 0,28	0,251
Índice Hepatosomático (%)	1,29 ± 0,32	1,11 ± 0,27	1,12 ± 0,4	1,04 ± 0,32	1,23 ± 0,51	0,241
Índice Visserossomático (%)	8,82 ± 1,01	8,59 ± 1,27	8,44 ± 0,99	8,68 ± 2,0	8,43 ± 2,89	0,951
Peso eviscerado (%)	91,18 ± 1,01	91,4 ± 1,27	91,56 ± 0,99	91,31 ± 2,0	91,57 ± 2,89	0,951
Produtividade (kg m ⁻³)	1,22 ± 0,18	1,07 ± 0,23	1,27 ± 0,17	1,31 ± 0,19	0,99 ± 0,18	0,147

Valores expressos como média ± desvio padrão. As letras sobrescritas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística significativa entre os tratamentos, pelos testes de ANOVA e Tukey ($P < 0,05$).

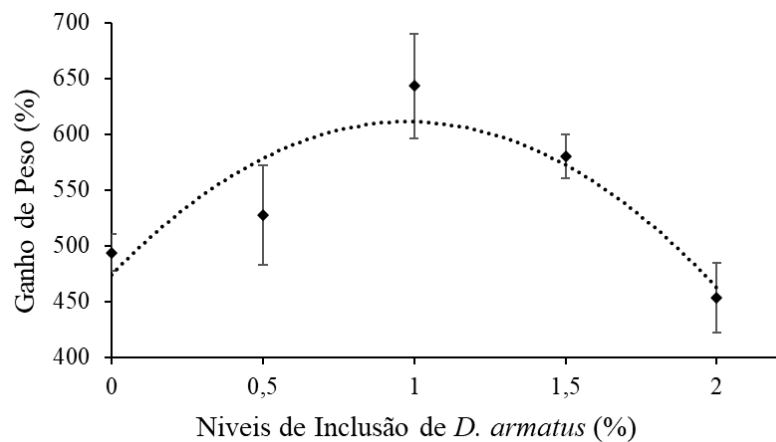


Figura 1: Ganho de peso (%) de tilápias do Nilo alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de biomassa de *Desmodesmus armatus* durante 45 dias. Os valores são apresentados como média ± DP. O modelo de regressão quadrática ($y = -142,88x^2 + 279,94x + 474,01$; $R^2 = 0,8134$) indicou um nível ideal de inclusão de 0,97% de biomassa de *Desmodesmus armatus* para o ganho de peso máximo.

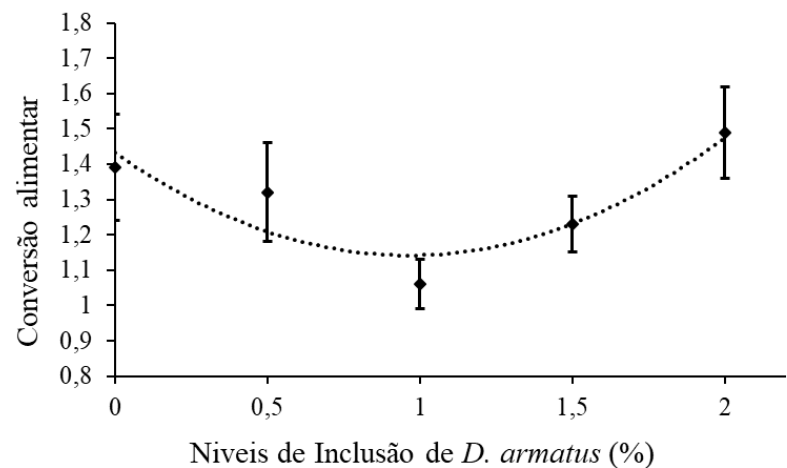


Figura 2: Conversão alimentar de tilápias do Nilo alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de biomassa de *Desmodesmus armatus* durante 45 dias. Os valores são apresentados como média ± DP. O modelo de regressão quadrática ($y = 0,3114x^2 - 0,6009x + 1,4317$; $R^2 = 0,8038$) indicou um nível ideal de inclusão de 0,96% de biomassa de *Desmodesmus armatus* para melhor conversão alimentar.

2.3.2. Composição centesimal

A Tabela 3 apresenta os valores médios da composição centesimal do corpo inteiro dos juvenis de *O. niloticus* ao final do experimento. Apenas a matéria mineral apresentou diferença significativa ($P < 0,05$), com maior resultado no tratamento com 1,0% de inclusão. Nos demais parâmetros não foram observadas diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os tratamentos.

Tabela 3. Média (\pm DP) da composição centesimal (% de matéria seca) e energia bruta (kcal kg⁻¹) do corpo inteiro de alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com diferentes níveis de inclusão da microalga *D. armatus*.

	Níveis de inclusão de <i>D. armatus</i> (%)					<i>P</i>
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0	
Umidade	77,48 \pm 0,76	79,58 \pm 1,34	78,92 \pm 0,52	78,08 \pm 1,47	78,76 \pm 0,69	0,131
Proteína Bruta	62,09 \pm 0,45	60,82 \pm 1,69	62,93 \pm 3,51	61,59 \pm 3,08	63,68 \pm 2,19	0,520
Extrato Etéreo	7,22 \pm 0,19	8,32 \pm 0,85	7,84 \pm 0,67	7,69 \pm 0,77	8,1 \pm 0,46	0,064
Matéria Mineral	8,38 \pm 0,35 ^b	9,23 \pm 0,75 ^b	9,37 \pm 0,25 ^a	8,34 \pm 0,5 ^b	8,8 \pm 0,5 ^b	0,024
Carboidratos Totais	22,31 \pm 0,56	21,63 \pm 1,65	19,85 \pm 3,63	22,36 \pm 3,44	19,4 \pm 1,8	0,184
Matéria Seca	22,51 \pm 0,76	20,42 \pm 1,34	21,08 \pm 0,52	21,92 \pm 1,47	21,24 \pm 0,7	0,131
Energia Bruta	5.112,7 \pm 15,47	5.115,76 \pm 52,6	5.116,71 \pm 84,67	5.1351,6 \pm 53,27	5.165,2 \pm 52,95	0,589

As letras sobrescritas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística significativa entre os tratamentos, pelos testes de ANOVA e Tukey ($P < 0,05$).

2.3.3. Parâmetros de estresse oxidativo

A Tabela 4 apresenta os valores médios dos marcadores de estresse oxidativo hepático dos juvenis de *O. niloticus* alimentados com diferentes níveis de inclusão de *D. armatus*. Dentre os parâmetros analisados, apenas a atividade da Catalase apresentou diferença significativa ($P < 0,05$), com redução nos tratamentos com 1,0% e 1,5%. Os níveis de malondialdeído e glutaciona reduzida não diferiram entre os tratamentos ($P > 0,05$).

Tabela 4. Média (\pm DP) dos marcadores de estresse oxidativo no fígado de alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com diferentes níveis de inclusão da microalga *D. armatus*.

	Níveis de inclusão de <i>D. armatus</i> (%)					<i>P</i>
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0	
CAT (U mg ⁻¹ proteína)	7,73 \pm 2,63 ^a	6,17 \pm 1,76 ^a	2,52 \pm 1,25 ^b	3,90 \pm 1,75 ^b	5,33 \pm 2,09 ^{ab}	< .001
MDA (μ M mg ⁻¹ proteína)	1,79 \pm 0,29	1,55 \pm 0,44	2,02 \pm 0,59	1,70 \pm 0,47	1,69 \pm 0,31	0.630
GSH (μ M mg ⁻¹ proteína)	154,73 \pm 44,11	138,23 \pm 37,67	197,52 \pm 59,30	178,01 \pm 51,39	196,43 \pm 45,31	0.349

CAT = Catalase; MDA = Malondialdeído; GSH = Glutaciona reduzida.

Letras sobrescritas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística significativa entre os tratamentos. GSH e MDA foram analisados por ANOVA e teste de Tukey ($P < 0,05$), enquanto a CAT foi analisada por ANOVA de Welch e teste de Games-Howell ($P < 0,05$).

2.3.4. Enzimas digestivas

A Figura 3 mostra as atividades das enzimas digestivas de juvenis de *O. niloticus* alimentados com diferentes níveis de *D. armatus*. Todas as variáveis apresentaram diferenças significativas ($P < 0,05$). O nível de 1,0% destacou-se por promover maiores atividades de tripsina, quimotripsina e protease ácida ($P < 0,05$). A protease alcalina foi mais elevada no controle, enquanto a atividade da lipase diminuiu com o aumento da inclusão ($P < 0,05$). Para a amilase, observou-se tendência oposta, com maior atividade em 2,0%. A atividade de leucino aminopeptidase foi inversamente proporcional ao de inclusão ($P < 0,05$).

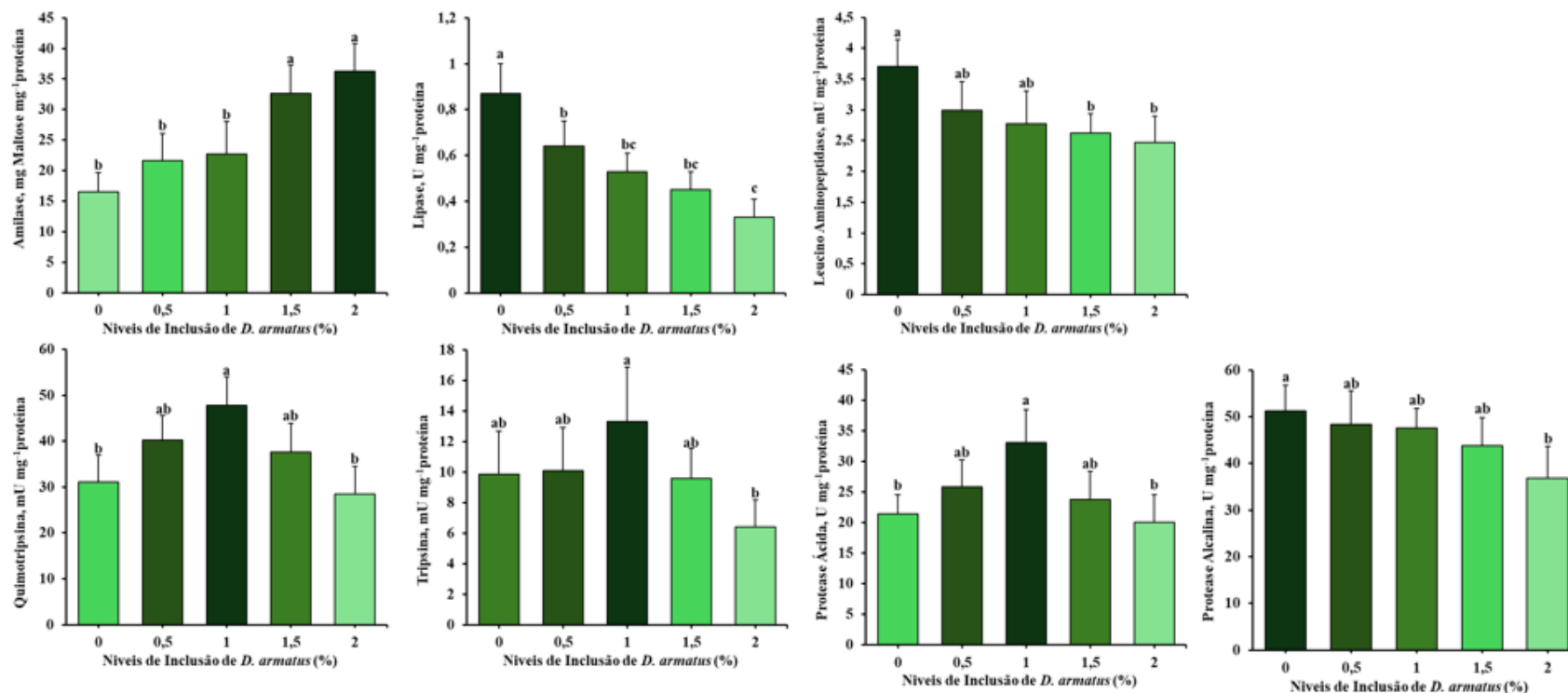


Figura 3: Atividade enzimática digestiva de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inclusão da microalga *Desmodesmus armatus* (0,0%; 0,5%; 1,0%; 1,5% e 2,0%). Valores expressos como média \pm desvio.

2.3.5. Vilosidades intestinais

A Tabela 5 e a Figura 4 apresentam os dados morfométricos das vilosidades intestinais. Observou-se diferença significativa ($P < 0,05$) em todos os tratamentos. A inclusão de 1,0% da microalga resultou em um maior desenvolvimento da mucosa intestinal ($P < 0,05$).

Tabela 5. Médias (\pm DP) da altura e dos comprimentos da base e do ápice (μm) das vilosidades intestinais de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com diferentes níveis de inclusão da microalga *Desmodesmus armatus* por 45 dias.

	Níveis de inclusão de <i>D. armatus</i> (%)					<i>P</i>
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0	
Altura	0,26 \pm 0,04 ^c	0,26 \pm 0,04 ^c	0,45 \pm 0,06 ^a	0,34 \pm 0,06 ^b	0,27 \pm 0,04 ^c	<.001
Comprimento base	0,07 \pm 0,02 ^b	0,07 \pm 0,03 ^b	0,1 \pm 0,04 ^a	0,06 \pm 0,02 ^b	0,08 \pm 0,02 ^b	<.001
Comprimento do Ápice	0,05 \pm 0,02 ^b	0,05 \pm 0,02 ^b	0,09 \pm 0,04 ^a	0,06 \pm 0,02 ^b	0,06 \pm 0,02 ^b	<.001

Valores expressos como média \pm desvio padrão. As letras sobrescritas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística significativa entre os tratamentos, pelos testes de ANOVA e Tukey ($P < 0,05$).

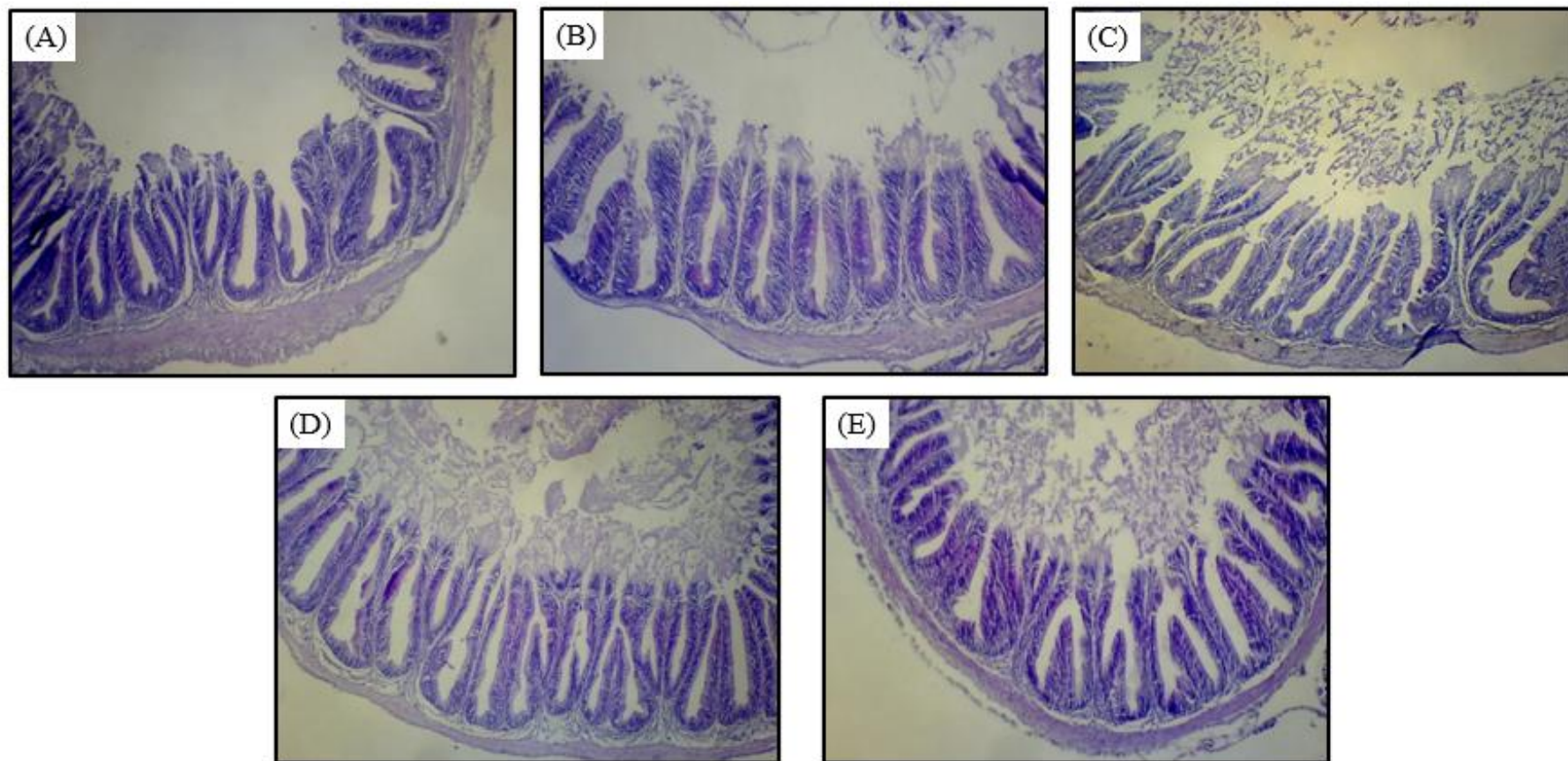


Figura 4: Micrografias histológicas representativas (5 μ m) da mucosa intestinal de juvenis de *Oreochromis niloticus* alimentados com dietas contendo níveis crescentes de inclusão de *Desmodesmus armatus*: (A) controle (0,0%) – vilosidades compactas e com menor projeção da mucosa; (B) 0,5% – vilosidades moderadamente organizadas; (C) 1,0% – vilosidades mais altas e largas, com epitélio bem definido; (D) 1,5% – vilosidades alongadas e organizadas, com aumento da espessura da lâmina própria; (E) 2,0% – integridade das vilosidades preservada, porém com leve redução da altura em comparação aos níveis intermediários. As imagens ilustram as melhorias morfológicas na arquitetura intestinal associadas aos níveis intermediários de inclusão de *D. armatus*.

2.3.6. Bioquímica sérica

A Tabela 6 apresenta os valores médios dos parâmetros de bioquímica sérica dos alevinos de *O. niloticus* suplementados com diferentes níveis da microalga *D. armatus*. Sua inclusão resultou em maiores concentrações de proteína sérica e de globulina, a partir de 1,0%, quando comparado ao controle ($P < 0,05$). A atividade de amilase foi significativamente menor ($P < 0,05$) no tratamento com 1,5% em comparação ao controle, contudo, não diferiu das concentrações de 1,0% e 2,0%. As demais variáveis não apresentaram diferenças significativas ($P > 0,05$).

Tabela 6. Média (\pm DP) dos parâmetros bioquímicos séricos de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com diferentes níveis de inclusão da microalga *Desmodesmus armatus* por 45 dias.

	Níveis de inclusão de <i>D. armatus</i> (%)					<i>P</i>
	0,0%	0,5%	1,0%	1,5%	2,0%	
Glicose (mg dL ⁻¹)	66,96 \pm 5,04	65,39 \pm 2,6	67,51 \pm 5,69	66,47 \pm 7,32	63,15 \pm 6,2	0,755
Colesterol (mg dL ⁻¹)	168,4 \pm 4,24 ^b	169,6 \pm 8,64 ^{ab}	172,57 \pm 6,39 ^{ab}	186,13 \pm 12,27 ^a	186,1 \pm 12,02 ^a	0,009
Triglicerídeos (mg dL ⁻¹)	214,88 \pm 13,0	208,75 \pm 8,55	214,32 \pm 5,51	211,29 \pm 14,23	216,08 \pm 14,46	0,857
Amilase (U mg ⁻¹)	73,79 \pm 19,32 ^a	72,21 \pm 18,76 ^a	50,33 \pm 12,96 ^{ab}	33,99 \pm 12,96 ^b	53,63 \pm 13,16 ^{ab}	0,005
TGP (U L ⁻¹)	20,45 \pm 2,53 ^a	12,65 \pm 2,53 ^b	11,02 \pm 1,84 ^b	12,26 \pm 1,82 ^b	11,64 \pm 2,67 ^b	< .001
TGO (U L ⁻¹)	19,79 \pm 3,1	19,1 \pm 2,11	21,57 \pm 3,65	19,63 \pm 3,62	21,96 \pm 4,5	0,622
Proteína Sérica (g dL ⁻¹)	3,07 \pm 0,19 ^b	3,58 \pm 0,2 ^a	3,86 \pm 0,28 ^a	3,87 \pm 0,26 ^a	3,98 \pm 0,22 ^a	< .001
Albumina (g dL ⁻¹)	1,48 \pm 0,17	1,58 \pm 0,12	1,62 \pm 0,18	1,61 \pm 0,12	1,64 \pm 0,06	0,561
Globulina (g dL ⁻¹)	1,58 \pm 0,17 ^b	2,0 \pm 0,1 ^{ab}	2,24 \pm 0,37 ^a	2,25 \pm 0,36 ^a	2,34 \pm 0,24 ^a	0,009
Rel. Albumina/Globulina	0,95 \pm 0,18	0,79 \pm 0,05	0,75 \pm 0,23	0,73 \pm 0,16	0,71 \pm 0,09	0,253

TGO = Transaminase Glutâmico-Oxalacética; TGP = Transaminase Glutâmico-Pirúvica.

Valores expressos como média \pm desvio padrão. As letras sobrescritas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística significativa entre os tratamentos, pelos testes de ANOVA e Tukey ($P < 0,05$).

2.4. DISCUSSÃO

Os efeitos positivos observados nos parâmetros de crescimento, principalmente em relação ao ganho de peso, reforçam o potencial da inclusão intermediária de *D. armatus*. A análise de regressão quadrática indicou que o nível ideal de inclusão foi de 0,97%, no qual se obteve o ganho de peso máximo. Esse comportamento evidencia que a biomassa da microalga apresenta um efeito dose-resposta não linear, em que níveis moderados de suplementação são mais eficientes para promover crescimento. Resultados semelhantes foram descritos por Sherif et al. (2024), que ao testarem a microalga *S. platensis* nos níveis de 0%, 0,5%, 1%, 2%, 4% e 8%, observaram maiores ganhos de peso em tilápias suplementadas com *S. platensis* em níveis intermediários de inclusão, enquanto concentrações elevadas apresentaram desempenho equivalente ou inferior aos níveis baixos. Por outro lado, Ahmad et al. (2023) verificaram maior ganho de peso em híbridos de tilápia com o nível máximo de inclusão de *C. vulgaris* (4,76%). Essas diferenças reforçam que os efeitos da suplementação dependem da espécie de microalga utilizada e de sua composição bioquímica.

Adicionalmente, os maiores resultados para conversão alimentar (CA), taxa de crescimento específico (TCE), eficiência alimentar (EA) e eficiência proteica (EP) foram observados nos tratamentos com 1,0% e 1,5% de inclusão de *D. armatus*, sendo que apenas o nível de 1,0% apresentou diferença significativa em relação as demais concentrações. Nesse tratamento, a conversão alimentar apresentou um valor inferior aos reportados por Awad et al. (2022) e Sherif et al. (2024), que obtiveram 1,20 e 1,25, respectivamente, nos melhores níveis de suplementação com *S. platensis* para *O. niloticus*. A análise de regressão polinomial confirmou esse efeito, indicando o nível ótimo de inclusão estimado em 0,96% da biomassa de *D. armatus*, no qual se observou o melhor ponto de conversão alimentar. No mesmo nível de inclusão, também foi registrado a maior TCE (4,66), quando comparado a Awad et al. (2023) (0,95 com 0,5%) e por Sherif et al. (2024) (1,35 com 2,0%) de *S. platensis* na dieta. A *D. armatus* diferencia-se da *S. platensis* principalmente pela presença de parede celular, ausente nesta última, o que facilita sua digestão (ANNAMALAI et al., 2021). Os melhores resultados de desempenho observados neste estudo, especialmente nos níveis intermediários de inclusão, podem estar associados à maior eficiência na absorção e no metabolismo de nutrientes. Essa resposta positiva pode ser explicada pela presença de polissacarídeos estruturais, luteína, β -caroteno e ácidos graxos poli-insaturados na biomassa de *D. armatus* (CAO et al., 2020; LIMA et al., 2023).

Em relação a sobrevivência, consumo alimentar e fator de condição, o fato de não terem sido observadas diferenças entre os tratamentos reforça que a inclusão da biomassa da microalga não comprometeu a palatabilidade das rações nem o estado nutricional dos peixes, garantindo condições fisiológicas adequadas ao longo do cultivo (GOMIERO et al., 2010; VILVERT et al., 2024). Do mesmo modo, os índices hepatossomático (IHS) e viscerossomático (IVS), e a porcentagem de peso eviscerado permaneceram estáveis, indicando ausência de efeitos adversos sobre a fisiologia hepática e visceral. O IHS e IVS são importantes marcadores da condição fisiológica (AMRI et al., 2020; MENG et al., 2022; HUANG et al., 2023), e sua constância reforça a segurança nutricional e metabólica da inclusão da microalga, como também demonstrado em estudos com *C. vulgaris* e *S. platensis* (AHMAD et al., 2023; AWAD et al., 2022). Esses resultados reforçam o potencial da microalga como suplemento funcional em dietas aquícolas em concentrações específicas, contribuindo para o desenvolvimento de práticas nutricionais mais sustentáveis e eficientes.

No entanto, apesar das melhorias observadas nos parâmetros produtivos, a composição centesimal não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos, com exceção a matéria mineral. Esses achados estão em consonância com os resultados de Kiron et al. (2016) e Sorokin et al. (2024), que, ao testarem a inclusão de *Desmodesmus* sp. na dieta de salmão do Atlântico e *Vischeria magna* na alimentação de tilápia do Nilo, respectivamente, também não observaram alterações significativas na composição corporal. As concentrações de *D. armatus* ofertadas podem não ter sido suficientes para impactar a deposição diferenciada de nutrientes na carcaça de *O. niloticus*. Em contrapartida Galafat et al. (2020) e Sáez et al. (2022) observaram efeitos significativos na composição corporal de juvenis de dourada (*Sparus aurata*) a partir da inclusão de 2,0% de microalgas na dieta. Em relação a matéria mineral, o nível de 1,0% pode ter gerado uma maior capacidade de assimilação destes compostos, favorecida pela adaptação morfofisiológica do intestino, fato observado no presente estudo.

O estresse oxidativo, resultado do desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e os mecanismos antioxidantes, pode comprometer a integridade celular. Neste estudo, a inclusão de *D. armatus* influenciou significativamente a atividade da CAT, que apresentou valores reduzidos nos tratamentos com 1,0% e 1,5%. Essa redução, entretanto, não deve ser interpretada unicamente como indicativo de prejuízo fisiológico. Em determinadas situações, menores atividades dessa enzima refletem uma menor necessidade de defesa antioxidante (JOMOVA et al., 2024), possivelmente associada à baixa produção de ROS e a um ambiente celular mais equilibrado (ABDEL-TAWWAB et al.,

2023). Por outro lado, Sherif et al. (2024) reportaram aumento na atividade de CAT em resposta à inclusão de *S. platensis*, atribuindo esse efeito ao estímulo antioxidante gerado por compostos presentes na microalga. Ambos os padrões são biologicamente plausíveis e dependem da intensidade do estresse oxidativo e da demanda metabólica enfrentada pelo organismo. No contexto deste estudo, a diminuição da CAT parece estar mais relacionada à ausência de um estímulo oxidativo expressivo do que a uma deficiência funcional do sistema antioxidante. Complementarmente, a ausência de alterações no MDA, marcador de peroxidação lipídica, sugere que não houve danos significativos às membranas celulares (AYALA et al., 2014), enquanto a estabilidade dos níveis de GSH (componente do sistema antioxidante não enzimático) indica que a defesa antioxidante basal foi suficiente para lidar com possíveis ROS sem necessidade de mobilização adicional (OLIVEIRA, 2013).

A inclusão de diferentes níveis da microalga *D. armatus* na dieta de tilápias do Nilo influenciou significativamente a atividade das proteases alcalinas. Foi observada uma redução significativa no nível de 2,0% de inclusão, através de uma relação inversa à concentração de *D. armatus*. Em contraponto, Ibrahim et al. (2022) com um mix de microalgas (*Nannochloropsis oculata*, *Schizochytrium* e *Spirulina*) de 0,75%, a 3,0% de inclusão e Abdel-Tawwab et al. (2023) com *Tetraselmis suecica* de 0%, a 20% de inclusão, observaram aumentos da atividade dessa enzima. No entanto, ao avaliar as atividades específicas de tripsina e quimotripsina, as principais enzimas presentes no trato digestório da tilápia do Nilo, observa-se um comportamento que indica que concentrações maiores ou menores que 1,0 % da microalga podem influenciar negativamente a atividade destas enzimas. Trazendo esta suposição para o campo do desempenho zootécnico, os maiores crescimentos foram observados com 1,0% e 1,5% de inclusão de *D. armatus*. A atividade proteolítica ácida seguiu o mesmo padrão numérico da tripsina e da quimotripsina, com os maiores valores nas concentrações intermediárias, apesar de não haver diferenças significativas.

Após a hidrólise de proteínas por proteíases em peptídeos de cadeia longa, peptidases, como as aminopeptidases, produzem di/tripeptídeos e aminoácidos únicos que são absorvidos por transportadores de aminoácidos e peptídeos. A presença das aminopeptidases confere uma vantagem adaptativa ao tornar a digestão de proteínas e a subsequente assimilação mais eficientes (BUARQUE et al., 2009). A leucino aminopeptidase (LAP) apresentou padrão similar das proteases alcalinas totais, ou seja, houve uma redução em sua atividade com o aumento da concentração da microalga. Esta enzima poderia estar

acompanhando o produto gerado por estas proteases, ou seja, suas atividades podem estar interligadas. No entanto, é importante salientar que a presença de compostos bioativos característicos das microalgas da família *Scenedesmaceae*, como polifenóis, exopolissacarídeos e proteínas estruturais, têm potencial para interagir com o sítio ativo ou alterar a estrutura tridimensional de algumas enzimas, prejudicando sua atividade catalítica (DANTAS et al., 2019; AMORIM et al., 2022; QUEIROZ, 2012; CAO et al., 2020; LIMA et al., 2023), demonstrando talvez um nível de tolerância fisiológica dos peixes aos compostos presentes na microalga (MORAES & ALMEIDA, 2020).

A atividade da lipase mostrou valores continuamente baixos em todos os tratamentos, contudo com a mesma tendência da protease alcalina total e da aminopeptidase. Alguns compostos bioativos encontrados na biomassa da *D. armatus*, como os polifenóis, podem, por exemplo, se ligar ao local ativo da lipase, impedindo sua função catalítica e, assim, diminuindo sua atividade (MARTINEZ-GONZALEZ et al., 2017). A atividade da amilase mostrou um aumento gradual com o incremento dos níveis de inclusão de *D. armatus* na dieta, com diferenças significativas registradas nos tratamentos de 1,5% e 2,0% em relação ao controle e aos menores níveis. Esses achados sugerem uma possível estimulação da atividade enzimática amilolítica relacionada à presença da microalga, associado a maior presença de carboidratos estruturais e solúveis na biomassa de *D. armatus*, como polissacarídeos e glicoconjugados, que podem promover a síntese e/ou a liberação de amilase, ampliando a capacidade digestiva do organismo (KROGDAHL et al., 2005; CAO et al., 2020; LIMA et al., 2023). Ibrahim et al. (2022), utilizando concentrações de 0,75%, 1,5% e 3% de um mix com *N. oculata*, *Schizochytrium* e *Spirulina* sp., também relataram aumento na atividade de amilase em tilápias. No entanto, é importante considerar que uma maior digestibilidade de carboidratos pode favorecer o acúmulo de lipídios (SILVEIRA et al., 2009), o que não foi observado no presente estudo.

A progressiva elevação da atividade de amilase em resposta aos maiores níveis de inclusão da microalga contrasta com o padrão observado para a lipase, que apresentou redução. Os peixes são capazes de ajustar a atividade de enzimas digestivas de acordo com a disponibilidade de substratos, priorizando enzimas associadas aos nutrientes mais abundantes (HOSEINIFAR et al., 2017; DURIGON et al., 2019). Nesse sentido, a maior proporção de carboidratos presentes na biomassa de *D. armatus* pode ter estimulado a síntese ou liberação de amilase como forma de maximizar a utilização desses nutrientes, compensando a menor atividade da enzima relacionada à digestão lipídica. Assim, os

resultados aqui obtidos indicam que a inclusão de *D. armatus* pode favorecer melhorias na digestão de carboidratos, potencialmente contribuindo para um melhor aproveitamento energético da dieta.

A avaliação morfométrica das vilosidades intestinais de *O. niloticus* revelou diferenças significativas entre os tratamentos. A altura, a base e o ápice das vilosidades atingiram seus maiores valores no tratamento com 1,0% de inclusão de *D. armatus*, indicando uma arquitetura intestinal mais desenvolvida. O controle e o tratamento com 0,5% apresentaram vilosidades com menor projeção da mucosa e morfologia mais compacta. Em contrapartida, os níveis mais elevados de inclusão de *D. armatus* resultaram em vilosidades mais longas, organizadas e com maior espessura da lâmina própria, características que indicam aumento da área absorptiva e, conseqüentemente, maior eficiência digestiva (SHERIF et al., 2024). Eldessouki et al. (2024) e Sherif et al. (2024) demonstraram que a inclusão de microalgas em baixos níveis podem promover o desenvolvimento das vilosidades intestinais, resultando em maior área de absorção e consecutivamente favorecendo a assimilação mineral.

O aumento da área absorptiva pode ser atribuído à presença de compostos bioativos na biomassa de *D. armatus*, como polissacarídeos, antioxidantes e micronutrientes que favorecem a proliferação e a diferenciação celular da mucosa intestinal (CAO et al., 2020; MOLINA-ROQUE et al., 2022; LIMA et al., 2023). No entanto, o efeito promotor da morfologia intestinal não foi observado nos demais níveis de inclusão, o que sugere uma resposta dose-dependente, com benefício máximo na concentração intermediária. Tais resultados corroboram estudos que evidenciam o potencial das microalgas *S. platensis* e *Haematococcus pluvialis*, em baixos níveis de inclusão, na modulação positiva da histomorfometria intestinal em peixes, refletindo em ganhos zootécnicos e em saúde intestinal (ELDESSOUKI et al., 2024; SHERIF et al., 2024).

Os níveis de glicose e triglicerídeos dos alevinos de tilápia do Nilo não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, o que sugere que a inclusão de *D. armatus* nas dietas não promove alterações relevantes no metabolismo energético e lipídico dos animais, nem desencadeia respostas de estresse fisiológico. A glicemia é um parâmetro sensível ao estresse, sendo frequentemente utilizada como indicador do equilíbrio metabólico em peixes (GOMES et al., 2005; SIMÕES & GOMES, 2009; SILVA et al., 2012), e sua constância reforça a adaptação dos organismos às dietas experimentais. Resultados obtidos dentro da faixa fisiológica observada por Hrubec et al. (2000) para tilápia – 39-96 mg/dL e observações semelhantes foram reportados por Ahmad et al. (2023) e Youssef et al. (2023), que também

observaram manutenção dos níveis de glicose em tilápias alimentadas com dietas suplementadas com *C. vulgaris* e *S. platensis*, respectivamente. Em relação aos triglicérides, apesar dos valores absolutos obtidos neste estudo serem superiores aos de alguns trabalhos prévios com *S. platensis* (AL-DERINY et al., 2020; YOUSSEF et al., 2023), a ausência de variações significativas entre os grupos experimentais reforça que a microalga *D. armatus* não comprometeu o metabolismo lipídico, corroborando a hipótese de que sua inclusão favoreceu a utilização eficiente dos nutrientes sem promover acúmulo excessivo de lipídios (JIA et al., 2024).

Os níveis de colesterol sérico apresentaram diferença estatística entre os tratamentos, porém, todas as médias permaneceram dentro da faixa fisiológica estabelecida para tilápias do Nilo, que varia entre 64 e 299 mg/dL (HRUBEC et al., 2000). Essa estabilidade dentro dos limites de referência indica que, apesar das pequenas variações observadas, a inclusão da microalga *D. armatus* não comprometeu o metabolismo lipídico dos animais. Em organismos saudáveis, equilíbrio nos níveis de colesterol é esperado como parte da resposta fisiológica a diferentes estímulos nutricionais, sem implicar necessariamente em alterações na saúde dos animais (XU et al., 2018). Dessa forma, a manutenção dos valores de colesterol dentro da normalidade reforça que os níveis utilizados da microalga foram bem tolerados pelos peixes, sem causar impactos negativos à homeostase lipídica.

Os níveis de atividade da amilase sérica apresentaram diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos, com o maior valor observado no grupo controle e o menor no nível de inclusão de 1,5% de *D. armatus*. A amilase é uma enzima associada à digestão de carboidratos, e concentrações excessivamente elevadas, quanto muito reduzidas podem indicar distúrbios pancreáticos e hepáticos (WINAWER et al., 1965; JALAL et al., 2023). Ainda assim, considerando que os indicadores de estresse hepático não demonstraram prejuízos consistentes, a variação na atividade da amilase parece representar uma oscilação fisiológica dentro dos limites de normalidade.

As enzimas Transaminase Glutâmico-Oxalacética (TGO) e Transaminase Glutâmico-Pirúvica (TGP) são conhecidas como biomarcadores de integridade e função hepática (VALI et al., 2020). No presente estudo, os níveis de TGO não apresentaram diferenças significativas e permaneceram dentro dos limites fisiológicos observados por Hrubec et al. (2000), indicando estabilidade na função hepática. Esses resultados corroboram os de Youssef et al. (2023) e Sherif et al. (2024), com *S. platensis*, e Ahmad et al. (2023), com *C. vulgaris*, na alimentação de tilápias. Por outro lado, a TGP, uma enzima mais específica do

figado, apresentou redução nos tratamentos suplementados com *D. armatus* em comparação ao controle, entretanto todos os tratamentos estiveram dentro de um nível em condições controladas (BAVIA et al., 2024). Resultados semelhantes foram relatados por Ahmad *et al.* (2023) utilizando *C. vulgaris*, que observaram, após 60 dias, diminuição nos níveis de TGP, mesmo que não significativa, em tilápia do Nilo.

Os níveis de proteína sérica apresentaram aumento significativo nos tratamentos com inclusão de *D. armatus* em relação ao controle. Esse aumento pode refletir uma melhora na capacidade de síntese proteica ou um reforço no estado nutricional e imunológico dos animais, uma vez que a proteína sérica pode ser utilizada como indicador do estado fisiológico, imunidade e metabolismo proteico dos peixes (ESMAEILI, 2021). Os valores obtidos estão de acordo com os relatados por Sherif et al. (2024), que testaram *S. platensis* em níveis de inclusão e observaram diferenças significativas entre os tratamentos, com destaque para o nível de 1%, que apresentou o maior resultado.

Os níveis séricos de albumina não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, sugerindo que a suplementação com *D. armatus* não interferiu na produção hepática da albumina, que é essencial para o transporte de substâncias no sangue (PATRICHE & PATRICHE, 2008). Por outro lado, observou-se aumento significativo nos níveis de globulina nos grupos que receberam a microalga. Esse resultado pode estar relacionado a uma ativação da resposta imune dos animais, já que as globulinas incluem proteínas ligadas à defesa do organismo, como as imunoglobulinas (THERMO FISHER SCIENTIFIC, 2025). Esse tipo de resposta é positiva, especialmente em ambientes de cultivo em que os peixes estejam sujeitos a quaisquer desafios sanitários. Mesmo com o aumento da globulina, a relação albumina/globulina (A/G) se manteve estável entre os tratamentos, sugerindo a preservação do equilíbrio entre proteínas de origem hepática e imune.

A inclusão de *D. armatus* na dieta das tilápias promoveu melhora nos parâmetros séricos, com destaque para os níveis de albumina, especialmente no tratamento com 1,0% de inclusão, que apresentou os melhores resultados. Esse efeito pode estar relacionado à presença de compostos bioativos, como exopolissacarídeos e carotenoides, conhecidos por suas propriedades imunomoduladoras (CAO et al., 2020; LIMA et al., 2023). Além disso, os níveis de TGO permaneceram dentro da faixa fisiológica descrita por Hrubec et al. (2000) e TGP apresentou redução com a inclusão da microalga, indicando que a suplementação não provocou estresse hepático. Os resultados deste estudo sugerem que a inclusão de 1,0% de

D. armatus na dieta de *O. niloticus* é capaz de promover efeitos benéficos sobre a imunidade sem comprometer a homeostase hepática.

2.5. CONCLUSÃO

A inclusão da microalga *D. armatus* em dietas para tilápias do Nilo, especialmente nos níveis de 1,0% e 1,5%, mostrou-se eficaz para promover ganhos zootécnicos, como melhora no crescimento, conversão alimentar e eficiência proteica, sem comprometer a composição corporal. Os dados fisiológicos e bioquímicos indicaram estabilidade metabólica, com destaque para a manutenção de TGO, TGP e triglicerídeos dentro dos valores fisiológicos, reforçando a segurança do uso da microalga. Além disso, foram observados efeitos positivos na morfologia intestinal e na atividade das principais enzimas digestivas, principalmente nos níveis de 1,0% e 1,5%, sugerindo melhor capacidade digestiva e absorptiva. Esses resultados indicam que *D. armatus* representa uma alternativa funcional promissora na formulação de dietas sustentáveis para tilápias cultivadas em sistemas intensivos.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente pesquisa permitiu avaliar os efeitos da inclusão da microalga *Desmodesmus armatus* como alimento funcional em dietas de juvenis de tilápia do Nilo, explorando sua influência sobre parâmetros zootécnicos, centesimais, bioquímicos, digestivos, antioxidantes e intestinais. Os resultados obtidos evidenciam que a inclusão da microalga, em níveis moderados, é segura e pode contribuir positivamente para determinados aspectos fisiológicos e metabólicos dos peixes, sem comprometer o desempenho produtivo ou a integridade intestinal.

Dentre os níveis testados, observou-se que a inclusão de 1,0% de *D. armatus* apresentou efeitos benéficos sobre a atividade de enzimas digestivas proteolíticas, parâmetros antioxidantes e a morfometria das vilosidades intestinais, sugerindo melhora na absorção e na integridade intestinal. A manutenção dos parâmetros fisiológicos, associada à ausência de efeitos adversos sobre o crescimento e a composição corporal, reforça o potencial da microalga como ingrediente funcional promissor em dietas para tilápias cultivadas em sistemas intensivos.

Nesse sentido, os achados desta pesquisa contribuem para o avanço do conhecimento científico sobre o uso sustentável de recursos naturais alternativos na alimentação aquícola. A utilização de *D. armatus*, pode representar uma estratégia viável para promover a

sustentabilidade e a inovação no setor aquícola, favorecendo práticas mais ecológicas.

Entretanto, considerando os diferentes níveis de resposta entre os parâmetros analisados, futuros estudos devem investigar os efeitos de concentrações nos intervalos próximos a 1,0%. Além disso, são recomendadas investigações de longo prazo, que incluam desafios sanitários e diferentes fases do ciclo produtivo, para consolidar o uso *de D. armatus* como alimento funcional em dietas comerciais para tilápias.

4. REFERÊNCIAS

Abdel-Tawwab, M.; Khalil, R. H.; Abdel-Razek, N.; Younis, N. A.; Shady, S. H. H.; Monier, M. N.; Abdel-Latif, H. M. R. Dietary effects of microalga *Tetraselmis suecica* on growth, antioxidant-immune activity, inflammation cytokines, and resistance of Nile tilapia fingerlings to *Aeromonas sobria* infection. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 108, p. 511–526, 2023. <https://doi.org/10.1111/jpn.13911>.

Aebi H (1984) Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 105:121–126

Ahmad, M. T.; Shariff, M.; Goh, Y. M.; Banerjee, S.; Yusoff, F. M. Interaction of low-level dietary supplementation of *Chlorella vulgaris* Beijerinck, 1890, and feeding duration on growth hormone, growth performance and serum biochemistry of red hybrid tilapia (*Oreochromis mossambicus* × *Oreochromis niloticus*). **Journal of Fish Biology**, v. 103, n. 3, p. 715–726, 2023. <https://doi.org/10.1111/jfb.15469>.

Al-Deriny, S. H.; Dawood, M. A. O.; Abou-Zaid, A. A.; El-Tras, W. F.; Paray, B. A.; Doan, H. V.; Mohamed, R. A. The synergistic effects of *Spirulina platensis* and *Bacillus amyloliquefaciens* on the growth performance, intestinal histomorphology, and immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture Reports**, v. 17, p. 100390, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100390>.

Alemayehu, T.; Geremew, A.; Getahun, A. The role of functional feed additives in tilapia nutrition. **Fisheries and Aquaculture Journal**, v. 9, 2018. <https://doi.org/10.4172/2150-3508.1000249>.

Amorim, A. P.; Da Silva, G. H.; Brandão, R. M. P.; Porto, A. L. F.; Bezerra, R. P. Algae as a source of peptides inhibitors of the angiotensin-converting enzyme: a systematic review. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 94, n. 2, e20201636, 2022. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202220201636>.

Amri, A.; Kessabi, K.; Bouraoui, Z.; Sakli, S.; Gharred, T.; Guerbej, H.; Messaoudi I.; Jebali, J. Effect of melatonin and folic acid supplementation on the growth performance, antioxidant status, and liver histology of the farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) under standard rearing conditions. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 46, p. 2265–2280, 2020, <https://doi.org/10.1007/s10695-020-00879-5>.

Annamalai, S. N.; Das, P.; Thaher, M. I. A.; Quadir, M. A.; Khan, S.; Mahata, C.; Al Jabri, H. Nutrients and energy digestibility of microalgal biomass for fish feed applications. **Sustainability**, v. 13, n. 23, p. 13211, 2021. <https://doi.org/10.3390/su132313211>.

Araújo, M.C.; Assis, C.R.D.; Silva, K.C.C.; Souza, K.S.; Azevedo, R.S.; Alves, M.H.M.E.; Silva, L.C.; Silva, V.L.; Adam, M.L.; Junior, L.B. C.; Souza, R.B.; Oliveira, M.B.M. Characterization of brain acetylcholinesterase of bentonic fish *Hoplosternum littorale*: Perspectives of application in pesticides and metal ions biomonitoring. **Aquatic Toxicology** 205, 213–226. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.10.017>.

Aryee, A. N.; Simpson, B. K.; Villalonga, R. Lipase fraction from the viscera of grey mullet (*Mugil cephalus*): Isolation, partial purification and some biochemical characteristics. **Enzyme and Microbial Technology**, 40(3), 394-402. 2007. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2006.07.009>

Awad, L. Z.; El-Mahallawy, H. S.; Abdelnaeim, N. S.; Mahmoud, M. A.; Dessouki, A. A.; Elbanna, N. I. Role of dietary *Spirulina platensis* and betaine supplementation on growth, hematological, serum biochemical parameters, antioxidant status, immune responses, and disease resistance in Nile tilapia. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 126, p. 122-130, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.05.040>.

Ayala, A.; Muñoz, M. F.; Argüelles, S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2014, 360438, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/360438>.

Bavia, L.; Da Silva, A. P.; Carneiro, M. C.; Kmecick, M.; Pozzan, R.; Esquivel-Muelbert, J.; Isaac, L.; Prodocimo, M. M. Health status biomarkers and hemato-biochemical indices in Nile tilapia. **Comparative Immunology Reports**, 7, 200168. 2024. <https://doi.org/10.1016/j.cirep.2024.200>

Bernfeld, P. Amylases, α and β . SP Colowick, NO Kaplan (Eds.), Eds.), *Methods in Enzymology*, **Academic Press**, New York (1955), pp. 149-158; 1955. [http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879\(55\)01021-5](http://dx.doi.org/10.1016/0076-6879(55)01021-5)

Bezerra, R.S.; Lins, E.J.F.; Alencar, R.B.; Paiva, P.M.G.; Chaves, M.E.C.; Coelho, L.C.B.B.; Junior, L.B.C. Alkaline proteinase from intestine of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Process Biochemistry**, v. 40, n. 5, p. 1829–1834, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.06.066>

Boscolo, W. R.; Hayashi, C.; Meurer, F.; Feiden, A.; Bombardelli, R. A.; Reidel, A. Farinha de resíduos da filetagem de tilápias na alimentação de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) na fase de reversão sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6, p. 1807–1812, 2005. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982005000600002>.

Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem** 72:248–254. 1976. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).

Buarque, D.S.; Castro, P.F.; Santos, F.M.S.; Lemos, D.; Júnior, L.B.C; Bezerra, R.S. Digestive peptidases and proteinases in the midgut gland of the pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). **Aquaculture Research**, 40 (7), 861-870. 2009. <https://doi.org/10.1590/S1516-3598200500060000210.1111/j.1365-2109.2009.02183.x>.

Candiotto, F.B. Caracterização de enzimas digestórias do linguado (*Paralichthys orbignyanus*). 2013. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS, Brasil.

Cao, M.; Wang, S.; Gao, Y.; Pan, X.; Wang, X.; Deng, R.; Liu, P. Study on physicochemical properties and antioxidant activity of polysaccharides from *Desmodesmus armatus*. **Journal of Food Biochemistry**, v. 44, e13243, 2020. <https://doi.org/10.1590/S1516-3598200500060000210.1111/jfbc.13243>

Chowdhury, S.; Mandal, G.P.; Patra, A.K.; Kumar, P.; Samanta, I.; Pradhan, S.; Samanta, A. K. Different essential oils in diets of broiler chicken: 2. Gut microbes and morphology, immune response, and some blood profile and antioxidant enzymes. **Animal Feed Science and Technology**, v. 236, p. 39–47, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.12.003>.

Dantas, D.M.M.; Oliveira, C.Y.B.; Costa, R.M.P.B.; Carneiro-da-Cunha, M.G.; Gálvez, A. O.; Bezerra, R.S. Evaluation of antioxidant and antibacterial capacity of green microalgae *Scenedesmus subspicatus*. **Food Science and Technology International**, v. 25, n. 4, p. 318-326, 2019. <https://doi.org/10.1177/1082013218825024>.

Durigon, E.G.; Almeida, A.P.G.; Jerônimo, G.T.; Baldisserotto, B.; Emerenciano, M.G.C. Digestive enzymes and parasitology of Nile tilapia juveniles raised in brackish biofloc water and fed with different digestible protein and digestible energy levels. **Aquaculture**, v. 506, p. 35–41, 2019. ISSN 0044-8486. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.03.022>.

Eldessouki, E.A.A.; Elshopakey, G.E.; Elbahnaswy, S.; Shakweer, M.S.; Abdelwarith, A.A.; Younis, E.M.; Davies, S.J.; Mili, A.; El-Aziz, Y.M.A.; Abdelnour, S.A.; Eissa, E.S.H. Influence of astaxanthin-enriched microalgae *Haematococcus pluvialis* on growth efficacy, immune response, antioxidant capacity, pro-inflammatory cytokines, and tissue histomorphology of hybrid red tilapia. **Aquaculture International**, v. 32, p. 7447–7468, 2024. <https://doi.org/10.1007/s10499-024-01524-1>

El-Sayed, A. F. M. Tilapia Culture. 2. ed. London: Academic Press, 2019. ISBN 978-0-12-816509-6. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816509-6.00001-6>.

El-Sayed, A. F. M. Tilapia Culture. 2. ed. San Diego: Academic Press, 2020. ISBN-10: 0-85199-014-2

Esmaili, M. Blood Performance: A New Formula for Fish Growth and Health. **Biology**, v. 10, n. 12, 1236, 2021. <https://doi.org/10.3390/biology10121236>.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2024 – Blue Transformation in action. Rome: FAO, 2024. [HTTPS://DOI.ORG/10.4060/cd0683en](https://doi.org/10.4060/cd0683en); ISBN: 978-92-5-138763-4

Ferreira, P.M.; Caldas, D.W.; Salaro, A.L.; Sartori, S.S.R.; Oliveira, J.M.; Cardoso, A.J.S.; Zuanon, J.A.S. Intestinal and liver morphometry of the Yellow Tail Tetra (*Astyanax altiparanae*) fed with oregano oil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, n. 2, p. 911–922, 2016. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201620150202>.

Furuya, W.M. Nutrição de tilápias no brasil. *Varia Scientia Agrárias*, [S. l.], v. 3, n. 1, p. 133–150, 2013. ISSN: 2177-3165

Furuya, W.M. Tabelas brasileiras para nutrição das Tilápias. Toledo: GFM, 100p, 2010. ISBN: 978-85-60308-14-9

Furuya, W.M.; Pezzato, L.E.; Barros, M.M.; Pezzato, A.C.; Furuya, V.R.B.; Miranda, E.C. Use of ideal concept for precision formulation of amino acid levels in fish-meal-free diets for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture Research**, v. 35, p. 1110-1116, 2004. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2004.01133.x>.

Galafat, A.; Vizcaíno, A.J.; Sáez, M.I.; Martínez, T.F.; Jérez-Cepa, I.; Mancera, J.M.; Alarcón, F.J. Evaluation of Arthrospira sp. enzyme hydrolysate as dietary additive in gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. **Journal of Applied Phycology**, v. 32, p. 3089–3100, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02141-0>.

Garrido-Cardenas, J.A.; Terrazas, E.; González-Conejero, J.A.; Manuel, C.M. Microalgae research worldwide. **Algal Research**, v. 35, p. 50–60, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.08.005>

Gomes, L. C.; Chagas, E. C.; Crescêncio, R.; Pessoa, M. A.; Silva, A. L. F.; Carvalho, E. S.; Andrade Junior, G.; Brito, M. V. T.; Porto, M. S. A. Validation of a simple portable instrument for measurement of blood glucose in four amazon fishes. In: **Simpósio Internacional de Aquicultura**, 2005. Anais. Manaus: INPA, 2005. p. 101-109. ISSN: 2229-5380.

Gomiero, L.M.; Villares-Junior, G.A.; Braga, F.M.S. Relação peso-comprimento e fator de condição de *Oligosarcus hepsetus* (Cuvier, 1829) no Parque Estadual da Serra do Mar - Núcleo Santa Virgínia, Mata Atlântica, estado de São Paulo, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 10, n. 1, p. 101-105, 2010. <https://doi.org/10.1590/S1676-06032010000100009>

Hayatgheib, N.; Moreau, E.; Calvez, S.; Lepelletier, D.; Pouliquen, H. A review of functional feeds and the control of *Aeromonas* infections in freshwater fish. **Aquaculture International**, v. 28, p. 1083–1123, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10499-020-00514-3>.

Heluy, G.M.; Silva, M.A.; Vasconcelos, V.C.; Arcanjo, J.D.C.; Souza, D.L.; Araújo, M.T.; Cahú, T.B.; Veras, B.O.; Cavalli, R.O.; Ludke, M.C.M.M.; Santos, J.F.; Bezerra, R.S. Comparative evaluation of two shrimp head meals as dietary ingredients for Nile tilapia *Oreochromis niloticus*: Effects on nutrient digestibility, amino acid chemical score, growth performance, digestive enzyme activity and antioxidant parameters. **Animal Feed Science and Technology**, v. 329, 2025, 116492. <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2025.116492>.

Hoseinifar, S.H.; Dadar, M.; Ringø, E. Modulation of nutrient digestibility and digestive enzyme activities in aquatic animals: The functional feed additives scenario. **Aquaculture Research**, v. 48, n. 8, p. 1–14, 2017. <https://doi.org/10.1111/are.13368>.

Hrubec, T.C.; Cardinale, J.L.; Smith, S.A. Hematology and Plasma Chemistry Reference Intervals for Cultured Tilapia (*Oreochromis Hybrid*). **Veterinary Clinical Pathology**, v. 29, n. 1, p. 7–12, 2000. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165x.2000.tb00389.x>

Huang, J.; Chen, D.; Jin, J.; Xie, R.; Lu, Y.; Amenyogbe, E. Effects of formulated diet and frozen fresh fish on growth, serum biochemical indexes, liver antioxidant, and lipid metabolism of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture Research**, v. 2023, 2544013, 15 p., 2023. <https://doi.org/10.1155/2023/2544013>.

Ibrahim, D.; El-Hamid, M.I.A.; Al-Zaban, M.I.; Elhady, M.; El-Azzouny, M.M.; Elfeky, T.M.; Sadik, G.M.A.; Samy, O.M.; Hamed, T.A.; Albalwe, F.M.; Alenezi, M.A.; Omar, A.E. Impacts of Fortifying Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Diet with Different Strains of Microalgae on Its Performance, Fillet Quality and Disease Resistance to *Aeromonas hydrophila* Considering the Interplay between Antioxidant and Inflammatory Response. **Antioxidants**, v. 11, n. 11, 2181, 2022. <https://doi.org/10.3390/antiox11112181>.

Jalal, M.; Gbadegesin, S.A.; Tehami, N.; Nakajima, K. What is the clinical significance of low serum amylase? Systematic review of the conditions associated with low serum amylase. **Frontline Gastroenterology**, v. 15, n. 2, p. 154–161, 2023. <https://doi.org/10.1136/flgastro-2023-102405>.

Jia, R.; Hou, Y.; Zhang, L.; Li, B.; Zhu, J. Effects of Berberine on Lipid Metabolism, Antioxidant Status, and Immune Response in Liver of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) under a High-Fat Diet Feeding. **Antioxidants**, v. 13, n. 5, 548, 2024. <https://doi.org/10.3390/antiox13050548>.

Jomova, K.; Alomar, S.Y.; Alwasel, S.H.; Nepovimova, E.; Kuca, K.; Valko, M. Several lines of antioxidant defense against oxidative stress: antioxidant enzymes, nanomaterials with multiple enzyme-mimicking activities, and low-molecular-weight antioxidants. **Archives of Toxicology**, v. 98, p. 1323–1367, 2024. <https://doi.org/10.1007/s00204-024-03696-4>

Kiron, V.; Sørensen, M.; Huntley, M.; Vasanth, G. K.; Gong, Y.; Dahle, D.; Palihawadana, A. M. Defatted Biomass of the Microalga, *Desmodesmus* sp., Can Replace Fishmeal in the

Feeds for Atlantic Salmon. **Frontiers in Marine Science**, v. 3, p. 67, 2016. <https://doi.org/10.3389/fmars.2016.00067>.

Krogdahl, A.; Hemre, G.I.; Mommsen, T.P. Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. **Aquaculture Nutrition**, v. 11, p. 103–122, 2005. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2004.00327.x>.

Li, R.X.; Qian, Y.F.; Zhou, W.H.; Wang, J.X.; Zhang, Y.Y.; Luo, Y.; Qiao, F.; Chen, L.Q.; Zhang, M.L.; Du, Z.Y. The Adaptive Characteristics of Cholesterol and Bile Acid Metabolism in Nile Tilapia Fed a High-Fat Diet. **Aquaculture Nutrition**, v. 2022, 8016616, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/8016616>.

Lima, A.S.P.; Cahú, T.B.; Dantas, D.M.M.; Veras, B.O.; Oliveira, C.Y.B.; Souza, R.S.; Moraes, L.B.S.; Silva, F.C.O.; Araújo, M.I.F.; Gálvez, A.O.; Souza, R.B. Accessing the biotechnological potential of a novel isolated microalga from a semi-arid region of Brazil. **Food Science and Technology International**, v. 31, n. 2, p. 128-141, 2023. <https://doi.org/10.1177/10820132231186171>.

Martinez-Gonzalez, A.I.; Alvarez-Parrilla, E.; Díaz-Sánchez, Á.G.; De La Rosa, L.A.; Núñez-Gastélum, J.A.; Vazquez-Flores, A A.; Gonzalez-Aguilar, G.A. *In vitro* inhibition of pancreatic lipase by polyphenols: a kinetic, fluorescence spectroscopy and molecular docking study. **Food Technology and Biotechnology**, v. 55, n. 4, p. 519–530, 2017. <https://doi.org/10.17113/ftb.55.04.17.5138>.

Meng, Y.; Tian, H.; Hu, X.; Han, B.; Li, X.; Li, C.; Ma, R. Effects of dietary lipid levels on the lipid deposition and metabolism of subadult triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture Nutrition**, artigo 6924835, 12 p., 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/6924835>.

Mohamad, A.; Yamkasem, J.; Paimeeka, S.; Khemthong, M.; Lertwanakarn, T.; Setthawong, P.; Nuez-Ortín, W. G.; Isern Subich, M.; Surachetpong, W. Efficacy of feed additives on immune modulation and disease resistance in tilapia in coinfection model with *Tilapia Lake Virus* and *Aeromonas hydrophila*. **Biology**, v. 13, n. 11, 938, 2024. <https://doi.org/10.3390/biology13110938>.

Molina-Roque, L.; Bárany, A.; Sáez, M.I.; Alarcón, F.J.; Tapia, S.T.; Fuentes, J.; Mancera, J.M.; Perera, E.; Martos-Sitcha, J.A. Biotechnological treatment of microalgae enhances growth performance, hepatic carbohydrate metabolism and intestinal physiology in gilthead

seabream (*Sparus aurata*) juveniles close to commercial size. **Aquaculture Reports**, v. 25, 101248, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101248>.

Moraes, G.; Almeida, L.C. Nutrition and functional aspects of digestion in fish. In: Baldisserotto, B.; URBIÑATI, E. C.; CYRINO, J. E. P. (Ed.). *Biology and Physiology of Freshwater Neotropical Fish*. 1. ed. Londres: Academic Press, 2020. p. 251–271. ISBN: 9780128158722.

Morita, M.M.; Tada, S.; Suzuki, S.; Hattori, R.; Marui, J.; Furukawa, I.; Yamagata, Y.; Amano, H.; Ishida, H.; Takeuchi, M.; Kashiwagi, Y.; Kusumoto, K.I. Overexpression and characterization of an extracellular leucine aminopeptidase from *Aspergillus oryzae*. **Current Microbiology**, v. 62, p. 557–564, 2011. <https://doi.org/10.1007/s00284-010-9744-9>

Muller-Feuga, A. The role of microalgae in aquaculture: situation and trends. **Journal of Applied Phycology**, v. 12, n. 3, p. 527–534, 2000. <https://doi.org/10.1023/a:1008106304417>.

Nagappan, S.; Das, P.; Abdulquadir, M.; Taher, M.; Khan, S.; Mahata, C.; Al-Jabri, H.; Vatland, A. K.; Kumar, G. Potential of microalgae as a sustainable feed ingredient for aquaculture. **Journal of Biotechnology**, v. 341, p. 1–20, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2021.09.003>.

Naylor, R.L.; Hardy, R.W.; Buschmann, A.H.; Bush, S.R.; Cao, L.; Klinger, D.H.; Little, D.C.; Lubchenco, J.; Shumway, S. E.; Troell, M. A 20-year retrospective review of global aquaculture. **Nature**, v. 591, p. 551–563, 2021. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03308-6>.

NG, W. K.; Romano, N. A review of the nutrition and feeding management of farmed tilapia throughout the culture cycle. **Reviews in Aquaculture**, v. 5, n. 4, p. 220–254, 2013. <https://doi.org/10.1111/raq.12014>.

Oliveira, A. J. de. Monitoramento do estresse oxidativo e da atividade da acetilcolinesterase na avaliação da condição fisiológica de peixes do Baixo São Francisco. 2013. Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió.

Onomu, A. J.; Okuthe, G. E. The role of functional feed additives in enhancing aquaculture sustainability. **Fishes**, v. 9, n. 5, p. 167, 2024. <https://doi.org/10.3390/fishes9050167>.

Panis, G.; Carreon, J. R. Commercial astaxanthin production derived by green alga *Haematococcus pluvialis*: A microalgae process model and a techno-economic assessment all through production line. **Algal Research**, v. 18, p. 175–190, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.06.007>

Patriche, T.; Patriche, N. Determination of protein fractions in the blood of the high economic value fish farmed species in Romania. **Bulletin of the University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine**, Cluj-Napoca, v. 65, n. 1, p. 45-50, 2008.

Peng, M.; Xu, W.; Ai, Q.; Mai, K.; Liufu, Zhang, K. Effects of nucleotide supplementation on growth, immune responses and intestinal morphology in juvenile turbot fed diets with graded levels of soybean meal (*Scophthalmus maximus* L.). **Aquaculture**, v. 392, p. 51–58, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.02.002>.

Pérez-Jiménez, A.; Hidalgo, M. C.; Morales, A. E.; Arizcun, M.; Abellán, E.; Cardenete, G. Antioxidant enzymatic defenses and oxidative damage in *Dentex dentex* fed on different dietary macronutrient levels, **Comparative Biochemistry and Physiology. Part C: Toxicology & Pharmacology**, V. 150, Issue 4, 2009, Pages 537-545, ISSN 1532-0456, <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2009.07.011>.

Queiroz, E. R. Frações de lichia: caracterização química e avaliação de compostos bioativos. 2012. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

Sáez, M.I.; Galafat, A.; Vizcaíno, A.J.; Chaves-Pozo, E.; Ayala, M.D.; Arizcun, M.; Alarcón, F.J.; Suárez, M.D.; Martínez, T.F. Evaluation of *Nannochloropsis gaditana* raw and hydrolysed biomass at low inclusion level as dietary functional additive for gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. **Aquaculture**, v. 556, artigo 738288, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738288>.

Sherif, E.M.; Abd El-Razek, I.M.; El-Sharawy, M.E.; Amer, A.A.; Zaineldin, A.I.; Gewaily, M.S.; Ashry, A.M.; Younis, N.A.; Ahmed, H.A.; Dawood, M.A.O. Growth performance, antioxidative status, and immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed dietary fermented *Spirulina platensis*. **Aquaculture Reports**, v. 39, 102324, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2024.102324>.

Silva, D.J.; Queiroz, A.C. Análises de alimentos: métodos químicos e biológicos. 3. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2009. 235 p.

Silveira, J.; Silva, R.A.; Oliveira, M.A. Utilização e metabolismo dos carboidratos em peixes. **Revista Nutritime**, v. 6, n. 4, p. 789–798, 2009.

Simões, L.N.; Gomes, L.C. Eficácia do mentol como anestésico para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 2009. Anais... Belo Horizonte: UFMG, 2009. p. 613-620.

Sokal, R.R.; Rohlf, F.J. Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. New York: W. H. Freeman and Company, 1995. 850p.

Sorokin, B.; Gusev, E.; Namsaraev, Z.; Emelianova, A.; Patova, E.; Novakovskaya, I.; Vinokurov, V.; Kuzmin, D. Effect of microalgae feed supplementation on growth performance and feeding efficiency of tilapia fry. **Journal of Applied Phycology**, v. 36, p. 1767–1780, 2024. <https://doi.org/10.1007/s10811-024-03232-y>.

Štěrbová, K.; Manoel, J.; Lakatos, J. E.; Grivalský, T.; Masojídek, J. Microalgae as an aquaculture feed produced in a short light path annular column photobioreactor. **Journal of Applied Phycology**, v. 35, p. 603–611, 2023. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1624791/v1>

Thermo Fisher Scientific. Introduction to Immunoglobulins. Available at: <<https://www.thermofisher.com>>. Accessed on: May 20, 2025.

Vali, S.; Mohammadi, G.; Tavabe, K. R.; Moghadas, F.; Naserabad, S. S. The effects of silver nanoparticles (Ag-NPs) sublethal concentrations on common carp (*Cyprinus carpio*): Bioaccumulation, hematology, serum biochemistry and immunology, antioxidant enzymes, and skin mucosal responses. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 194, 110353, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110353>.

Vilvert, M.P.; Silva, E.D.; Rodhermel, J.C.B.; Stockhausen, L.; Andrade, J.I.A.D.; Jatobá, A. Influence of taurine on the zootechnical performance and health parameters of juvenile Nile tilapia in a recirculating aquaculture system. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 96, n. 2, e20230892, 2024. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202420230892>.

Winawer, S. J.; Broitman, S. A.; Gottlieb, L. S.; Zamcheck, N. The serum and liver amylase and transaminase activities in choline deficiency fatty liver and cirrhosis. **Gastroenterology**, v. 48, n. 2, p. 216–225, 1965. [https://doi.org/10.1016/s0016-5085\(65\)80140-8](https://doi.org/10.1016/s0016-5085(65)80140-8).

Xu, C.; Li, E.; Xu, Z.; Su, Y.; Lu, M.; Qin, J. G.; Chen, L.; Wang, X. Growth and stress axis responses to dietary cholesterol in Nile tilapia (***Oreochromis niloticus***) in brackish water. **Frontiers in Physiology**, v. 9, p. 254, 2018. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00254>.

Youssef, I. M. I.; Saleh, E. S. E.; Tawfeek, S.S.; Abdel-Fadeel, A.A.A.; Abdel-Razik, A.R.H. Abdel-Daim, A.S.A. Effect of *Spirulina platensis* on growth, hematological, biochemical, and immunological parameters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Tropical Animal Health and Production**, v. 55, p. 275, 2023. <https://doi.org/10.1007/s11250-023-03690-5>.

Zavarize, K. C.; Menten, J. F. M.; Traldi, A. B.; Santarosa, J.; Da Silva, C. L. S. Utilização de glutamina na nutrição de monogástricos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 105, p. 573–576, 2010.