

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL**  
**CAMPUS LARANJEIRAS DO SUL**  
**CURSO DE ENGENHARIA DE AQUICULTURA**

**MILENA CIA RETCHESKI**

**EFEITO DA ORA-PRO-NÓBIS (*Pereskia aculeata*) NA DIETA DE TILÁPIAS  
(*Oreochromis niloticus*) SOBRE A ATIVIDADE DE ENZIMAS DIGESTIVAS E  
PERFIL BIOQUÍMICO**

**LARANJEIRAS DO SUL**

**2022**

**MILENA CIA RETCHESKI**

**EFEITO DA ORA-PRO-NÓBIS (*Pereskia aculeata*) NA DIETA DE TILÁPIAS  
(*Oreochromis niloticus*) SOBRE A ATIVIDADE DE ENZIMAS DIGESTIVAS E  
PERFIL BIOQUÍMICO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Engenharia de Aquicultura da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do título de bacharel em Engenharia de Aquicultura.

Orientador: Prof. Dra. Luisa Helena Cazarolli

**LARANJEIRAS DO SUL**

**2022**

## Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Retcheski, Milena Cia

EFEITO DA ORA-PRO-NÓBIS (*Pereskia aculeata*) NA DIETA DE TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*) SOBRE A ATIVIDADE DE ENZIMAS DIGESTIVAS E PERFIL BIOQUÍMICO / Milena Cia Retcheski. -- 2022.

32 f.:il.

Orientadora: Dra Luisa Helena Cazarolli

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de Bacharelado em Engenharia de Aquicultura, , 2022.

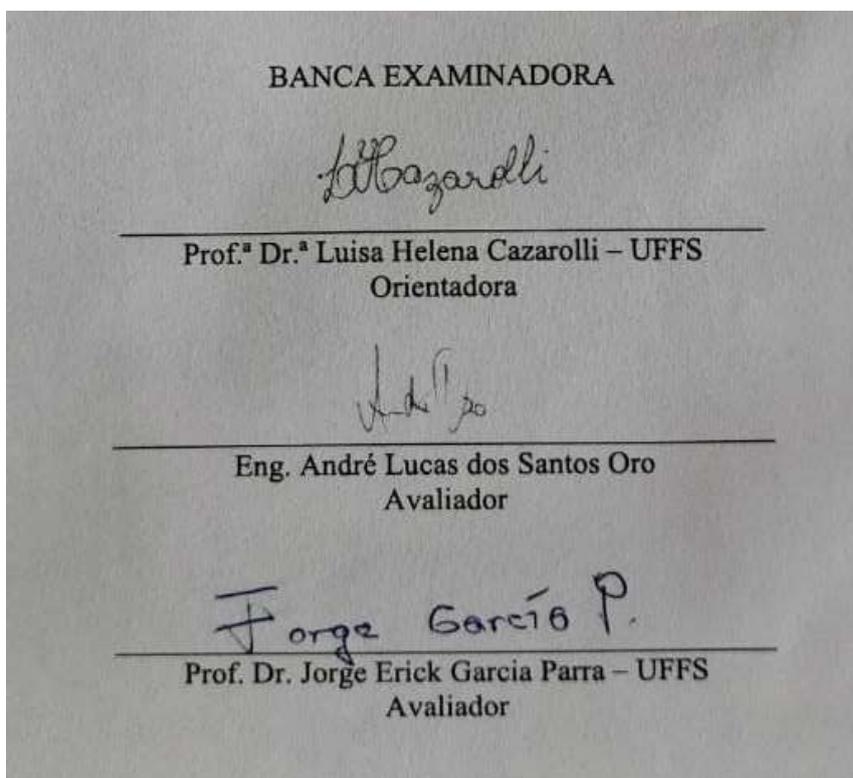
I. Cazarolli, Luisa Helena, orient. II. Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

**MILENA CIA RETCHESKI**

**EFEITO DA ORA-PRO-NÓBIS (*Pereskia aculeata*) NA DIETA DE TILÁPIAS  
(*Oreochromis niloticus*) SOBRE A ATIVIDADE DE ENZIMAS DIGESTIVAS E  
PERFIL BIOQUÍMICO**

Trabalho de conclusão de curso de graduação como requisito para obtenção de grau de Bacharel em Engenharia de Aquicultura da Universidade Federal da Fronteira Sul.

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 16/05/2022



Dedico este trabalho a minha família e a minha orientadora, que não pouparam esforços para que eu pudesse concluir meus estudos.

## AGRADECIMENTOS

O agradecimento inicial é a Deus que esteve sempre me dando formas para chegar até aqui.

A minha família, que sempre me apoiou e esteve comigo em todos os momentos da graduação.

Um agradecimento especial vai a minha mãe Adriana Cia, que foi sempre um exemplo como mulher e guerreira, e meus irmãos, Mariana Cia Retcheski e Murillo Cia Retcheski que mesmo sendo a “menos irmã” sempre foram o meu ponto de equilíbrio e calma.

Ao meu amigo Keveen Jhonathan Soares Escorsin que nunca me deixou desanimar, nos momentos de maior pressão durante o período de graduação. E aos meus veteranos, Maria Alice, André Oro e Valmir que me mostraram os caminhos para seguir na profissão.

Também lembrando das minhas amigas de escola Amanda Beatriz Santos da Silva e Gabriela Oliveira que foram sempre uma fonte de inspiração e de força mesmo estando longe.

As minhas orientadoras Luisa Helena Cazarolli e Silvia Romão, que me orientaram em todo o período de graduação que dedicaram tempo para ensinaram e me motivar na caminhada. E a minha orientadora por aceitar esse desafio comigo.

## RESUMO

Uma das espécies de peixe mais produzidas na aquicultura brasileira e mundial é a tilápia do Nilo. Dentre os desafios da piscicultura, encontra-se a produção de animais de qualidade. Para isso, um dos fatores de alta relevância é a questão nutricional dos animais e o seu equilíbrio fisiológico. Com isso buscamos encontrar compostos não convencionais que possam ser utilizados na alimentação dos peixes. Esse trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da inclusão da farinha de *Pereskia aculeata* na dieta de *Oreochromis niloticus* sobre a atividade das enzimas digestivas e perfil bioquímico dos animais. O experimento foi desenvolvido na Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), *campus* Laranjeiras do Sul, Paraná, Brasil. Os animais foram divididos em quatro grupos, sendo eles controle (T0), T1, T2 e T3, os quais continham, respectivamente, 0, 5, 10 e 15 % de farinha de ora-pro-nóbis na formulação. Avaliou-se as atividades das enzimas digestivas lipase, amilase, sacarase, maltase, tripsina e quimotripsina e os níveis plasmáticos de glicose, colesterol e triacilgliceróis. No processo digestivo a inclusão da farinha de *P. aculeata* na atividade das proteases houve aumento significativo na atividade da quimotripsina (5, 10 e 15 %) e na tripsina (15 %), o mesmo ocorreu com a lipase (15%). Já as enzimas de digestão de carboidratos a enzima sacarase não teve interferência da farinha de ora-pro-nóbis por outro lado a amilase (10 e 15 %) e a maltase (15 %) houve um aumento. Já as análises sanguíneas não tiveram alteração na atividade da glicose, colesterol e triacilgliceróis. A substituição alimentar de farinha de ora-pro-nóbis (*P. aculeata*) na dieta de *O. niloticus*, melhorou a capacidade digestiva dos animais e sem alterações no perfil bioquímico

**Palavras-chave:** ora-pro-nóbis, tilápia, enzimas digestivas e perfil bioquímico

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1- Localização da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS, <i>campus</i> Laranjeiras do Sul, Paraná.....</b>	<b>16</b>
<b>Figura 2 – Localização de Palmeira – Paraná. ....</b>	<b>18</b>
<b>Figura 3 – Atividade das enzimas Quimotripsina (A) e Tripsina (B) em intestino de tilápia .....</b>	<b>23</b>
<b>Figura 4 – Atividade da enzima Lipase em intestino de tilápia .....</b>	<b>25</b>
<b>Figura 5 – Atividade das enzimas Amilase (A), Maltase (B) e Sacarase (C) em intestino de tilápia .....</b>	<b>26</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1 – Formulação das rações para tilápias do Nilo (<i>O. niloticus</i>) com inclusão da farinha de ora-pro-nóbis.....</b>	<b>18</b>
<b>Tabela 2 – Atividade de Glicose, Colesterol e Triacilgliceróis em sangue de tilápia suplementada com inclusão de farinha de ora-pro-nóbis.....</b>	<b>27</b>

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	11
2. OBJETIVOS .....	12
2.1. Objetivo Geral .....	12
2.2. Objetivos específicos .....	13
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	13
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	16
4.1. Local e instalações .....	16
4.2. Preparo das rações .....	17
4.3. Estudo <i>in vivo</i> .....	19
4.4. Parâmetros bioquímicos e avaliação das atividades enzimáticas .....	20
4.5. Atividade das enzimas digestivas .....	20
4.6. Determinação do perfil bioquímico .....	21
4.7. Análise estatística .....	21
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	22
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	27
7. REFERÊNCIAS .....	28

## 1. INTRODUÇÃO

Dentre as espécies de peixes mais cultivadas no mundo está a tilápia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1758) em terceiro lugar, ficando apenas atrás das carpas *Ctenopharyngodon idellus* (carpa capim) e *Hypophthalmichthys molitrix* (carpa prateada), segundo o relatório *The State of World Fisheries and Aquaculture* (FAO, 2020). As expectativas mostram que o cultivo desse animal será um dos principais contribuintes para o crescimento mais rápido da aquicultura mundial nos próximos anos. A tilápia do Nilo é a espécie de peixe mais produzida na aquicultura brasileira e nos últimos dez anos apresentou um aumento de mais de 200% na sua produção no país (EMBRAPA, 2019). Esse fato está relacionado às condições favoráveis do cultivo dessa espécie. A tilápia apresenta um rápido crescimento, resistência a doenças, ciclo de produção curto, rusticidade ao manejo e uma boa aceitabilidade de sua carne pelos consumidores (BHUIJEL, 2000; KUBITZA, 2000).

A espécie possui cultivos em grande parte dos países, em regiões tropicais e subtropicais. Dados da Associação Brasileira de Piscicultura (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PISCICULTURA, 2021), trazem a informação de que o Brasil atingiu a quarta posição no ranking dos produtores de tilápia em 2021, com uma estimativa de produção de 520 mil/ t/ano. O estado do Paraná é o maior produtor nacional, com a espécie representando 90% da piscicultura do estado (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PISCICULTURA, 2021). A evolução da atividade se deve aos desenvolvimentos tecnológicos, que permitiu um aumento nas densidades de estocagem, elevando os cultivos.

Na aquicultura intensiva, nota-se que a criação ocorre em ambientes artificiais e controlados, com o sucesso da produção dependendo das boas práticas de manejo e manutenção das instalações, bem como na oferta de uma dieta adequada. Uma melhor resistência e desempenho das espécies sujeitas a criação intensiva, como a tilápia do Nilo, estão entre os maiores desafios da piscicultura, sendo que um dos fatores para o sucesso na criação depende de dietas de alta qualidade, que além de conter um adequado teor de nutrientes essenciais, contenham aditivos para auxiliar na manutenção da saúde animal favorecendo o crescimento (LARA-FLORES et al., 2003). Se o alimento oferecido não possuir uma boa assimilação pelo animal o mesmo irá apresentar um baixo desempenho. Assim se torna necessário avaliar a qualidade e quantidade do alimento oferecido, que é fundamental para o bom desenvolvimento da piscicultura e a rentabilidade da produção. Pesquisas na área nutricional de tilápias, e demais espécies, deveriam buscar por recursos localmente disponíveis, baratos e não convencionais que possam ser usualmente utilizados no preparo das rações (EL-SAYED, 2004).

Pensando nas atuais condições de produção utilizadas na piscicultura intensiva, os peixes podem ser submetidos a diferentes condições que causam estresse, por exemplo altas densidades, manejos de criação e transporte, práticas habituais do produtor e que podem afetar negativamente os animais. Considerando-se que organismos saudáveis apresentem melhor desempenho contra as adversidades e o estado nutricional dos mesmos está diretamente relacionado ao seu equilíbrio homeostático, dietas acessíveis e com bons níveis nutricionais são necessárias para o bom desempenho dos animais (LARA-FLORES et al., 2003).

Alguns aditivos como quimioterápicos e antibióticos são adicionados às dietas como promotores de crescimento e na prevenção de infecções, porém o uso dessas substâncias causa impressão negativa em diversos países seja pela contaminação ambiental ou pela possibilidade da presença de resíduos na carne (TAVARES-DIAS et al., 2009). Diversos trabalhos têm buscado a aplicação de leveduras, oligossacarídeos, vitaminas, enzimas, extratos e farinhas de fonte vegetal e animal em rações, avaliando parâmetros de desempenho zootécnico, composição corporal e resistência dos animais em diferentes fases de desenvolvimento, com resultados bastante promissores (EL SAYED, TACON, 1997; STEIN, KILL, 2006; GABRIEL, 2019).

Na busca por “aditivos promotores de crescimento” e recursos proteicos não convencionais, deve-se focar em fontes que possuam potencial econômico e estejam disponíveis localmente. Neste contexto, pode-se sugerir a aplicação da farinha de ora-pro-nóbis, *Pereskia aculeata* na dieta de tilápias do Nilo. Esta é uma planta amplamente distribuída no território brasileiro e de acordo com Almeida *et al.* (2014), contém altos níveis nutricionais, possuindo elevadas concentrações de proteína em sua composição e também minerais, vitaminas e compostos fenólicos. Considerando a sua composição, o uso na nutrição animal pode trazer bons resultados quando incorporada à dieta de tilápias, também no desempenho e resistência. Além disso, considerando o volume de produção, pequenas porcentagens de substituição das fontes convencionais de proteína podem apresentar grandes impactos econômicos, tanto em termos de custos com ração quanto em termos de rendimento de pescado.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo Geral**

Diante disto, o objetivo deste trabalho é avaliar a farinha de ora-pro-nóbis como

substituição alimentar na dieta de tilápias e sua influência sobre a atividade das enzimas digestivas e perfil bioquímico dos animais.

## 2.2. Objetivos específicos

Avaliar o efeito da inclusão da farinha de ora-pro-nóbis na dieta de tilápias do Nilo (*O. niloticus*) na atividade das enzimas digestivas amilase e lipase em intestino.

Avaliar o efeito da inclusão da farinha de ora-pro-nóbis na dieta de tilápias do Nilo (*O. niloticus*) na atividade das enzimas digestivas tripsina e quimotripsina em intestino.

Avaliar o efeito da inclusão da farinha de ora-pro-nóbis na dieta de tilápias do Nilo (*O. niloticus*) na atividade das enzimas digestivas maltase e sacarase em intestino.

Avaliar o efeito da inclusão da farinha de ora-pro-nóbis na dieta de tilápias do Nilo (*O. niloticus*) nos níveis plasmáticos de glicose, colesterol e triacilgliceróis.

## 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Segundo a FAO (2020) a piscicultura mundial em 2018 atingiu 54,2 milhões de toneladas de peixes e, uma das espécies de peixes de água doce mais criada no mundo, é a tilápia (*O. niloticus*), ficando em terceira colocação no ranking mundial. De acordo com dados da FAO (2020), a produção desta espécie de peixe em 2018 foi de aproximadamente 4,52 milhões de toneladas.

A tilápia (*O. niloticus*, Linnaeus, 1.758) pertencente à família Cichlidae, é originária do continente africano sendo cultivada no mundo todo devido às suas características zootécnicas. É uma espécie onívora que aceita vários tipos de alimento e apresenta rápido crescimento, grande rusticidade, fácil manejo, alto índice de rendimento de carcaça e carne de ótima qualidade (CONTE, 2002; JU, CHEN, LIAO, 2014; LI et al., 2013). Por ser uma espécie originária de clima tropical, com uma faixa de conforto térmico em torno de 26 °C - 28 °C, possibilitou a expansão da criação para muitas regiões do Brasil sendo que a produção comercial é realizada em sistemas semi-intensivos, intensivos e super-intensivos. É uma espécie com excelente versatilidade adaptativa, confere ótimos resultados nos mais diversos meios de cultivos, tais como viveiros escavados, tanques-rede e sistemas de recirculação de água (KUBITZA, 2011). No Brasil, ela foi introduzida durante a década de 70, inicialmente no Nordeste do país e posteriormente a espécie se difundiu rapidamente pelo território brasileiro (MACIEL, 2015).

Em cultivos intensivos, com enfoque comercial, os animais estarão submetidos a um ambiente artificial que foi projetado a fim de simular as condições ambientais necessárias ao bom desenvolvimento dos mesmos, diversos fatores assim passam a influenciar o bom desempenho de uma produção (KHATTABY, 2020). Entre os fatores que impactam o sucesso da criação, a nutrição dos animais é um dos mais significativos. Na aquicultura a nutrição é de difícil compreensão, devido à grande relação com fatores ambientais e endógenos, abordagens e alimentos utilizados (FURUYA, 2013). Na atualidade as pesquisas tem dado enfoque a componentes na alimentação que possam suprir os requerimentos nutricionais dos animais e ao mesmo tempo sejam economicamente acessíveis, ou, por ingredientes que permitam uma melhoria na composição corporal dos animais, possibilitando uma produção lucrativa. As tilápias, assim como os demais animais, necessitam de uma ingestão adequada de nutrientes para que possam se desenvolver adequadamente, como proteínas, minerais, vitaminas, ácidos graxos e carboidratos (SANTOS, 2007; JAUNCEY, 2000).

No que tange ao comportamento metabólico, o conjunto de enzimas relacionadas ao metabolismo de açúcares, gorduras e proteínas nos peixes é bastante distinto e as respostas à mudanças na dieta ou no ambiente podem ser extremamente variáveis dentre as inúmeras espécies de peixes (SEIXAS-FILHO, 2004; NELSON, COX, 2014). A principal fonte de energia para os peixes teleósteos é o metabolismo proteico, que possui três fontes de aminoácidos (aa) sendo elas, a via dietética, a quebra de proteína corporal e a biossíntese de aa não essenciais. Após o processo digestório das proteínas, os aminoácidos são absorvidos e transportados pelo sangue até os sítios de utilização onde são metabolizados ou usados para síntese de proteínas ou compostos nitrogenados. Assim, a composição de aa livres ou presentes nos tecidos varia de acordo com a composição proteica da alimentação e com o período com alimentação e jejum (JURS, BASTROP, 1995).

Além das proteínas, outra fonte de energia para os peixes é o metabolismo de carboidratos e lipídeos. O fornecimento adequado destes componentes na dieta permite aos animais utilizá-los como precursores para síntese de outras moléculas ou como fonte de energia, desta forma poupando os aminoácidos do metabolismo energético e direcionando os mesmos para a síntese de proteínas e outros compostos nitrogenados, indispensáveis para o crescimento e saúde dos animais durante o cultivo (SEIXAS-FILHO, 2004).

Considerando o aproveitamento máximo dos nutrientes fornecidos nas rações, o processo digestório nos peixes desempenha papel essencial. O conhecimento das enzimas digestivas em um organismo ajuda a determinar a capacidade digestiva do mesmo, o que por sua vez auxilia a seleção de ingredientes a serem incluídos na dieta. Além disso, a melhor/maior

atividade das enzimas digestivas reflete-se na maior absorção de nutrientes e disponibilidade dos mesmos para o metabolismo celular (SEIXAS-FILHO, 2004; NELSON, COX, 2014).

Em termos de enzimas digestivas, as proteases são responsáveis pela digestão de proteínas dos alimentos ingeridos. Dentre as proteases de maior importância encontram-se a tripsina, a quimotripsina e as aminopeptidases (SEIXAS-FILHO, 2004; NELSON, COX, 2014). A tripsina e a quimotripsina são endoproteases, ou seja, quebram as ligações peptídicas dentro da proteína, enquanto as aminopeptidases são exoproteases atuando em resíduos de aminoácidos na posição N-terminal da proteína (NELSON, COX, 2014). Essas enzimas são liberadas pelo pâncreas, na porção inicial do intestino e cecos pilóricos e são ativadas no intestino pela enteroquinase, que converte o zimogênio pancreático tripsinogênio em tripsina pela remoção de um hexapeptídio N-terminal, como ocorre nos vertebrados superiores. A tripsina converte outras moléculas de tripsinogênio em tripsina e desencadeia uma cascata de atividade proteolítica, pois a tripsina é o ativador comum de todos os zimogênios pancreáticos. Após a digestão, a absorção dos aminoácidos livres, que ocorre na membrana apical do enterócito, é realizada através de transportadores específicos dependentes de  $\text{Na}^+$ , de transportadores não-dependentes de  $\text{Na}^+$  e por difusão (SEIXAS-FILHO, 2004).

Dentre as diversas espécies vegetais que podem apresentar potencial para uso como suplementos dietéticos destaca-se a Ora-pro-nóbis, *Pereskia spp.*, uma Planta Alimentícia Não Convencional (PANC) (TAKEITI et al., 2009). A ora-pro-nóbis, que em latim significa “rogai por nós”, pertence ao reino Plantae, classe Magnoliopsida, ordem Caryophyllales, família Cactaceae e gênero *Pereskia*. Deste grupo de 17 espécies, as folhas de *Pereskia aculeata* se destacam pelo alto teor de proteínas, fibras alimentares, minerais, vitaminas e compostos bioativos (ALMEIDA et al., 2014; TAKEITI et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2013). Esta é uma espécie pouco explorada da flora nacional que se apresenta como uma alternativa alimentar e de renda além de uma opção de diversificação cultural. É uma planta originária dos trópicos, encontrada em grande parte do território nacional, da Bahia ao Rio Grande do Sul.

A sua baixa toxicidade e alta concentração de nutrientes a caracteriza como uma boa planta para utilização humana e animal (ALMEIDA et al., 2014). No estudo de Almeida et al. (2014) os autores encontraram teor de 28,99 % de proteínas totais na farinha das folhas de *P. aculeata*, além de apresentar teores elevados de ferro, cálcio e potássio. Além de representar uma fonte interessante de proteínas e minerais, as folhas da ora-pro-nóbis também possuem uma boa diversidade de compostos bioativos considerados em sua grande maioria metabólitos secundários, como compostos fenólicos, flavonoides e ácido ascórbico (PINTO et al., 2012; ALMEIDA et al., 2014; SOUSA et al., 2014). Estudos recentes têm identificado o potencial

antioxidante das folhas da ora-pro-nóbis (SOUSA et al., 2014; SOUZA et al., 2016; MORAES et al., 2020) e correlacionado esta ação com a presença dos compostos fenólicos. O interesse nas espécies do gênero *Pereskia* vem crescendo nos últimos anos devido à sua composição química e potencial de utilização, em especial, na alimentação humana e animal, além de ser uma planta de fácil cultivo, adaptável à diversos solos e com baixo custo de produção. Relatos na literatura abordam a inclusão desta planta na dieta de outras espécies como camundongos, frangos e leitões onde demonstram que é possível o desenvolvimento e aplicação de estratégias que façam uso da farinha de *P. aculeata* como fonte nutricional na alimentação animal com bons resultados de desempenho (AVELAR et al., 2013; SOUZA et al., 2015; NASCIMENTO, 2018; SILVA et al., 2018).

Observando as informações obtidas na literatura para a composição bromatológica da *P. aculeata* acredita-se que a suplementação alimentar com ora-pro-nóbis na dieta de tilápias do Nilo possa melhorar a condição metabólica contribuindo para o bem-estar animal. Além disso, exercer efeitos positivos no desempenho zootécnico atuando como promotor de crescimento e se tornar uma opção de fonte proteica alternativa no cultivo de tilápias.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Local e instalações

Este trabalho foi desenvolvido nos laboratórios de Experimentação Animal, Bioquímica e Genética e em estufas pertencentes à Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS, *campus* Laranjeiras do Sul, Paraná (Figura 1).

**Figura 1-** Localização da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS, *campus* Laranjeiras do Sul, Paraná.



Fonte: Google Maps.

Localização no ponto branco a Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus*: Laranjeiras do Sul-PR.

A água utilizada foi oriunda do abastecimento da própria universidade. A fim de garantir a qualidade e visando a economia da água do meio ambiente, foi utilizado o processo de recirculação com biofiltros em fluxo contínuo, utilizando bomba com capacidade de vazão média de 200 L/h. O biofiltro foi montado em caixa d'água com capacidade para 500 L (Figura 3). No interior do biofiltro foram inseridas pedras britadas. O biofiltro ainda contou com aeração contínua e aquecedor com termostato, visando a manutenção de boas taxas de oxigênio dissolvido (OD) e temperatura da água constante. Fizeram parte da estrutura do experimento 16 caixas d'água com capacidade para 150 L cada, com um volume de água de 90 L (Figura 3). Diariamente foi coletada e registrada a temperatura da água bem como semanalmente foram mensurados as variáveis de qualidade de água: amônia, nitrito, alcalinidade, dureza, pH e oxigênio dissolvido (OD) no sistema de cultivo, para assim manter os parâmetros do ambiente para que não tivesse intervenção no experimento.

**Figura 3** – Imagem do sistema utilizado para o experimento.



Fonte: Oro,2019.

#### **4.2. Preparo das rações**

A farinha de *P. aculeata* foi obtida de uma agroindústria nomeada Eco-Alimentos localizada na cidade de Palmeira – Paraná (no ponto branco da figura 3) que fica aproximadamente 80 Km de Curitiba - Paraná.

**Figura 3** – Localização de Palmeira – Paraná.

Fonte: Google Maps.  
Localização no ponto branco Palmeira – Paraná.

Os demais ingredientes foram obtidos do comércio local e foram elaboradas quatro formulações de rações, contendo 0, 5, 10 e 15 % de inclusão de farinha de ora-pro-nóbis, nomeados os tratamentos como TC (tratamento controle), T1 (5 %), T2 (10 %) e T3 (15 %). As rações foram formuladas para possuírem 32 % de proteína bruta, energia bruta em 3100 kcal, extrato etéreo em 6 % de mínimo, fibra bruta em máximo de 5 %, carboidratos em 40 % como limite máximo.

**Tabela 1** – Formulação das rações para tilápias do Nilo (*O. niloticus*) com inclusão da farinha de ora-pro-nóbis.

	<b>TC</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>
<b>Farinha de peixe</b>	30	25	25	21
<b>Farelo de soja</b>	25	27	24	26
<b>Farelo de trigo</b>	17	17	17	17
<b>Farinha de milho</b>	21	19	17	14
<b>Ora pro nobis</b>	0	5	10	15
<b>Óleo de peixe</b>	1	1	1	1
<b>Óleo de soja</b>	4	4	4	4
<b>Premix de vit./min.*</b>	2	2	2	2

Os valores estão em %; \* Nutridrink Protein, Danone.

Os ingredientes foram pesados, adicionados a um recipiente para a homogeneização, posteriormente foi inserido água a 30 °C para facilitar a peletização e a secagem ocorreu em estufa a 32 °C por um período de 12 horas. Os valores de inclusão da farinha de ora-pro-nóbis

para a formulação das rações foram escolhidos analisando trabalho prévio realizado por Oro (2019), onde houve a suplementação alimentar das tilápias contendo uma ração comercial onde foi incluso diferentes concentrações de farinha das folhas de *P. aculeata*, e de acordo Avelar *et al.* (2013), que utilizou a farinha da planta na suplementação mineral de leitões na fase de creche e em Silva *et al.* (2018), que procurou relacionar o uso da farinha na dieta com o rendimento de carcaça de frangos.

### 4.3. Estudo *in vivo*

Para a realização do experimento o projeto foi aprovado no CEUA/UFGS (Comissão de Ética no Uso de Animais, da Universidade Federal da Fronteira Sul) sob o número 2545170619. Os animais utilizados no experimento foram provenientes de piscicultura comercial. Ao chegarem às instalações da universidade, os juvenis de tilápia foram submetidos a banho em solução salina para profilaxia e em seguida transferidos e aclimatados ao sistema de recirculação onde o experimento foi realizado.

O procedimento experimental foi realizado utilizando quatro tratamentos com três repetições cada, dispostos de forma completamente aleatória. Os animais foram divididos em diferentes grupos, controle e tratados: o grupo controle (TC) recebeu ração balanceada baseada sem adição de farinha de ora-pro-nóbis; o grupo de tratamento 1 (T1) recebeu ração balanceada suplementada com adição de 5% de farinha de ora-pro-nóbis; o grupo de tratamento 2 (T2) recebeu ração balanceada suplementada com adição de 10% de farinha de ora-pro-nóbis; o grupo de tratamento 3 (T3) recebeu ração balanceada suplementada com adição de 15% de farinha de ora-pro-nóbis.

Depois de aclimatados ao local os animais foram divididos aleatoriamente entre as caixas, sendo dispostos 20 peixes por aquário, sendo realizada a biometria em metade dos animais por caixa, obtendo um peso médio dos peixes de 6,0 g. A quantidade de alimento ofertada aos animais foi definida com base na biomassa média do aquário, sendo realizado o arraçamento em 10 % da biomassa média do aquário, com a porcentagem sendo ajustada após biometria aos 25 dias após o início do experimento.

Ao final dos 57 dias período de suplementação 10 animais foram coletados 1 hora após a alimentação para garantir que o trato digestório estivesse cheio para a análise das enzimas digestivas. Então foram anestesiados para a retirada de sangue por punção do vaso caudal utilizando seringa contendo solução de anticoagulante de EDTA 3 % e em seguida, sacrificados por aprofundamento do estado anestésico em solução de benzocaina (250 mg/L) (CFMV,

2012). Após a eutanásia, os peixes foram dissecados para obtenção de amostras correspondentes à cinco centímetros da parte anterior do intestino, mensurada a partir do término do estômago. Estas amostras de intestino foram imediatamente conservadas em ultrafreezer a -85 °C, para posterior processamento e determinação da atividade de enzimas digestivas.

Durante o período do ensaio, foi realizado o acompanhamento dos animais e o monitoramento da qualidade da água assegurando um ambiente adequado para o desenvolvimento dos organismos.

#### **4.4. Parâmetros bioquímicos e avaliação das atividades enzimáticas**

Para análise dos parâmetros bioquímicos foi utilizado o plasma sanguíneo e atividade enzimática no intestino que foi homogeneizado em tampão com auxílio de homogeneizador elétrico IKA® T10 basic, e após centrifugados em centrífuga refrigerada (Sigma, 3-16 KL) a 4 °C por 10 minutos em 12000 xg. O sobrenadante, obtido após a centrifugação, foi retirado e utilizado para as determinações. Para determinação de proteína foi utilizado o método de Bradford (1976) utilizando sobrenadante dos homogenatos e albumina bovina como padrão.

#### **4.5. Atividade das enzimas digestivas**

A determinação da atividade das dissacaridases/glicosidases foi realizada em microplaca de fundo chato de 96 poços com leitura em 505 nm. As amostras foram incubadas em banho-maria com controle de temperatura a 25 °C. Para o início da dosagem 50 µL do sobrenadante dos homogenatos de intestino foi incubado com 20 µL de tampão maleato (pH 6,0) por 5 minutos, posteriormente foi adicionado 30 µL de substrato (maltose ou sacarose) e o meio de reação foi incubado por 5 minutos a 25 °C. Para identificação da atividade das enzimas, foi realizada a dosagem de glicose ao final do período de incubação, utilizando kit colorimétrico comercial seguindo as recomendações do fabricante. Os resultados foram expressos como U/mg de proteína, onde 1 U = µmol de glicose/ min/ mg de proteína (DAHLQVIST, 1984, PEREIRA et al., 2011).

A determinação da atividade da amilase e lipase foi realizada por meio de kit colorimétrico comercial, seguindo as recomendações do fabricante adaptado para microplaca de 96 poços de fundo chato (SEIXAS-FILHO, 2003). A leitura foi realizada em leitora de microplaca (Multiskan FC- Thermo Scientific).

A atividade da quimotripsina foi determinada segundo o método de Hummel (1959) adaptado para microplaca. Para a determinação da atividade dessa enzima utilizou-se o substrato *benzoyl tyrosine ethyl ester* (BTEE). A incubação dos extratos foi realizada por dois minutos em microplaca ultravioleta de fundo chato com leituras de 10 segundos, utilizando tampão Tris/CaCl<sub>2</sub> em pH 7,8. As análises foram realizadas em triplicata e as leituras foram realizadas em leitora de microplaca (Multiskan FC- Thermo Scientific) com comprimento de onda ajustado para 256 nm e 25 °C. Foi utilizada uma unidade de quimotripsina para definir a quantidade de enzima necessária para formar 1 μmol de etanol/minuto. O coeficiente de extinção molar utilizado para o cálculo da enzima foi de 964 M e o resultado foi expresso em μM/min/mg de proteína.

A atividade da tripsina foi determinada segundo o método de Hummel (1959) adaptado para microplaca. Para a determinação da atividade dessa enzima utilizou-se o substrato *α-p-toluenesulphonyl-L-arginine methyl ester hydrochloride* (TAME), a incubação dos extratos foi realizada por dois minutos em microplaca ultravioleta de fundo chato com leituras de 10 segundos, utilizando tampão Tris/CaCl<sub>2</sub> em pH 8,1. As análises foram realizadas em triplicata e as leituras foram realizadas em leitora de microplaca (Multiskan FC- Thermo Scientific) com comprimento de onda ajustado para 247 nm e 25 °C. Foi utilizada uma unidade de tripsina para definir a quantidade de enzima necessária para formar 1 μmol de Na-p-Tosyl-L-Arginine/minuto. O coeficiente de extinção molar utilizado para o cálculo da enzima foi de 540 M e o resultado expresso em μM/min/mg de proteína.

#### **4.6. Determinação do perfil bioquímico**

O conteúdo de glicose, colesterol e triacilgliceróis do sangue das tilápias foram determinados utilizando kits colorimétricos comerciais e seguindo as instruções dos fabricantes e adaptados para microplaca de 96 poços.

#### **4.7. Análise estatística**

Os dados foram expressos como média ± Desvio Padrão. A normalidade dos dados foi testada pelo teste de Shapiro-Wilk à 5 % de probabilidade. A homocedasticidade foi verificada através do Teste de Bartlett. Quando atendessem aos pressupostos de normalidade e homocedasticidade, as comparações estatísticas foram submetidas à análise de variância e a comparação das médias foi feita através do Teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nos últimos anos vem se observando um aumento no desenvolvimento de manejos e métodos que venham a proporcionar maior bem-estar animal sem perder a produtividade quando se trata de criação de organismos aquáticos. Neste sentido, diversos estudos de suplementação vem sendo realizados na tentativa de se encontrar novos componentes para as rações bem como estabelecer faixas de uso seguras e efetivas, tendo como finalidade melhorar os aspectos fisiológicos e nutricionais dos peixes, assim promovendo um desempenho melhor (GARCIA, 2008).

O sistema digestório de peixes tem uma fisiologia bastante distinta entre as diferentes espécies. Além disso, a atividade das enzimas digestivas pode sofrer alterações quando há mudanças na dieta e no ambiente. A compreensão do funcionamento das enzimas digestivas de um organismo ajuda a determinar a sua capacidade digestiva, o que ajuda a escolher os melhores ingredientes a serem incluídos na dieta (GIODA *et al.*, 2017).

A fim de avaliar se a suplementação alimentar com farinha de ora-pro-nóbis afeta o processo digestivo e a utilização dos nutrientes em tilápias do Nilo, foram avaliadas as atividades das principais enzimas digestivas envolvidas no metabolismo de proteínas, lipídios e carboidratos.

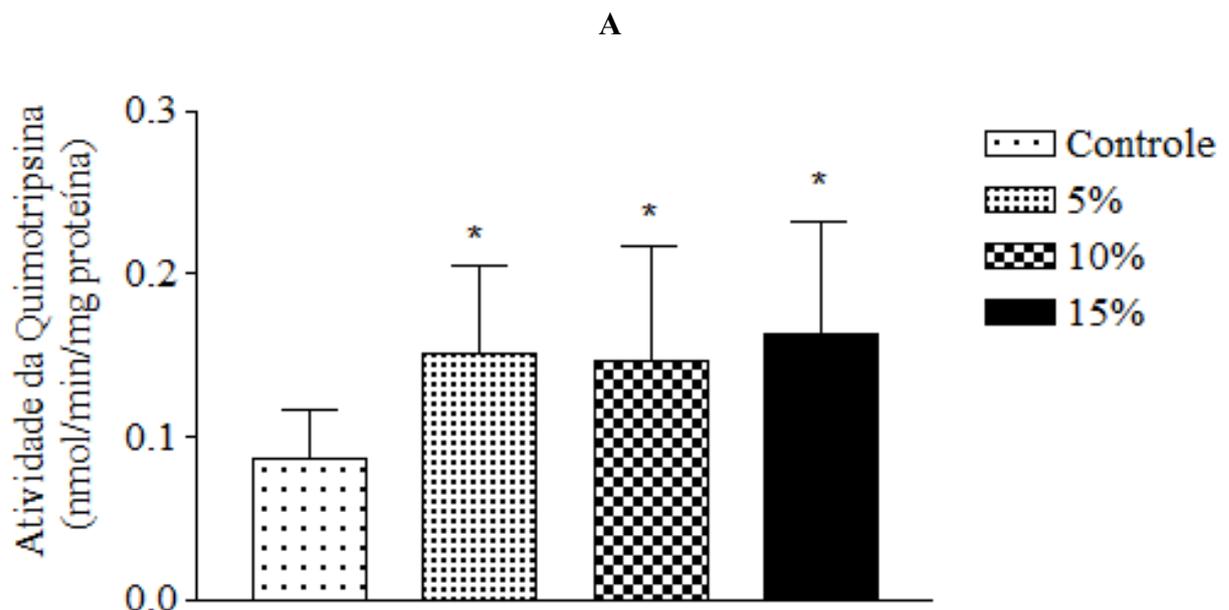
Na figura 4, podemos observar que os tratamentos que receberam farinha de ora-pro-nóbis obtiveram um aumento significativo na atividade da quimotripsina quando comparado ao controle. Já em relação à atividade da tripsina, representada na figura 4 B, vemos que a concentração de 15 % teve um aumento significativo quando comparado ao grupo 5 %.

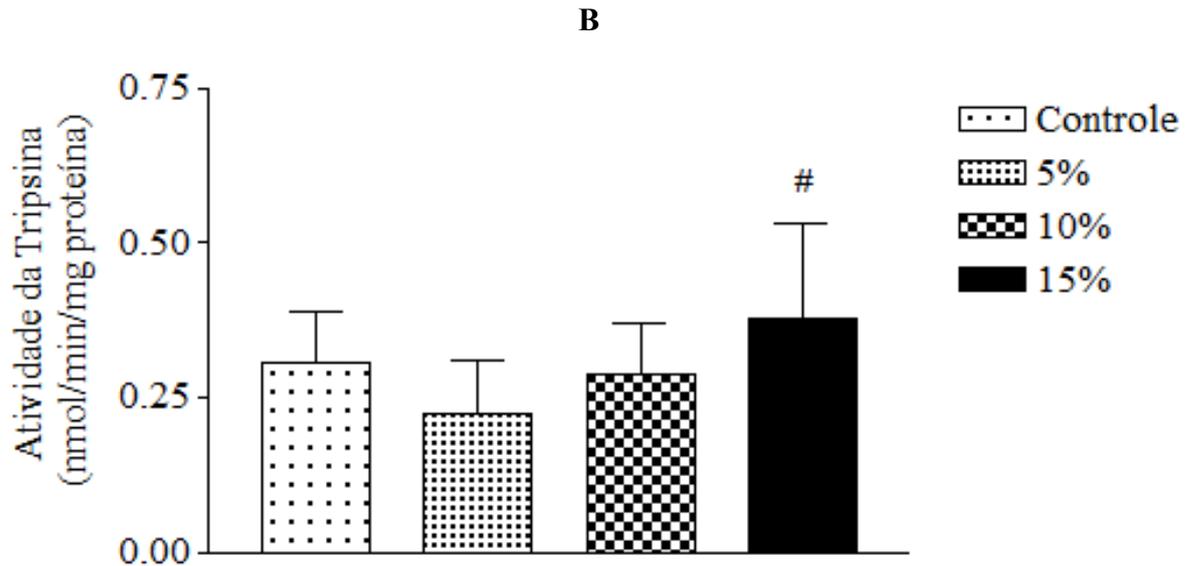
As proteases alcalinas mais abundantes em peixes são a tripsina e a quimotripsina, responsáveis por realizar a quebra das ligações peptídicas que são encontradas dentro das proteínas, mais especificamente, estas enzimas atuam como serina-proteases (CARRILLO-FARNÉS *et al.*, 2007; SEIXAS-FILHO, 2004). Estudos fazem relação dos níveis da atividade dessas enzimas com a maior disponibilidade de aminoácidos e o crescimento de tilápia durante o cultivo (SANTOS *et al.*, 2020).

Almeida *et al.* (2014), descreve que a farinha de *P. aculeata* tem 30 % de proteína total além de contar com altos níveis de ferro, cálcio e potássio. As folhas da ora-pro-nóbis contam também com níveis significativos de diversos metabólitos secundários como compostos fenólicos, flavonoides e ácido ascórbico. A presença desses compostos na alimentação afeta positivamente o organismo, o que pode gerar uma melhora na fisiologia e homeostasia corporal

bem como no sistema imune e na resistência do animal a patógenos (PINTO et al., 2012; ALMEIDA et al., 2014; SOUSA et al., 2014). Estudo de Oro (2019) demonstrou que a adição de farinha de ora-pro-nóbis na dieta de tilápias nas concentrações de 4 e 6% induziram melhoras nos parâmetros zootécnicos e promoveram aumentos significativos do conteúdo de proteína corporal e da atividade das enzimas do metabolismo de aminoácidos. Os resultados observados para a enzima quimotripsina corroboram os dados já disponíveis e indicam que o aumento de atividade dessa enzima está relacionado à maior absorção de aminoácidos no intestino induzido pela presença da farinha de ora-pro-nóbis e conseqüentemente maior disponibilidade destas moléculas para o metabolismo celular, refletindo nos parâmetros de crescimento e de composição corporal como observado por Oro (2019). Por outro lado, a ausência de efeito na atividade da tripsina comparado com o controle pode ser devido à presença de fatores antinutricionais como os inibidores de proteases e os taninos nas folhas da ora-pro-nóbis. Estes compostos podem interagir com as enzimas digestivas atuando como pseudosubstratos e inibindo suas atividades e/ou ainda combinando-se com proteínas, carboidratos, aminoácidos, vitaminas e minerais, pela formação de complexos estáveis, impedindo a absorção dos nutrientes pelo organismo e provocando alterações de paladar (NASCIMENTO, 2016).

**Figura 4** – Atividade das enzimas Quimotripsina (A) e Tripsina (B) em intestino de tilápia suplementada com inclusão de farinha de ora-pro-nóbis.

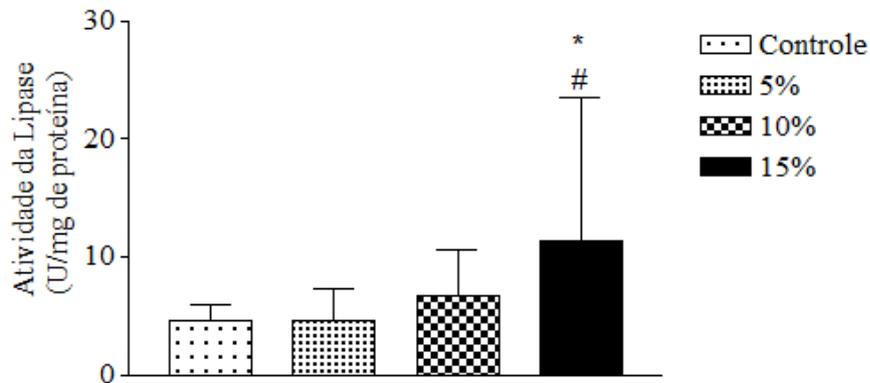




Os valores são expressos como média  $\pm$  DP. \*  $p < 0,05$  significativo em relação ao grupo controle; #  $p < 0,05$  significativo em relação aos grupos 5%.

Na Figura 5 é apresentada a atividade da lipase, enzima relacionada à digestão de lipídeos. Sua atuação é de grande relevância já que promove a hidrólise de triacilgliceróis, fosfolipídeos e ésteres de colesterol permitindo a absorção destes lipídeos pelas células intestinais (NELSON, COX, 2014). Como pode ser observado, o grupo 15 % promoveu aumento significativo da atividade da lipase quando comparado aos grupos controle e 5 %. Assim como para as demais enzimas digestivas, a quantidade e o tipo de lipídeo presente na dieta podem modular a atividade e a síntese da lipase. A *P. aculeata* possui uma baixa quantidade de lipídios nas suas folhas, conforme pode ser observado nos estudos de Rocha *et al.* (2008) e Takeiti *et al.* (2009), os quais determinaram níveis de 3,64 e 4,1 g/100 g de MS, respectivamente. Estes valores baixos explicariam a ausência de efeito na atividade da lipase nas concentrações mais baixas de farinha de ora-pro-nóbis.

**Figura 5** – Atividade da enzima Lipase em intestino de tilápia suplementada com inclusão de farinha de ora-pro-nóbis.



Os valores são expressos como média  $\pm$  DP. \*  $p < 0,05$  significativo em relação ao grupo controle; #  $p < 0,05$  significativo em relação aos grupos 5%.

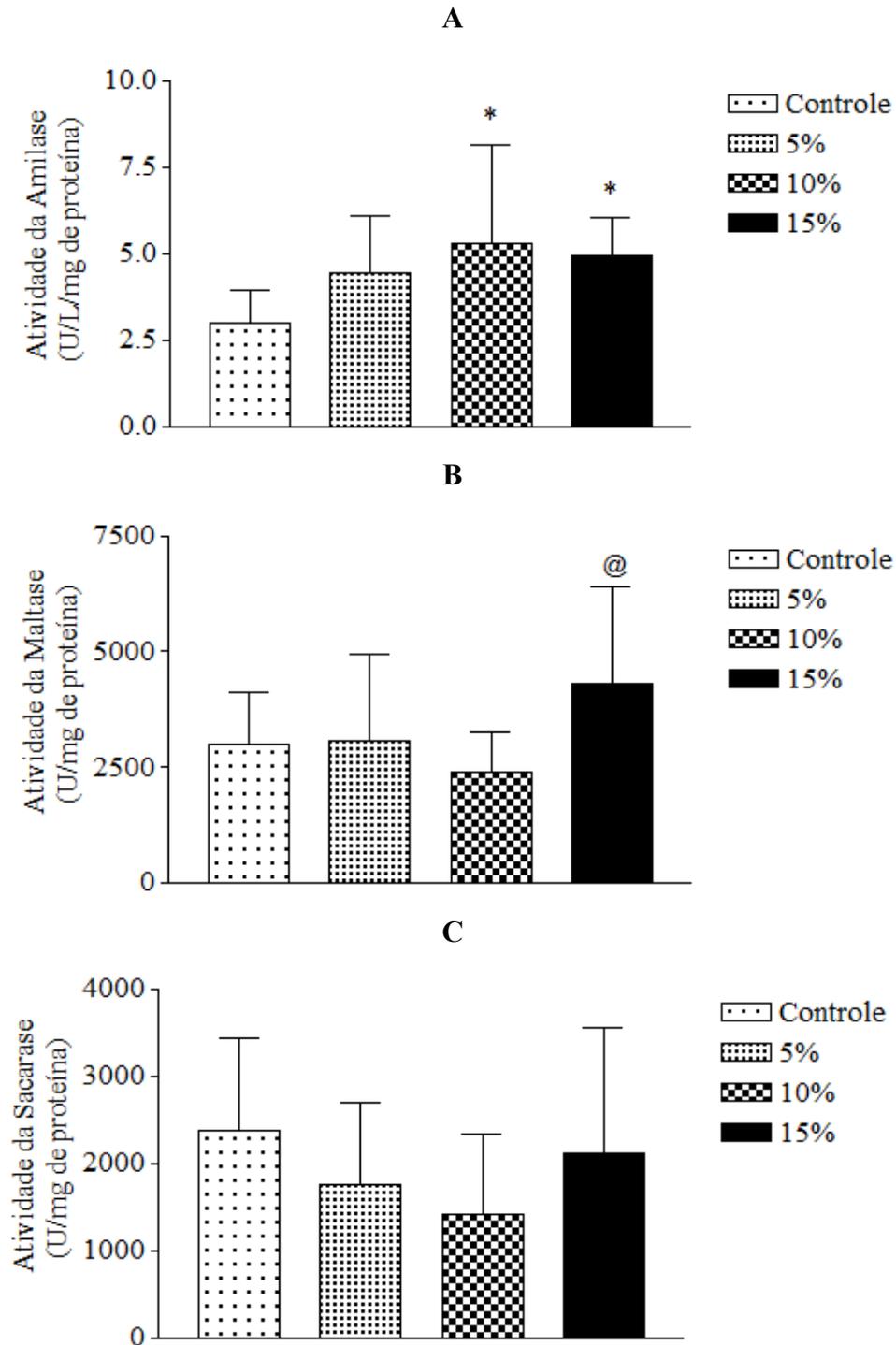
A substituição alimentar com farinha de ora-pro-nóbis na dieta de *O. niloticus* promoveu aumento significativo na atividade da amilase nos grupos de 10 e 15 % quando comparado ao controle, já a atividade da maltase teve um aumento no grupo de 15 % quando comparado ao grupo de 10 %, e a atividade da enzima sacarase não apresentou diferença estatística (figura 6).

Durante a digestão dos carboidratos provenientes da dieta, atuam enzimas, como por exemplo a amilase, que são responsáveis pela hidrólise de ligações glicosídicas  $\alpha$  (1,4) liberando oligo e dissacarídeos. Ainda um segundo processo da digestão submete os oligo e dissacarídeos a atuação das dissacaridases ou glicosidases, pertencentes às famílias alfa ( $\alpha$ ), como por exemplo a sacarase e a maltase, e beta ( $\beta$ ), como por exemplo a  $\beta$  glicosidase, que quebram os dissacarídeos em monossacarídeos para que possam ser absorvidos (KRASIKOV et al., 2001).

A atividade das enzimas digestivas que atuam nos carboidratos da dieta tem sua atividade flutuante, isso significa que pode variar conforme o tipo e a quantidade de carboidrato disponível na dieta fornecida aos peixes (GIODA et al., 2017; MONTOYA-MEJÍA et al., 2017). Apesar da capacidade limitada dos peixes em utilizar os carboidratos como fonte de energia, a aplicação de suplementos de origem vegetal ou de microrganismos na dieta de organismos aquáticos pode alterar tanto a expressão das enzimas digestivas quanto a sua atividade (WANG, 2017; OZÓRIO et al., 2015; AKBARY et al., 2017). Isso se reflete em aumento da capacidade digestiva e de uso dos nutrientes, em especial os carboidratos sendo usados como fonte de energia para suprir as necessidades das células e poupando outras biomoléculas como os aminoácidos do metabolismo energético. Em termos da composição da

farinha de *P. aculeata* apresenta uma concentração de carboidratos de 28 % a 31 % (ALMEIDA *et al.*, 2014) representando assim uma boa alternativa como fonte de carboidratos na dieta das tilápias.

**Figura 6** – Atividade das enzimas Amilase (A), Maltase (B) e Sacarase (C) em intestino de tilápia suplementada com inclusão de farinha de ora-pro-nóbis.



Os valores são expressos como média  $\pm$  DP. @  $p < 0,05$  significativo em relação aos grupos 10%.

Na tabela 2 são apresentados os parâmetros de glicose, colesterol e triacilgliceróis sanguíneos. Como pode ser observado a suplementação com a farinha de ora-pro-nóbis não promoveu alterações significativas nestes parâmetros para nenhum dos grupos experimentais. Os resultados referentes aos níveis plasmáticos de colesterol e de triacilgliceróis se correlacionam com o fato da farinha de ora-pro-nóbis influenciar a atividade da lipase apenas na concentração mais elevada e também com os resultados de composição corporal descritos por Oro (2019) em que não foi observado alteração do conteúdo de lipídeos da carne com as concentrações de 4 e 6% de farinha de ora-pro-nóbis. Além disso, a não alteração dos parâmetros sanguíneos de colesterol e triacilgliceróis pode estar relacionado à presença de grandes quantidades de fibras solúveis nas folhas da ora-pro-nóbis que contribuem para uma menor absorção de lipídeos no intestino (NASCIMENTO, 2016). A presença das fibras solúveis também pode explicar o fato de ter sido observado aumento da atividade das enzimas digestivas de carboidratos mas não ter ocorrido alteração dos níveis de glicose no sangue das tilápias. Essas fibras em contato com água formam géis que retêm os monossacarídeos e além disso reduzem o tempo do trânsito intestinal resultando em menor absorção de carboidratos. (NASCIMENTO, 2016).

**Tabela 2** – Atividade de Glicose, Colesterol e Triacilgliceróis em sangue de tilápia suplementada com inclusão de farinha de ora-pro-nóbis.

	<b>Controle</b>	<b>5%</b>	<b>10%</b>	<b>15%</b>
<b>Glicose (mg/dL)</b>	67,83±9,88	70,39±15,77	80,85±20,96	84,54±17,79
<b>Colesterol (mg/dL)</b>	136,31±26,65	126,84±25,97	147,51±33,09	143,66±26,98
<b>Triacilgliceróis (mg/dL)</b>	155,64±65,64	129,33±34,83	130,55±41,97	131,87±42,50

Os valores são expressos como média ± DP.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A substituição alimentar de farinha de ora-pro-nóbis (*P. aculeata*) na dieta de *O. niloticus*, promoveu um aumento das atividades das enzimas digestivas de carboidratos,

lipídeos e proteínas sem no entanto, alterar o perfil bioquímico sanguíneo dos animais. Com os dados apresentados nesse trabalho seria indicado a utilização de farinha de ora-pro-nóbis em uma concentração entre 10 e 15%, na dieta de juvenis de Tilápia do Nilo.

## 7. REFERÊNCIAS

AKBARY P.; SHOGHI M.; FERREIDOUNI, M. S. Growth performance and digestive enzymes activities of Pacific white leg shrimp (*Litopenaus vannamei*) juveniles fed dietary mixtures of four medicinal plants. **Iranian Journal of Fisheries Sciences**, v.16, p.1157-1163, 2017.

ALMEIDA, M. E. F., *et al*; Caracterização química das hortaliças não-convencionais conhecidas como ora-pro-nóbis. **Bioscience Journal**, v. 30, p. 431 – 439, 2014.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PISCICULTURA; **O anuário PEIXEBR da piscicultura**. Coord. Francisco Medeiros, Ed. Comunicação Corporativa, 2021.

AVELAR G. S., *et al*; **Utilização das folhas de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata mill*) na dieta de leitões na fase de creche**. VI semana de Ciência e Tecnologia IFMG, 2013.

BHUJEL, R.C. A review of strategies for the management of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodfish in seed production systems, especially hapa-based systems. **Aquaculture**, v. 181, p. 37–59, 2000.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.

CARRILLO-FARNÉS, O.; FORRELLAT-BARRIOS, A.; GUERRERO-GALVÁN, S.; VEJA-VILLASANTE, F. A review of digestive enzyme activity in penaeid shrimps. **Crustaceana**, v. 80, p.257-275, 2007.

CFMV - Conselho Federal de Medicina Veterinária. Procedimentos e métodos de eutanásia em animais e dá outras providências. Resolução n. 1000, de 11 de Maio de 2012.

CONTE, L. **Produtividade e economicidade de tilapicultura em gaiolas na Região Sudoeste do Estado de São Paulo: estudos de casos**. 2002. 73f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agronomia “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

DAHLQVIST, A. Assay of intestinal disaccharidases. **Scandinavia Journal Clinical Laboratory Investigation**, v. 44, p. 169-172, 1984.

EL SAYED A.F.M.; TACON A.G.J. Fishmeal replacers for tilapia: A review. **Cahiers Options Méditerranéennes**, v. 22, p. 205-224, 1997.

EL-SAYED, A.M. Protein nutrition of farmed tilapia: searching for unconventional sources. In: **New dimensions in farmed tilapia: proceedings of the Sixth International Symposium on Tilapia Aquaculture**. 2004. p. 364-378.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária, 2019. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/21621836/producao-de-tilapia-no-brasil-cresce-223-em-dez-anos> > Acesso em: 10 de abril 2020.

FAO, **The State of World Fisheries and Aquaculture – Sustainability in Action**. Rome. 2020.

FURUYA, W. M., Nutrição de tilápias no Brasil. **Rev. Bras. Scientia Agrárias**. V.03, n. 01, p. 133-150. 2013.

GABRIEL, N.N. Review on the progress in the role of herbal extracts in tilapia culture, **Cogent Food & Agriculture**, v. 5, p. 1-22, 2019.

GARCIA, F. Suplementação alimentar com  $\beta$ -glucano e mananoligossacarídeo para tilápias do Nilo em tanques-rede. Tese (Doutorado) – UNESP 100f., Jaboticabal. 2008.

GIODA, C.R., PRETTO, A., FREITAS, C.S., LEITEMPERGER, J., BALDISSEROTTO, B., SALBEGO, J. Different feeding habits influence the activity of digestive enzymes in freshwater fish. **Ciência Rural**, v.47, p. e20160113, 2017.

HUMMEL, B.C.W. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin and trombin. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, p. 1393-1399, 1959.

JAUNCEY, K. Nutritional requirements. Tilapias: Biology and exploitation, pag. 327-375. 2000.

JU, Y.R.; CHENB, W.Y.; LIAO, W.C. Model-based risk assessment for milkfish and tilapia exposed to arsenic in a traditional polyculture system with seasonal variations. **Aquacultural Engineering**, v. 62, p. 1-8, 2014.

JURS, K.; BASTROP, R. Amino acid metabolism in fish. In: HOCHACHKA, P.K.; MOMMSEN, P. (eds.), **Metabolic Biochemistry. Biochemistry and molecular biology of fishes**. Amsterdam: Elvier Science, p. 159-189, 1995.

KHATTABY, A. E. R. A., Modern of aquaculture systems. Fish production and aquaculture systems departament, Central laboratory for aquaculture research, agriculture research center, Egypt, 2020.

KRASI KOV, V. V.; KARELOV, D. V.; FIRSOV, L. M. alpha-Glucosidases. **Biochemistry (Mosc)**, v. 66, n. 3, p. 267-81, 2001.

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

KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí: F. KUBITZA, 285 p., 2000.

LARA-FLORES M., OLVEA-NOVOA M.A., GUZMAN-MENDEZ B.E. Use of bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 216, p. 193-201, 2003.

LI, E. et al. Growth, Body Fatty Acid Composition, Immune Response, and Resistance to *Streptococcus iniae* of Hybrid Tilapia, *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*, Fed Diets Containing Various Levels of Linoleic and Linolenic Acids. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 44, p. 42-55, 2013.

MACIEL, L. M., A tilapia-do-nilo. In: Tilapia do Nilo: criação e cultivo em viveiros no estado do Paraná. **GIA**, Curitiba, 2015.

MONTOYA-MEJÍA, Magnolia, et al. “Digestibility, growth, blood chemistry, and enzyme activity of juvenile *Oreochromis niloticus* fed isocaloric diets containing animal and plant byproducts”. **Revista Brasileira de Zootecnia**, vol. 46, no 12, dezembro de 2017, p. 873–82. DOI: <https://doi.org/10.1590/s1806-92902017001200001>.

MORAES, T.V.; SOUZA, M.R.A.; SIMÃO, J.L.S.; ROCHA, C.B.; MOREIRAS, R.F.A. Antioxidant potential of the *Pereskia aculeata miller* species: a bibliometric analysis. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v. 29, p. 79-85, 2020.

NASCIMENTO, C.Z. **Efeito da adição de nucleotídeos em dietas de parentais e prole de tilápia do Nilo sobre a saúde, crescimento e resistência da progênie**. 2018. Dissertação de mestrado em Recursos pesqueiros e engenharia de pesca, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, PR. 2018.

NASCIMENTO, E. R. M. **Avaliação da segurança nutricional de *Pereskia aculeata miller* e seus aspectos nutritivos em uma dieta crônica de suplementação alimentar proteica para camundongos**. 2016. Dissertação (Mestrado em Sociobiodiversidade e Tecnologias Sustentáveis) - Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afrobrasileira, Redenção/CE, 2016.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. Porto Alegre: Artmed, 2014.

OLIVEIRA, D. D. C. D. S., WOBETO, C., ZANUZO, M. R., SEVERGNINI, C. Composição mineral e teor de ácido ascórbico nas folhas de quatro espécies olerícolas não-convencionais. **Horticultura Brasileira**, v. 31, p. 472– 475, 2013.

ORO, André L. S. **Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata*) – avaliação do potencial de uso como aditivo na dieta de tilápias do Nilo**. 2019. Trabalho de conclusão de curso (Graduação de Engenharia de Aquicultura) – Universidade Federal da Fronteira Sul, Laranjeiras do Sul, 2019.

OZÓRIO, R. A.; LOPES, R. G.; GÓES, B. S.; SILVA, C. P; DERNER, R. B.; FRACALOSSO, D. M. Growth and enzymatic profile of the pacific white shrimp fed with *Porphyridium cruentum* extract. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.41, p.123 – 131, 2015.

PEREIRA D.F., CAZAROLLI L.H., LAVADO C., MENGATTO V., FIGUEIREDO M.S.R.B., GUEDES A., PIZZOLATTI M.G., SILVA F.R.M.B. Effects of flavonoids on  $\alpha$ -glucosidase activity: Potential targets for glucose homeostasis. **Nutrition** 27: 1161-1167, 2011.

PINTO, N. DE C. C., DOS SANTOS, R. C., MACHADO, D. C., FLORÊNCIO, J. R., FAGUNDES, E. M. DE S., ANTINARELLI, L. M. R., SCIO, E. Cytotoxic and antioxidant activity of *Pereskia aculeata* Miller. **Pharmacology online**, v. 3, p. 63–69. 2012.

ROCHA, D. R. C.; PEREIRA Jr, G. A.; VIEIRA, G.; PANTOJA, L.; SANTOS, A. S.; PINTO, N. A. V. D. Macarrão adicionado de ora-pronóbis (*Pereskia aculeata* Miller) desidratado. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 4, p. 459-465, 2008.

SANTOS, V. B., Freitas R.T.F., Logato P.V.R., Freato T.A., Orfão L.H., Millioti L.C., Rendimento do processamento de linhagens de tilápias (*Oreochromis niloticus*) em função do peso corporal. **Ciênc Agrotec**. 2007.

SANTOS, W. M., et al. “Dietary Protein Modulates Digestive Enzyme Activities and Gene Expression in Red Tilapia Juveniles”. **Animal**, vol. 14, no 9, 2020, p. 1802–10. DOI: <https://doi.org/10.1017/S1751731120000543>.

SEIXAS-FILHO, J.T. Revisão sobre as enzimas digestivas nos peixes teleostei e seus métodos de determinação. **Augustus**, v. 08, 2003.

SEIXAS-FILHO, J.T. Uma revisão sobre o papel do carboidrato e da proteína no metabolismo de peixes com hábitos alimentar carnívoro e onívoro. **Revista Augustus**, v. 9, p. 32-51, 2004.

SILVA, V. B. M., *et al.*, **Rendimento de carcaça e cortes nobres de frangos alimentadas com farinha da folha de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata*)**. In: 7º Congresso Estadual de Iniciação Científica e Tecnológica do IF Goiano. 2018, Anais...2018, p. 1-3.

SOUSA, R. M. F.; LIRA, C. S.; RODRIGUES, A. O.; MORAIS, S. A. L.; QUEIROZ, C. R. A. A.; CHANG, R., DE OLIVEIRA, A. Antioxidant activity of ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Mill.) leaves extracts using spectrophotometric and voltammetric assays. **Bioscience Journal**, v.30, p. 448–457, 2014.

SOUZA, L.F.; CAPIUTO, L.; BARROS, I.B.I.; FRATIANNI, F.; NAZZARO, F.; FEO, V. *Pereskia aculeata* Muller (Cactaceae) Leaves: Chemical Composition and Biological Activities. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, p. 1-12, 2016.

SOUZA, M.S.S.; BARBALHO, S.M.; GUIGUER, E.L. et al. Effects of *Pereskia aculeata miller* on the biochemical profiles and body composition of wistar rats. **Journal of Biosciences and Medicines**, v. 3, p. 82- 89, 2015.

STEIN, H.H., KILL, D.Y. Reduced use of antibiotics growth promoters in diets fed weaning pigs: dietary tools, part 2. **Animal Biotechnology**, v. 17, p, 217-231, 2006.

TAKEITI, C. Y.; ANTONIO, G. C.; MOTTA, E. M.P.; COLARES-QUEIROZ, F. P.; PARK, K. J. Nutritive evaluation of a non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). **International Journal of Food Science and Technology**, v.1, p.148-160, 2009.

TAKEITI, C. Y.; ANTONIO, G. C.; MOTTA, E. M. P.; COLARES-QUEIROZ, F. P.; PARK, K. J. Nutritive evaluation of a non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, n. 60, p. 148-160, 2009. DOI: 10.1080/09637480802534509.

TAVARES-DIAS, M. et al. **Tópicos especiais em saúde e produção animal**, São Carlos: Pedro e João Editores, 2009, p. 43-80.

WANG, X.; LI, E.; XU, Z.; LI, T.; XU, C.; CHEN, L. Molecular Response of Carbohydrate Metabolism to Dietary Carbohydrate and Acute Low Salinity Stress in Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.17, p. 153–169, 2017.