

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Proteína hidrolisada de frango em dietas para
reprodutores de tilápia-do-Nilo**

Matheus dos Santos Cardoso

**Jaboticabal - São Paulo
2020**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Proteína hidrolisada de frango em dietas para
reprodutores de tilápia-do-Nilo**

Matheus dos Santos Cardoso

Orientadora: Dra. Elizabeth Romagosa

Co-orientador: Dr. Fábio Bittencourt

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP - CAUNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor.

Jaboticabal - São Paulo

2020

C268p Cardoso, Matheus dos Santos
Proteína hidrolisada de frango em dietas para reprodutores de
tilápia-do-Nilo / Matheus dos Santos Cardoso. – – Jaboticabal, 2020
82 f. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de
Aquicultura, 2020

Orientadora: Elizabeth Romagosa

Coorientador: Fábio Bittencourt

Banca examinadora: Eduardo Antônio Sanches, Giovani
Sampaio Gonçalves, Neuza Sumico Takahashi, Vander Bruno dos
Santos

Bibliografia

1. Nutrição animal. 2. Hidrolisados de proteína. 3. Peptídeos. 4.
Peixes reprodução. I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 636.3.043

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI - Biblioteca da UNESP
Campus de Jaboticabal/SP - Karina Gimenes Fernandes - CRB 8/7418

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Proteína hidrolisada de frango em dietas para reprodutores de tilápia do Nilo

AUTOR: MATHEUS DOS SANTOS CARDOSO

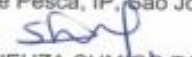
ORIENTADORA: ELIZABETH ROMAGOSA

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AQUICULTURA, pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. ELIZABETH ROMAGOSA 
Centro de Pesquisa em Peixes Ornamentais / Instituto de Pesca, IP, São Paulo-SP


Prof. Dr. EDUARDO ANTÔNIO SANCHES
Engenharia de Pesca / UNESP, Registro-SP


Prof. Dr. GIOVANI SAMPAIO GONÇALVES
. / Instituto de Pesca, IP, São José do Rio Preto-SP


Profa. Dra. NEUZA SUMICÔ TAKAHASHI
. / Instituto de Pesca, IP, São Paulo-SP


Prof. Dr. VANDER BRUNO DOS SANTOS
. / Instituto de Pesca, IP, São Paulo-SP

Jaboticabal, 17 de março de 2020

Dedico

A minha família

Meus pais Marcos Elias e Márcia Helena

A minha avó Adélcia Carmen

Pelo amor, carinho e dedicação

Vocês são exemplo de vida e minha inspiração na busca por dias melhores

A minha irmã Marjane Cardoso

Pela amizade e apoio

A minha companheira Renata Rafaela

Pelo apoio incondicional e companheirismo mesmo em dias nublados

Amo vocês

Agradecimentos

Com certeza foi uma etapa árdua, porém repleta de aprendizado, conhecimento, reconhecimento e descobertas. Muitas são as pessoas que, de uma forma ou de outra se empenharam para a realização desta pesquisa. Este trabalho é fruto do nosso esforço, eu agradeço a todos vocês:

A pesquisadora Dra. Elizabeth Romagosa do Instituto de Pesca de São Paulo - São Paulo, pela orientação, dedicação e por acreditar na realização desta pesquisa, mesmo após nos depararmos com muitas pedras no caminho.

Ao professor Dr. Fábio Bittencourt da Universidade Estadual do Oeste do Paraná *campus* de Toledo - Paraná pela coorientação, amizade e incentivo nesta jornada.

Aos professores: Dr. Wilson Rogério Boscolo e Dr. Altevir Signor da Universidade Estadual do Oeste do Paraná *campus* Toledo - Paraná e, Dr. Eduardo Antônio Sanches da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho *campus* Registro - São Paulo, pela colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Laboratório de Fisiologia de Peixes da Universidade de Passo Fundo - Passo Fundo - Rio Grande do Sul, representado pelos professores Dr. Leonardo José Gil Barcellos e Dra. Gessi Koakoski e, a professora Dra. Luisa Helena Cazarolli da Universidade Federal da Fronteira Sul *campus* Laranjeiras do Sul – Paraná, pela colaboração na realização das análises laboratoriais.

Aos membros da banca examinadora de qualificação, Dra. Camila Fernandes Corrêa da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios - Vale do Ribeira - São Paulo e, Dra. Mayara de Moura Pereira do Instituto de Pesca de São Paulo - São José do Rio Preto - São Paulo, e a banca de defesa, Dr. Giovani Sampaio Gonçalves do Instituto de Pesca de São Paulo - São José do Rio Preto - São Paulo, Dra. Neuza Sumico Takahashi e Dr. Vander Bruno dos Santos do Instituto de Pesca de São Paulo - São Paulo, pelas sugestões e correções da escrita deste trabalho.

Ao Sr. Adilar Venites, Bruno Venites e aos funcionários da Aquicultura Venites localizada na cidade de Toledo – Paraná pela disposição e colaboração durante a realização desta pesquisa.

Ao Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal - São Paulo e seus funcionários, especialmente ao David Oliveira Lorente pela presteza e atenção.

Ao Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura pela disponibilização das estruturas e laboratórios além do apoio de muitos de seus integrantes: Marjana Cardoso, Jakeline Marcela, Mariana Lins, Danielle Zanerato, Luciana Valéria, Jean Brisqueal, Adriano Füh, Lucas Vogel, Suzana Raquel, Robson Araújo, Leonardo Martins, Sérgio Zenni, Bruno Sosa, Ricácio Luan, Grace Kelly, Janaina Fernanda, Débora Xavier, Leone Medina, Márcia Piovesan, Jahina Fagundes, José Carlos e Alessandra Sousa.

Se cheguei até aqui, foi pelo apoio de todos.

Minha gratidão a vocês!

Apoio Financeiro e estrutural

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos durante o período de doutorado (processo: 140363/2017-3). A companhia BRF (Brasil Foods Ingredients), unidade de Curitiba-PR pelo apoio na realização de análises laboratoriais e na aquisição dos insumos para as dietas experimentais. A Aquicultura Venites, localizada no município de Toledo-PR pelo fornecimento da estrutura física com a disponibilização dos viveiros escavados e laboratório de reprodução.

SUMÁRIO

Lista de figuras.....	x
Lista de tabelas e anexos	xi
Lista de abreviaturas.....	xii
1. Resumo geral	1
2. General summary	3
3. Objetivos.....	4
3.1 Objetivo Geral	4
3.2 Objetivos Específicos.....	4
4. Revisão de literatura.....	5
4.1 Produção de tilápia-do-Nilo.....	5
4.2 Coprodutos e hidrolisados proteicos de origem animal	6
4.3 Proteína hidrolisada de frango.....	9
4.4 Nutrição de reprodutores de tilápia.....	9
5. Referências bibliográficas.....	11
Artigo I - Proteína hidrolisada de frango em dietas para fêmeas de tilápia-do-Nilo	17
1. Resumo	17
2. Abstract	18
3. Introdução.....	19
4. Material e métodos	20
4.1 Local e período	20
4.2 Dietas experimentais	21
4.3 Delineamento experimental	23
4.4 Fase I – Preparatória	24
4.5 Fase II – Reprodução	24
4.6 Coleta de sangue e órgãos.....	26
4.7 Qualidade de água.....	27
4.8 Análise estatística	27
5. Resultados e discussão.....	27
6. Conclusão.....	36
7. Referências	37
Artigo II - Proteína hidrolisada de frango em dietas para machos de tilápia-do-Nilo	47
1. Resumo	47
2. Abstract	48
3. Introdução.....	49
4. Material e métodos	50
4.1 Local	50
4.2 Dietas experimentais	51
4.3 Delineamento experimental	53
4.4 Coleta de sangue e órgãos.....	54
4.5 Coleta do sêmen e avaliação espermática	54
4.6 Qualidade de água.....	55
4.7 Análise estatística	56
5. Resultados e discussão.....	56
6. Conclusão.....	62
7. Referências	63

Lista de figuras

Artigo I

Figura 1 - Manejo reprodutivo adotado durante o período experimental.....	25
Figura 2 - Concentração de albumina no plasma de fêmeas de tilápia-do-Nilo alimentadas com as dietas experimentais.	34
Figura 3 - Concentração de fosfatase alcalina no plasma de fêmeas de tilápia-do-Nilo alimentadas com as dietas experimentais.	35

Lista de tabelas e anexos

Artigo I

Tabela 1 - Composição da dieta controle e das dietas contendo níveis crescentes de inclusão de proteína hidrolisada de frango (PHF) para fêmeas de tilápia-do-Nilo.....	22
Tabela 2 - Composição proximal e perfil de aminoácidos da proteína hidrolisada de frango (PHF) e das dietas experimentais para fêmeas de tilápia-do-Nilo.....	23
Tabela 3 - Parâmetros morfométricos e índices somáticos de fêmeas de tilápia-do-Nilo alimentadas com as dietas experimentais.....	29
Tabela 4 - Parâmetros reprodutivos de fêmeas de tilápia-do-Nilo alimentadas com as dietas experimentais.....	30
Tabela 5 – Composição química dos ovos de tilápias-do-Nilo alimentadas com as dietas experimentais.....	32
Tabela 6 – Metabólitos plasmáticos de fêmeas reprodutoras de tilápia-do-Nilo alimentadas com as dietas experimentais.....	33

Artigo II

Tabela 1 - Composição da dieta controle e das dietas contendo níveis crescentes de inclusão de proteína hidrolisada de frango (PHF) para machos de tilápia-do-Nilo.....	52
Tabela 2 - Composição proximal e perfil de aminoácidos da proteína hidrolisada de frango (PHF) e das dietas experimentais para machos de tilápia-do-Nilo.....	53
Tabela 3 - Parâmetros morfométricos e índices somáticos de machos de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas experimentais.....	57
Tabela 4 - Metabólitos plasmáticos de machos de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas experimentais.....	58
Tabela 5 - Concentração, sobrevivência e normalidade dos espermatozoides de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas experimentais.....	60
Tabela 6 – Parâmetros espermáticos de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas experimentais.....	61

Anexo	70
--------------------	----

Lista de abreviaturas

ALB- Albumina	UR- Ureia
CAA- Conversão Alimentar Aparente	VCL- Velocidade curvilínea
COL- Colesterol Total	VAP- Velocidade média do caminho
g- gramas	VSL- Velocidade em linha reta
GLI- Glicose	
HDL- Colesterol HDL	
IGS- Índice Gonadossomático	
IHS- Índice Hepatossomático	
IVS- Índice Viscerossomático	
IGVS- Índice de Gordura Viscerossomático	
L- litros	
MOT- Motilidade espermática	
mm- milímetros	
mg- miligramas	
nº- número	
m ² - metros quadrados	
m ³ - metros cúbicos	
PF- Peso Final	
PT- Proteínas Totais	
PHF- Proteína Hidrolisada de Frango	
PI- Peso Inicial	
TAG- Triacilglicerol	
T - Testosterona	

Proteína hidrolisada de frango em dietas para reprodutores de tilápia-do-Nilo

1. Resumo geral

O objetivo do estudo foi avaliar o desempenho reprodutivo de fêmeas e machos de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas contendo Proteína Hidrolisada de Frango (PHF). O experimento foi dividido em duas fases, totalizando 192 dias. Na *Fase I* (Preparatória) utilizou-se 360 fêmeas ($587,60 \pm 38,05$ g) distribuídas aleatoriamente em 24 hapas de 6 m^3 e 120 machos ($745,92 \pm 124,54$ g) em seis hapas de 15 m^3 dispostos em um viveiro escavado de 4.000 m^2 . Fêmeas e machos foram alimentados com taxa de 1% do peso vivo por dia com uma dieta controle (sem PHF) e dietas contendo níveis crescentes de PHF (1%, 2%, 3%, 4% e 5%) divididos em duas refeições diárias durante 90 dias. Na *Fase II* (Reprodução) realizou-se o acasalamento dos animais e coletas de ovos durante o período de 102 dias. Para a avaliação das fêmeas foram utilizados os parâmetros reprodutivos (produção de ovos, fecundidade, % de desova, frequência de desova, fertilização, eclosão, diâmetro e composição química dos ovos e tamanho das larvas) assim como a influência da inclusão da PHF sobre os parâmetros de crescimento, somáticos e metabólitos plasmáticos (proteínas totais - PT, albumina - ALB, uréia - UR, glicose - GLI, colesterol total - COL, colesterol HDL - HDL, triacilglicerol - TAG e fosfatase alcalina). A avaliação reprodutiva dos machos compreendeu a mensuração dos parâmetros espermáticos (concentração, normalidade e sobrevivência, motilidade, velocidade curvilínea, velocidade média do caminho e velocidade em linha reta), crescimento, somáticos e concentrações dos metabólitos plasmáticos (idem fêmeas) e testosterona - T. Não foram evidenciados efeitos estatísticos significativos ($P > 0,05$) nos parâmetros reprodutivos das fêmeas. No entanto, as concentrações de albumina plasmática e fosfatase alcalina foram significativamente superiores ($P < 0,05$), indicando possível sobrecarga no estado metabólico das fêmeas alimentadas com rações contendo 5% de PHF, mas não influenciando ($P > 0,05$) nos demais metabólitos plasmáticos. A composição química dos ovos não diferiu ($P > 0,05$) entre os diferentes grupos. Os parâmetros de crescimento e espermáticos dos machos não foram influenciados diante da inclusão da PHF. Entretanto, sugere-se que a PHF atuou no metabolismo lipídico dos machos devido a sua influência sobre as concentrações plasmáticas da lipoproteína HDL e diminuição da gordura visceral. A inclusão de até 4% e 5% da PHF em dietas para fêmeas e machos respectivamente pode ser realizada como fonte proteica alternativa sem comprometer o estado metabólico e a reprodução da tilápia-do-Nilo.

Palavras-chave: nutrição animal, hidrolisados de proteína, peptídeos, peixes
reprodução

Poultry hydrolyzed protein in diets for Nile tilapia broodstock

2. General summary

The objective of the present study was to evaluate the reproductive performance of Nile tilapia females and males fed with diets containing Poultry Hydrolyzed Protein (PHF). The experiment was divided into two phases, totaling 192 days. In *Phase I* (Preparatory) 360 females (587.60 ± 38.05 g) were randomly distributed in 24 hapas with 6 m³ and 120 males (745.92 ± 124.54 g) in six hapas with 15 m³ arranged in a 4,000 m² earth pond. Males and females were fed 1% of body weight per day with diets containing increasing levels of PHF (1%, 2%, 3%, 4% and 5%) and a control diet (without PHF) divided into two feeds daily for 90 days. In *Phase II* (Reproduction), the animals were mated and collected eggs during the 102 days. In the females reproductive parameters (somatic indices, egg production, fecundity, spawning %, spawning frequency, fertilization, hatching, egg diameter and chemical composition and larval size) were used to evaluate the influence of PHF supplementation on plasma metabolite (total proteins - PT, albumin - ALB, urea - UR, glucose - GLI, total cholesterol - COL, HDL cholesterol - HDL, triacylglycerol - TAG and alkaline phosphatase). A reproductive evaluation of males included the measurement of sperm parameters (concentration, normality, survival, motility rate, curvilinear velocity, mean path velocity and straight line velocity), growth, somatic and plasma metabolite concentrations (as in the female) and plasma testosterone. No significant statistical effects ($P > 0.05$) were observed on the reproductive parameters of females. However, plasma albumin and alkaline phosphatase concentrations were significantly higher ($P < 0.05$), indicating a possible overload in the metabolic state of females fed diets containing 5% PHF, but not influencing ($P > 0.05$) in other plasma metabolites. The chemical composition of the eggs did not differ ($P > 0.05$) among different groups. The growth and sperm parameters of the males were not influenced by PHF supplementation. However, it is suggested that PHF acted in the lipid metabolism of males due to its influence on plasma concentrations of HDL lipoprotein and decreased visceral fat. Supplementation of up to 4% and 5% of PHF in diets for females and males respectively can be performed as an alternative protein source without compromising the metabolic state and reproduction of Nile tilapia.

Keywords: animal nutrition, protein hydrolysates, peptides, fish reproduction.

3. Objetivos

3.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos da proteína hidrolisada de frango (PHF) no desempenho produtivo e estado metabólico de fêmeas e machos de tilápia-do-Nilo.

3.2 Objetivos Específicos

Artigo 1: Proteína hidrolisada de frango em dietas para fêmeas de tilápia-do-Nilo

- a)** Avaliar a inclusão de níveis da PHF (1%, 2%, 3%, 4%, 5%) na dieta sobre o crescimento, conversão alimentar e índices somáticos de fêmeas da tilápia-do-Nilo.
- b)** Determinar a influência dos níveis de inclusão da PHF (1%, 2%, 3%, 4%, 5%) na dieta sobre os parâmetros reprodutivos das fêmeas de tilápia-do-Nilo.
- c)** Determinar os teores de matéria seca, proteína bruta e cinzas dos ovos das fêmeas de tilápia-do-Nilo alimentadas com níveis de inclusão da PHF (1%, 2%, 3%, 4%, 5%) na dieta.
- d)** Analisar as concentrações dos metabólitos plasmáticos das fêmeas de tilápia-do-Nilo alimentadas com níveis de inclusão da PHF (1%, 2%, 3%, 4%, 5%) na dieta.

Artigo 2: Proteína hidrolisada de frango em dietas para machos de tilápia-do-Nilo

- a)** Investigar a influência dos níveis de inclusão da PHF (1%, 2%, 3%, 4%, 5%) na dieta sobre o crescimento, conversão alimentar e índices somáticos de machos de tilápia-do-Nilo.
- b)** Avaliar a inclusão dos níveis de inclusão da PHF (1%, 2%, 3%, 4%, 5%) na dieta sobre os parâmetros de concentração, sobrevivência, normalidade e motilidade espermática de tilápia-do-Nilo.
- c)** Verificar a influência da inclusão de PHF (1%, 2%, 3%, 4%, 5%) na dieta sobre os metabólitos plasmáticos de machos de tilápia-do-Nilo.

4. Revisão de literatura

4.1 Produção de tilápia-do-Nilo

Concomitantemente às produções de animais de corte, a aquicultura vem ganhando destaque, desempenhando papel essencial na promoção do consumo de pescado, na segurança alimentar e nutricional e, na utilização dos recursos naturais de forma a garantir o desenvolvimento sustentável.

Mundialmente a produção de pescados atingiu 172,6 milhões de toneladas em 2017, sendo 92,5 toneladas provenientes da captura e 80,1 toneladas oriundas da aquicultura, ambos referente à espécies marinhas e de águas interiores (FAO, 2019). Do montante produzido pela aquicultura, 49,5 milhões de toneladas compreendem a produção de peixes, crustáceos, moluscos e outros animais aquáticos em águas interiores, dos quais 90,2% (44,6 milhões de toneladas) fruto da produção de peixes de água doce, dominado pela produção de ciprinídeos seguido dos ciclídeos, onde destaca-se a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*).

A tilápia-do-Nilo possui características favoráveis dentre as espécies produzidas na aquicultura, como a facilidade de produção devido a sua rusticidade, hábito alimentar onívoro que favorece a sua aceitação por dietas formuladas, adaptabilidade aos sistemas de produção, rápido crescimento, alta resistência a doenças e carne com boas características organolépticas (Boscolo et al., 2001; Shokr, 2015), além disso, possui pacote tecnológico para as fases de crescimento (FAO, 2016) o que contribui para seu estabelecimento e torna sua criação atraente e lucrativa.

Na última década, a criação de tilápia tem demonstrado expressivo crescimento e importância mundial, atingindo 4,1 milhões de toneladas em 2017, sendo classificada como a 5ª espécie de peixe mais produzida na aquicultura (FAO, 2019). No Brasil, a produção deste peixe resultou no montante de 432 mil toneladas em 2019 com representatividade de 57% da piscicultura nacional, estando atrás da China, Indonésia e Egito, portanto, destaca-se como atividade emergente com expressiva participação no cenário global (PeixeBr, 2020). Este fato, claramente está associado ao desenvolvimento científico e tecnológico, aprimoramento das técnicas de produção, disponibilidade de insumos em quantidade e qualidade, abertura de linhas de crédito específicas além da prática do associativismo e do cooperativismo. Sem dúvidas, esta espécie promissora terá papel importante no preenchimento da lacuna entre a oferta e a demanda de recursos alimentares diante do crescimento populacional.

4.2 Coprodutos e hidrolisados proteicos de origem animal

A produção mundial de proteínas de origem animal, que compreende os bovinos, suínos, aves e ovinos foi estimada em 330 milhões de toneladas no ano de 2017. A carne de aves, atingiu 120,5 milhões de toneladas, sendo a mais produzida e comercializada no mundo (FAO, 2018). O Brasil foi o 2º maior produtor de carne de frango (13,1 milhões de toneladas) no ano de 2017, ficando apenas atrás dos Estados Unidos. Em virtude da demanda internacional foi o país que mais realizou exportações, atingindo aproximadamente 3,84 milhões de toneladas (USDA, 2018).

Diante do cenário atual de expansão da produção de proteínas de origem animal para satisfazer as necessidades alimentares humanas surgem desafios, como a geração de resíduos que devem ser gerenciados de forma adequada, a fim de evitar a contaminação do meio ambiente e as graves consequências como a disseminação de doenças, odores desagradáveis e visão inestética (Malav et al., 2018) e o desperdício de potenciais matérias primas para a produção de produtos alimentícios, seja para a nutrição humana ou destinada à formulações de dietas para a alimentação animal.

Atualmente, estima-se que a indústria brasileira processadora de aves produz cerca de quatro milhões toneladas anuais de coprodutos, os quais incluem, penas, cabeça, pele, vísceras e aparas de frango resultante do processo de abate. Por esta razão, as empresas do setor começaram a investir no desenvolvimento de tecnologias e processos para fazer o uso destas matérias primas na fabricação de produtos nutritivos e funcionais de valor econômico agregado e ao mesmo tempo gerando receitas potenciais. Neste sentido, a produção e o estudo acerca dos hidrolisados proteicos de coprodutos de origem animal surgem como uma alternativa promissora.

Os hidrolisados podem ser utilizados como estimulante alimentar, intensificadores de sabor, emulsificantes, potenciadores da capacidade de ligação à água ou nutrientes a serem adicionados aos alimentos, pois constituem uma excelente fonte de nutrientes como aminoácidos essenciais, minerais e vitaminas (Broggi et al., 2017; Toldrá et al., 2012) além de peptídeos bioativos (Toldrá e Reig, 2011). E são produzidos com as finalidades de aumentar as propriedades funcionais dos alimentos. Além disso, conferem fácil digestibilidade, alta solubilidade em água, alto conteúdo proteico e longa vida de prateleira (Pedersen, 1994) podendo ser direcionados como produtos alternativos de elevada qualidade nutricional com potencial aplicação na composição de dietas para animais de criação terrestres e para a aquicultura (Folador et al., 2006).

O hidrolisado é o resultado do fracionamento da cadeia polipeptídica das proteínas podendo ocorrer ou não por autólise, originando pequenos peptídeos e aminoácidos livres (Kristinsson e Rasco, 2000). Este processo pode ser realizado por meio da ação de agentes químicos (utilizando ácidos ou álcalis) ou biológicos (utilizando enzimas) (Pasupuleti e Braun, 2010). O uso de agentes biológicos destaca-se pela vantagem de processamento em temperaturas e pressão reduzidas conferindo qualidade e integridade das frações nutricionais, além disso é considerada mais previsível, reprodutível e promove fácil separação de compostos nitrogenados solúveis em comparação com a autólise (Liaset et al., 2002; Hevroy et al., 2005). Em adição, o processo de hidrólise permite a obtenção de produtos com superior teor proteico em comparação com a sua matéria prima, em torno de 15% a 30% devido a solubilização da proteína e remoção dos materiais sólidos insolúveis (Chalamaiah et al., 2010).

Os peptídeos bioativos gerados mediante o processo de hidrólise geralmente contém cerca de 3 a 20 resíduos de aminoácidos e suas bioatividades baseiam-se em sua composição de aminoácidos e localização dentro da sequência de aminoácidos que formam o peptídeo (Pihlanto Leppala, 2001). Uma vez liberados no organismo, os peptídeos bioativos podem afetar inúmeras funções fisiológicas. Dependendo da sua sequência de aminoácidos os peptídeos podem estar envolvidos em funções biológicas, podendo desempenhar papéis importantes no organismo como controlar doenças e promover a saúde por meio da regulação da pressão arterial (peptídeos inibidores da ECA-I e anti-hipertensivos), agonistas ou antagonistas opióides, imunomoduladores, atuar nos mecanismos anti-inflamatórios, antiolesterolêmico, possuir propriedades lipolíticas, anticoagulantes, anticancerígenas e antibacterianas (Robert et al., 2015; Tu et al., 2018). Além da função antioxidante (Zheng et al., 2012; Rajabzadeh et al., 2017; Silva e Castro, 2019) devido a relação com a redução do estresse oxidativo dos tecidos (Huang et al., 2005).

Uma das vantagens da utilização de proteínas hidrolisadas em dietas é o tempo de absorção no trato gastrointestinal, podendo ser até três vezes mais rápido do que a matéria prima intacta (Dabrowski, 1984). Segundo Gilbert et al. (2008), o intestino delgado dos animais possui boa aptidão para absorção de aminoácidos na forma de pequenos peptídeos e, sendo assim, a incorporação de pequenos peptídeos ou proteínas hidrolisadas na dieta exploraria essa capacidade absorptiva e possivelmente aumentaria o crescimento e desenvolvimento dos animais.

Para peixes e crustáceos, a utilização dos hidrolisados proteicos de coprodutos do abate de animais tem sido realizada como alternativa nutricional na suplementação dietética em benefício da saúde e produtividade dos animais (Arredondo-Figueroa et al., 2013; Valle et al., 2014; Siddik et al., 2019) devido ao potencial de seus compostos como os aminoácidos e os peptídeos de baixo peso molecular (Kristinson e Rasco, 2000).

Recentemente, a inclusão de hidrolisados de aves e suínos em dietas para tilápia-do-Nilo foi investigada com o intuito de determinar os índices de atratividade e palatabilidade. Alves et al. (2019a) utilizaram em seu estudo a inclusão ao nível de 5% na dieta de proteínas hidrolisadas tais como as de frango (PHF), fígado suíno (PHFS) e de penas (PHP) em comparação com dietas com farinha de peixe (FP) e observaram superior consumo de peletes de ração (17%) e índice de atratividade (10,82%) para a PHF, seguido da PHFS, FP e PHP. E em estudo posterior, os mesmos autores evidenciaram superiores resultados de palatabilidade para PHFS porém sem diferenças entre o consumo de peletes (Alves et al., 2019b).

Em outro estudo, realizado por Lorenz et al. (2018) ficou evidenciado que o fornecimento de diferentes hidrolisados como o de resíduos de aves, tilápia, cabeças de atum e fígado suíno em dietas para o dourado (*Salminus brasiliensis*) proporcionou superiores coeficientes de digestibilidade aparente para as frações proteicas e energéticas, superior desempenho produtivo dos animais, além da influência nas concentrações das enzimas digestivas em comparação com dietas baseadas em farinha de peixe. O hidrolisado de fígado suíno destacou-se apresentando digestibilidade em torno de 97% para a proteína sugerindo a elevada atividade de protease no trato gastrointestinal e, conseqüentemente promovendo superior desenvolvimento dos animais.

Resultados positivos também foram obtidos para o hidrolisado de fígado suíno em comparação aos de coprodutos da tilápia e de sardinha quando incluídos ao nível de até 6% em dietas para o surubim do Iguaçu (*Steindachneridion malanodermatum*), sendo evidenciados superiores parâmetros zootécnicos como o ganho em peso sem influenciar nos metabólitos plasmáticos como o colesterol, triacilglicerol e proteínas totais, além da composição físico-química da carcaça (Lewandowski et al., 2013). Para o pintado Real® (*Pseudoplatystoma* sp.) os parâmetros de conversão alimentar e taxa de eficiência proteica foram superiores para os hidrolisados de fígado suíno e coprodutos da tilápia quando incluídos a 20% na dieta (Dieterich, 2014).

4.3 Proteína hidrolisada de frango

A Proteína Hidrolisada de Frango (PHF) é um produto obtido através da hidrólise enzimática de coprodutos da cadeia integrada de aves, constituída por vísceras e carne de frango, conferindo um alimento proteico, com baixo teor de gordura e cinzas e com propriedades nutricionais elevadas devido ao fracionamento da cadeia polipeptídica das proteínas intactas. Tem sido recentemente produzida industrialmente e estudada na nutrição de peixes, evidenciando que este produto é altamente digestível para a tilápia-do-Nilo. Segundo Dos Santos (2019) e Rocha (2018) a digestibilidade aparente das frações proteicas, incluindo os aminoácidos essenciais e não essenciais, e da energia é superior a 90%. Além disso, quando incluída a taxa de 2,5% em dietas para pós-larvas e de 3% para alevinos de tilápia promove benefícios ao desempenho dos animais, proporcionando melhores parâmetros zootécnicos como o ganho em peso e taxa de crescimento específico (Rocha, 2018).

Luczinski (2019) evidenciou que a inclusão da PHF ao nível de até 4% em dietas para tilápias com peso médio em torno de 300 gramas promoveu alterações morfológicas do intestino e supostamente influenciou no metabolismo energético dos animais devido a alterações nos metabólitos plasmáticos como diminuição dos triacilgliceróis e colesterol e, do aumento do bom colesterol HDL, possivelmente refletindo em superior rendimento de filé e com baixo teor de gordura, porém sem determinar diferenças sobre o crescimento.

Os resultados positivos que os hidrolisados podem oferecer ao desempenho dos animais devido a sua composição nutricional e pelas propriedades funcionais conferidas são evidentes. Portanto, a composição em aminoácidos e os compostos bioativos dos hidrolisados podem ter papel importante em algumas atividades fisiológicas podendo ser nutracêuticas ou servir como alimentos funcionais (Chalamaiah et al., 2012) afetando diretamente ou indiretamente a manutenção da vida dos peixes. Entretanto, para a fase de reprodução até o momento não foram identificados estudos que indiquem o seu uso como ingrediente alternativo na nutrição de reprodutores.

4.4 Nutrição de reprodutores de tilápia

Nos dias atuais, a maior parte das formas jovens de tilápia-do-Nilo é produzida por meio de hapas devido a facilidade de coleta e o controle sobre as desovas, favorecendo a incubação artificial e o manejo das larvas, proporcionando maior controle

zootécnico. Este sistema intensivo de produção exige uma manutenção nutricional adequada para as fêmeas em virtude da demanda metabólica necessária para os processos reprodutivos, bem como defesa contra o comportamento agressivo dos machos, cuidado parental, defesa territorial (El-Sayed e Kwanna, 2008) e especialmente durante a incubação dos ovos (Mackintosh e Little, 1995) por ficarem privadas de alimentação até completa absorção do saco vitelínico das larvas ou coleta dos ovos.

Para produção de formas jovens ser bem sucedida deve-se atender os requisitos nutricionais específicos para os reprodutores devido a suas influências nos parâmetros reprodutivos como a fecundidade, a sobrevivência, o tamanho, qualidade e quantidade dos ovos e larvas (Bromage, 1998). Muitos estudos abordam a importância do manejo nutricional e alimentar sobre os reflexos positivos e negativos que podem vir a ocorrer no desenvolvimento reprodutivo de fêmeas e machos de tilápia. No entanto, ainda são insuficientes frente a complexidade da reprodução e sua interação com a nutrição.

Nutrientes específicos da dieta podem influenciar diretamente os processos do desenvolvimento dos folículos ovarianos, ovulação, maturação oocitária, fertilização, sobrevivência embrionária e, indiretamente, as concentrações circulantes de hormônios e outros metabólitos sensíveis aos nutrientes que são requeridos para o êxito destes processos (Robinson et al., 2006). Além disso, o atendimento às condições nutricionais e reprodutivas ideais desempenha papel fundamental para o crescimento e manutenção da saúde dos peixes diante das situações estressantes inerentes à atividade produtiva.

Segundo Izquierdo et al. (2001) o desempenho variável e imprevisível é um fator limitante para a produção em massa de juvenis. Uma melhoria na nutrição e alimentação dos reprodutores pode otimizar a produtividade resultando em melhor qualidade dos óvulos, sêmen e consequentemente no desenvolvimento inicial da prole devido a relação com processo de maturação gonadal e a fecundidade os quais são afetados por certos nutrientes dietéticos essenciais, especialmente nos peixes de desova contínua com períodos vitelogênicos curtos. Contudo, estudos direcionados à nutrição de reprodutores são escassos muitas vezes por serem relativamente dispendiosos e difíceis de ser conduzidos. Portanto, satisfazer os requisitos nutricionais para uma boa performance dos reprodutores é fator chave para alavancar a produtividade e fornecer formas juvenis em quantidade e qualidade para o elo da cadeia produtiva destinada a terminação desta espécie.

A utilização da tecnologia de obtenção e utilização de hidrolisados proteicos de origem animal é estudada em diversas áreas incluindo a aquicultura. Contudo, hidrolisados de coprodutos da cadeia de aves surgem como uma alternativa promissora diante da quantidade de matéria prima e da qualidade nutricional conferidas. Podem ser empregados como ingrediente alternativo na composição de dietas para reprodutores, pois para esta fase são exigidos níveis nutricionais adequados os quais irão influenciar na qualidade dos ovócitos e do sêmen, assim como no desenvolvimento da prole. Portanto, a pesquisa surge com ineditismo e pretendeu alcançar resultados que norteiem os nutricionistas que atuam no setor aquícola.

5. Referências bibliográficas

- Alves, D. R. S., Silva, T. C., Rocha, J. D. M., Oliveira, S. R., Signor, A. & Boscolo, W. R. (2019a). Compelling palatability of protein hydrolysates for Nile tilapia juveniles. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 47, 371-376. <http://dx.doi.org/10.3856/vol47-issue2-fulltext-19>
- Alves, D. R. S., Oliveira, S. R., Luczinski, T. G., Paulo, I. G. P., Boscolo, W. R., Bittencourt, A., & Signor, A. (2019b). Palatability of Protein Hydrolysates from Industrial Byproducts for Nile Tilapia Juveniles. *Animals*, 9, 311. <https://doi.org/10.3390/ani9060311>
- Arredondo-Figueroa, J. L., Ponce-Palafox, J. T., Shirai-Matsumoto, K., Pérez-Zavaleta, Á.; Barriga-Sosa, I. D. L. Á., & Ruiz Luna, A. (2013). Effects of including shrimp protein hydrolysate in practical diets on the growth and survival of redclaw crayfish hatchlings *Cherax quadricarinatus* (Von Martens, 1868). *Aquaculture Research*, 44(6), 966-973. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2012.03102.x>
- Boscolo, W. R., Hayashi, C., Soares, C. M., Furuya, W. M., & Meurer, F. (2001). Desempenho e características de carcaça de machos revertidos de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), linhagens tailandesa e comum, nas fases inicial e de crescimento. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 30(5), 1391-1396. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982001000600001>
- Broggi, J. A., Wosniak, B., Uczay, J., Pessatti, M. L., & Fabregat, T. E. H. P. (2017). Sardine waste protein hydrolysate as feeding stimulant for silver catfish juveniles. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 69, 2, 505-512. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-8348>
- Bromage, N. (1998). Broodstock management and the optimisation of seed supplies. *Aquaculture Science*, 46(3), 395-401. <https://doi.org/10.11233/aquaculturesci1953.46.395>
- Chalamaiah, M., Narsing Rao, G., Rao, D. G., & Jyothirmayi, T. (2010). Protein hydrolysates from meriga (*Cirrhinus mrigala*) egg and evaluation of their

functional properties. *Food Chemistry*, 120, 652–657.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.057>

Chalamaiah, M., Dinesh Kumar, B., Hemalatha, R., & Jyothirmayi, T. (2012). Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. *Food Chemistry*, 135, 3020–3038.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.100>

Dabrowski, K. (1984). The feeding of fish larvae: present «state of the art» and perspectives. *Reproduction Nutrition Développement*, 24(6), 807-833.
https://rnd.edpsciences.org/articles/rnd/pdf/1984/07/RND_0181-1916_1984_24_6_ART0001.pdf

Dieterich, F. (2014). Desenvolvimento, avaliação físico-química e biológica de hidrolisado proteico de resíduos agroindustriais para surubim. Jaboticabal – SP. Tese (Doutorado). Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP – CAUNESP.
<https://repositorio.unesp.br/handle/11449/108942>

Dos Santos, M. C. (2019). Digestibilidade aparente de hidrolisados proteicos de resíduos do abate de frangos e suínos pela tilápia do Nilo. Toledo – PR. Dissertação (mestrado) Programa Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca. Universidade Estadual Do Oeste Do Paraná.

El-Sayed, A. F. M., & Kawanna, M. (2008). Effects of dietary protein and energy levels on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock in a recycling system. *Aquaculture*, 280(1-4), 179-184.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.04.030>

Folador, J. F., Karr-Lilienthal, L. K., Parsons, C. M., Bauer, L. L., Utterback, P. L., Schasteen, C. S., Bechtel, P. J., & Fahey Jr, G. C. (2006). Fish meals, fish components, and fish protein hydrolysates as potential ingredients in pet foods. *Journal of Animal Science*, 84, 2752–2765.
<https://doi.org/10.2527/jas.2005-560>

Food and Agriculture Organization Of The United Nations (FAO). (2019). Fishery and Aquaculture Statistics.
<http://www.fao.org/fishery/statistics/yearbook/en>

Food And Agriculture Organization Of The United Nations (FAO). (2018). The State of World Fishiries and Aquaculture (SOFIA). Rome, Italy. pp. 227.
<http://www.fao.org/documents/card/en/c/I9540EN/>

Food and Agriculture Organization Of The United Nations (FAO). (2016). The State of World Fishiries and Aquaculture (SOFIA). Rome, Italy. pp. 253.
<http://www.fao.org/documents/card/es/c/357c79a0-7fee-428f-a04e-9e86ba1a2ac5/>

Gilbert, E. R., Wong, E. A., & Webb Jr, K. E. (2008). Board-invited review: peptide absorption and utilization: implications for animal nutrition and health. *Journal of animal science*, 86(9), 2135-2155.
<https://doi.org/10.2527/jas.2007-0826>

Hevroy, E. M, Espe, M., Waagbo, R., Sandnes, K., Ruud, M., & Hemre, G. I. (2005). Nutrient utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed increased levels of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. *Aquaculture nutrition*, 11, 301-313.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2005.00357.x>

Huang, D., Ou, B., & Prior, R. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 53, 1841–1856.
<https://doi.org/10.1021/jf030723c>

Izquierdo, M. S., Fernandez-Palacios, H., & Tacon, A. G. J. (2001). Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*, 197, 25-42.
[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00581-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00581-6)

Kristinsson, H. G., & Rasco, B. A. (2000). Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties. *Critical reviews in food science and nutrition*, 40(1), 43-81.
<https://doi.org/10.1080/10408690091189266>

Lewandowski, V., Decarli, J. A., Pedron, F. de A., Feiden, A., Signor, A., & Boscolo, W.R. (2013). Hidrolisados cárneos na alimentação do surubim do Iguaçu (*Steindachneridion melanodermatum*). *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, 20, 222–226.
<http://dx.doi.org/10.4322/rbcv.2014.008>

Liaset, B., Nortvedt, R., Lied, E., & Espe, M. (2002). Studies on the nitrogen recovery in enzymatic hydrolysis of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) frames by ProtamexTM protease. *Process Biochemistry*, 37, 1263-1269.
[https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(02\)00003-1](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(02)00003-1)

Lorenz, E. K., Barone, R. S. C., Yamamoto, F. Y., & Cyrino, J. E. P. (2018). Dietary protein hydrolysates from animal by-products: digestibility and enzymatic activity for dourado *Salminus brasiliensis*. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 27, 236-246.
<https://doi.org/10.1080/10498850.2018.1424745>

Luczinski, T. G. (2019). Proteína hidrolisada de frango em dietas para juvenis de tilápia do Nilo. Toledo – PR. Dissertação (mestrado) Programa Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca. Universidade Estadual Do Oeste Do Paraná.

Malav O. P.; Birla R.; Virk K. S.; Sandhu H. S.; Mehta N.; Kumar P. & Wagh R. (2018). Safe Disposal of Slaughter House Waste. Approaches in Poultry. *Dairy e Veterinary Sciences*, 2(4).
<https://doi.org/10.31031/APDV.2018.02.000542>

Macintosh, D.J., Little, D.C., 1995. Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). In: Bromage, N.R., Roberts, J.R. (Eds.), Brood stock management and egg and larval quality. Blackwell Sciences, Oxford, pp. 277 – 320.

Pasupuleti, V. K., & Braun, S. (2010). State of the art manufacturing of protein hydrolysates. *Protein Hydrolysates in Biotechnology*, 11–32.; https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6674-0_2

Pedersen, B. (1994). Removing bitterness from protein hydrolysates. *Food technology (Chicago)*, 48(10). <http://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=3351421>

PeixeBr, 2019. Anuário PeixeBr da Piscicultura, 148 p. <https://www.peixebr.com.br/anuario-peixe-br-da-piscicultura-2019/>

Pihlanto-Leppälä, A. (2001). Bioactive peptides derived from bovine whey proteins: opioid and ace-inhibitory peptides. *Trends Food Science and Technology*, 11:347–356. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(01\)00003-6](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(01)00003-6)

Rajabzadeh, M., Pourashouri, P., Shabanpour, B., & Alishahi, A. (2017). Amino acid composition, antioxidant and functional properties of protein hydrolysates from the roe of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *International journal of food science & technology*, 53(2), 313-319. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13587>

Robert, M., Zatylny-Gaudin, C., Fournier, V., Corre, E., Le Corguillé, G., Bernay, B., & Henry, J. (2015). Molecular characterization of peptide fractions of a Tilapia (*Oreochromis niloticus*) by-product hydrolysate and in vitro evaluation of antibacterial activity. *Process Biochemistry*, 50(3), 487-492. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.12.022>

Robinson, J. J., Ashworth, C. J., Rooke, J. A., Mitchell, L. M., & McEvoy, T. G. (2006). Nutrition and fertility in ruminant livestock. *Animal Feed Science and Technology*, 126, 259–76. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.08.006>

Rocha J. D. A. M. (2018). Proteína hidrolisada de frango para tilápia do Nilo: digestibilidade e desempenho produtivo. Toledo – PR. Tese (doutorado) Programa Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca. Universidade Estadual Do Oeste Do Paraná.

Shokr, E. S. (2015). Effect of Follicular Stimulating Hormone and Leutinizing Hormone on Reproduction, Physiological and Biochemical Changes of *Oreochromis niloticus*. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences Physiology & Molecular Biology*, 7(1), 61-73. <https://doi.org/10.21608/EAJBSC.2015.13703>

Siddik, M. A., Howieson, J., & Fotedar, R. (2019). Beneficial effects of tuna hydrolysate in poultry by-product meal diets on growth, immune response, intestinal health and disease resistance to *Vibrio harveyi* in juvenile barramundi, *Lates calcarifer*. *Fish & shellfish immunology*, 89, 61-70. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.03.042>

Silva, V. G., & de Castro, R. J. S. (2019). Enzymatic Hydrolysis of Proteins from Chicken Viscera in the Presence of an Ionic Liquid Enhanced Their Antioxidant Properties. *Waste and Biomass Valorization*, 1-11. <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00693-y>

Toldrá, F., & Reig, M. (2011). Innovations for healthier processed meats. *Trends in Food Science & Technology*, 22, 517-522. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.08.007>

Toldrá, F., Aristoy, M. C., Mora, L., & Reig, M. (2012). Innovations in value-addition of edible meat by-products edible meat by-products. *Meat Science*, 92, 290-296. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.04.004>

Tu, M., Cheng, S., Lu, W., & Du, M. (2018). Advancement and prospects of bioinformatics analysis for studying bioactive peptides from food-derived protein: Sequence, structure, and functions. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 105, 7-17. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.04.005>

USDA - United States Department of Agriculture, 2018. <https://www.usda.gov/our-agency/about-usda>

Valle, B. C. S., Dantas Jr, E. M., Silva, J. F. X., Bezerra, R. S., Correia, E. S., Peixoto, S. R. M., & Soares, R. B. (2014). Replacement of fishmeal by fish protein hydrolysate and biofloc in the diets of *Litopenaeus vannamei* post larvae. *Aquaculture Nutrition*, 21(1), 105-112. <https://doi.org/10.1111/anu.12149>

Zheng, K., Liang, M., Yao, H., Wang, J., & Chang, Q. (2012). Effect of size-fractionated fish protein hydrolysate on growth and feed utilization of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture Research*, 44(6), 895-902. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2012.03094.x>

Artigo I

O artigo, “Proteína hidrolisada de frango em dietas para fêmeas de tilápia-do-Nilo” está formatado de acordo com as normas das revista científica Aquaculture Research, <https://onlinelibrary.wiley.com/journal/13652109>

Artigo I - Proteína hidrolisada de frango em dietas para fêmeas de tilápia-do-Nilo

1. Resumo

O estudo objetivou avaliar o desempenho reprodutivo de fêmeas de tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas contendo Proteína Hidrolisada de Frango (PHF), assim como sua ação sobre as concentrações dos metabólitos plasmáticos e composição química dos ovos. O experimento foi dividido em duas fases, totalizando 192 dias. Na *Fase I* (Preparatória) utilizou-se 360 fêmeas ($587,60 \pm 38,05$ g) distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado em 24 hapas de 6 m^3 e 120 machos ($745,92 \pm 124,54$ g) em seis hapas de 15 m^3 dispostos em um viveiro escavado de 4.000 m^2 . Fêmeas e machos foram alimentados com taxa de 1% do peso vivo por dia com controle (sem PHF) e dietas contendo níveis crescentes de PHF (1%, 2%, 3%, 4% e 5%) divididas em duas refeições diárias. Na *Fase II* (Reprodução) realizou-se o acasalamento dos animais e coletas de ovos durante o período de 102 dias. Não foram evidenciados efeitos estatísticos significativos ($P > 0,05$) nos parâmetros reprodutivos avaliados. No entanto, as concentrações de albumina plasmática e fosfatase alcalina foram significativamente superiores ($P < 0,05$) nas fêmeas alimentadas com rações contendo 5% de PHF. Os demais metabólitos plasmáticos e a composição química dos ovos não diferiram ($P > 0,05$) entre os grupos. Há ocorrência de possível sobrecarga no estado metabólico dos animais ao nível de 5% da PHF devido à superiores concentrações dos metabólitos albumina e fosfatase alcalina no plasma, sugerindo que a inclusão de até 4% da PHF em dietas pode ser realizada como fonte proteica alternativa sem comprometer o estado metabólico e a reprodução da tilápia-do-Nilo.

Palavras-chave: coprodutos agroindustriais, nutrição de reprodutores, peptídeos bioativos.

2. Abstract

The objective of this study was to evaluate the reproductive performance of Nile tilapia females fed with diets containing Poultry Hydrolyzed Protein (PHF), as well as their action on plasma metabolite concentrations and egg chemical composition. The experiment was divided into two phases, totaling 192 days. In *Phase I* (Preparatory), 360 females (587.60 ± 38.05 g) were randomly distributed in 24 hapas with 6 m³ and 120 males (745.92 ± 124.54 g) in six hapas with 15 m³ arranged in a earth pond with 4,000 m². Males and females were fed 1% of body weight per day with diets containing increasing levels of PHF (1%, 2%, 3%, 4% and 5%) and control diet (without PHF) divided into two daily meals. In *Phase II* (Reproduction) the animals were mated and the eggs collected during the 102 days period. No statistically significant effects ($P > 0.05$) were observed on the reproductive parameters evaluated. However, plasma albumin and alkaline phosphatase concentrations were significantly higher ($P < 0.05$) in females fed diets containing 5% PHF. The other metabolites and the chemical composition of the eggs did not differed ($P > 0.05$) among groups. However, there is a possible overload in the animals' metabolic state at the level of 5% of PHF due to higher concentrations of the metabolites albumin and alkaline phosphatase in plasma, suggesting that supplementation of up to 4% of PHF in diets can be performed as a protein source alternative without compromising the health and reproduction of Nile tilapia.

Key-words: agroindustrial by-products, breeding nutrition, bioactive peptides.

3. Introdução

A criação de tilápias está crescendo de maneira notável no âmbito do agronegócio mundial devido a características favoráveis como a facilidade de produção, rápido crescimento, alta resistência a doenças e carne com boas características organolépticas (Shokr, 2015). Além disso, a espécie apresenta vantagens reprodutivas quando relacionada a outras espécies de peixes, como maturação sexual precoce e capacidade de se reproduzir durante todo o ano em condições ambientais favoráveis (Lim e Webster, 2006; Ng e Romano, 2013).

Entretanto, possui baixa fecundidade e reprodução assíncrona (Ridha e Cruz, 2000), o que requer esforços contínuos em busca por estratégias de manejo e nutrição eficientes que visam a otimização da produtividade para atender a demanda no fornecimento de formas jovens. Neste sentido, a interação entre a nutrição e reprodução é uma das mais relevantes na produção de larvas e alevinos e ganha interesse por estar diretamente relacionada ao desempenho reprodutivo dos peixes (Bhujel et al., 2001; El-Sayed, 2019).

Esta relação está associada à nutrientes específicos necessários aos reprodutores, os quais intervirão diretamente nos processos de desenvolvimento dos folículos ovarianos, ovulação, maturação oocitária, fertilização, sobrevivência embrionária e larval e, indiretamente no estado endócrino e outros metabólitos sensíveis aos nutrientes essenciais à demanda metabólica reprodutiva (Robinson et al., 2006). Esta necessidade nutricional ocorre principalmente em peixes que possuem desova contínua com períodos vitelogênicos curtos (Izquierdo et al., 2001) como exemplo, a tilápia.

Embora alguns estudos tenham abordado a necessidade de uma nutrição específica para os reprodutores de tilápia, como os níveis de proteína dietética e energia (Gunasekera et al., 1995; Gunasekera et al., 1996; Siddiqui et al., 1998; El-Sayed e Kawanna, 2008; Bombardelli et al., 2009; Lupatsch et al., 2010; Orlando et al., 2017; Bombardelli et al., 2017; Ribeiro et al., 2017) e de nutrientes como aminoácidos (Al-Feky et al., 2016), vitaminas e minerais (Soliman et al., 1986; Barros et al., 2002; Pereira et al., 2009; Nascimento et al., 2014; Sarmiento et al., 2018), ainda há carência em investigações relacionadas à avaliação de fontes nutricionais alternativas e suplementares, principalmente as proteicas, no intuito de identificar suas propriedades e o potencial de aplicabilidade em dietas para reprodutores.

Dentre os diversos ingredientes alternativos de origem animal destinados as formulações de dietas para peixes destacam-se os hidrolisados. Esses constituem uma excelente fonte de nutrientes como aminoácidos essenciais, minerais, vitaminas (Broggi et al., 2017; Toldrá et al., 2012) e peptídeos bioativos (Toldrá e Reig, 2011), com potencial aplicação na composição de dietas para animais de estimação e aquicultura (Folador et al., 2006).

Podem ser obtidos pelo fracionamento da cadeia polipeptídica das proteínas pela ação de agentes químicos (ácidos ou álcalis) ou biológicos (enzimas) (Pasupuleti e Braun, 2010) utilizando coprodutos agroindustriais de baixo valor agregado inerentes a atividade de abate de peixes, aves e suínos.

O processo de hidrólise disponibiliza peptídeos curtos e certos aminoácidos como a taurina, glicina, arginina, ácido glutâmico e alanina, os quais podem influenciar nos mecanismos sensoriais e processos metabólicos como a atratividade (Alves et al., 2019a), palatabilidade (Alves et al., 2019b), modulação da absorção e motilidade gastrointestinal e do metabolismo endócrino, refletindo em melhores índices de desenvolvimento dos animais (Gilbert et al., 2008; Pasupuleti et al., 2008; Martínez-Alvarez, 2013).

Estudos demonstram a utilização dos hidrolisados em benefício da melhoria dos parâmetros zootécnicos dos peixes (Lewandowski et al., 2013), como conversão alimentar aparente e taxa de eficiência proteica (Dieterich, 2014). Além disso, podem influenciar nas concentrações das enzimas digestivas promovendo a digestibilidade aparente dos nutrientes e energia, e consequentemente no desempenho produtivo (Lorenz et al., 2018). Assim, os aminoácidos livres e as pequenas cadeias peptídicas presentes nos hidrolisados podem apresentar propriedades nutracêuticas ou servir como alimentos funcionais (Chalamaiah et al., 2012).

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar a performance reprodutiva de fêmeas de tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de inclusão da PHF.

4. Material e métodos

4.1 Local e período

O experimento foi realizado na Aquicultura Venites (latitude 24°41'44" sul e longitude 53°46'48" oeste), localizada no município de Toledo, Paraná, Brasil, durante

192 dias. O mesmo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Protocolo nº 32/19).

4.2 Dietas experimentais

As dietas experimentais foram formuladas no software SuperCrac® e processadas atendendo as exigências nutricionais de macro-nutrientes (Oliveira et al., 2014; Orlando et al., 2017) e micronutrientes (Furuya, 2010), sendo isoproteicas e isoenergéticas (Tabela 1).

Os ingredientes foram pesados, homogeneizados e moídos em moinho tipo martelo (Vieira®) com peneiras de 0,3 mm. Após, as dietas foram umedecidas com 20% de água e submetidas ao processo de extrusão em extrusora (Ex-Micro®) com matriz de 4 mm e secas em estufa de circulação de ar forçada a temperatura de 55° C por 24 horas.

Realizou-se análises de proteína bruta, extrato etéreo, umidade, matéria mineral (AOAC, 2000) e de aminoácidos (essenciais e não essenciais) das rações e da PHF (Tabela 2) (CBO – Valinhos-SP). A energia bruta foi determinada em bomba calorimétrica (IKA® C 2000 basic).

Tabela 1 - Composição da dieta controle e das dietas contendo níveis crescentes de inclusão de proteína hidrolisada de frango (PHF) para fêmeas de tilápia-do-Nilo.

Composição	Dietas (Inclusão PHF)					
	Controle	1%	2%	3%	4%	5%
<i>Ingredientes (g kg⁻¹)</i>						
Farinha de penas ¹	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Farelo de soja – 46% PB ¹	353,30	342,30	331,40	320,50	309,80	298,70
Farinha de vísceras de aves ¹	170,00	164,00	158,00	152,00	146,00	140,00
Milho grão ¹	205,30	206,90	208,40	209,90	211,40	213,00
Farelo de trigo ¹	120,00	126,00	132,00	138,00	144,00	150,00
Óleo de soja ¹	29,80	28,70	27,70	26,70	25,60	24,60
Proteína hidrolisada de frango ¹	0,00	10,00	20,00	30,00	40,00	50,00
Sal - NaCl	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Calcário	1,90	2,20	2,40	2,60	2,80	3,00
Cloreto de colina ²	1,30	1,30	1,30	1,30	1,30	1,30
DL- Metionina ³	3,00	3,00	2,90	2,90	2,80	2,80
Fosfato bicálcico	1,90	2,30	2,70	3,10	3,50	3,90
L-Lisina – HCL ⁴	0,80	0,60	0,50	0,30	0,10	0,00
Premix mineral e vitamínico ⁵	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Vitamina E ⁶	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Vitamina C ⁷	2,20	2,20	2,20	2,20	2,20	2,20
Propionato de cálcio	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50
Antioxidante ⁸	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Total	1000,00	1000,00	1000,00	1000,00	1000,00	1000,0

¹BRF Ingredients Ltda[®]; ²Cloreto de colina (60%); ³DL-Metionina Evonik[®] (99%); ⁴L-Lisina HCL Evonik[®] (54,6%); ⁵Níveis de garantia por quilograma do produto: Vit. A, 500.00 UI; Vit. D3, 200.00 UI; Vit. E, 5.000 mg; Vit. K3, 1.000 mg; Vit. B1, 1.500 mg; Vit. B2, 1.500 mg; Vit. B6, 1.500 mg; Vit. B12, 4.000 mg; Nicotinamida, 7.000 mg; Colina, 40.000 mg; Biotina, 50,00 mg; Pantotenato Cálcio, 4.000 mg; Vit. C, 15.000 mg; Ácido Fólico, 500,00 mg; Inositol, 10.000 mg; Ferro, 5.000 mg; Iodo, 50,00 mg; Manganês, 1.500 mg; Zinco, 5.000 mg; Selênio, 10,00 mg; Cobre, 500,00 mg; Cobalto, 10,00 mg; ⁶Vitamina E (50%); ⁷Vitamina C (30%); ⁸Banox-Alltech[®].

Tabela 2 - Composição proximal e perfil de aminoácidos da proteína hidrolisada de frango (PHF) e das dietas experimentais para fêmeas de tilápia-do-Nilo.

Composição	Dietas (Inclusão PHF)						PHF
	Controle	1%	2%	3%	4%	5%	
<i>Composição físico-química (g kg⁻¹)</i>							
Matéria seca	920,30	917,50	926,30	948,30	934,40	928,10	936,20
Proteína Bruta	391,20	396,60	399,40	390,10	397,50	397,90	780,40
Energia bruta (kJ g ⁻¹)	16,40	16,50	16,60	16,40	16,90	16,70	20,30
Extrato etéreo	72,90	71,00	74,30	71,50	74,00	73,10	119,70
<i>Aminoácidos essenciais (g kg⁻¹)</i>							
Arginina	27,50	27,30	28,00	26,70	28,00	27,50	47,70
Histidina	8,90	8,80	9,30	9,20	9,50	8,80	17,60
Isoleucina	17,20	16,80	17,00	15,90	17,50	16,50	30,50
Leucina	30,50	30,50	30,20	29,50	30,20	30,30	55,30
Lisina	21,90	21,70	22,20	22,40	22,60	21,70	48,90
Metionina	8,10	8,00	8,00	8,50	8,60	8,50	17,40
Fenilalanina	18,90	17,70	19,00	17,80	19,00	18,40	30,00
Treonina	16,10	16,30	16,30	15,70	16,50	16,50	29,40
Valina	20,20	19,70	20,20	17,10	20,70	19,50	37,60
Triptofano	4,06	4,05	4,05	4,04	4,03	4,02	5,10
<i>Aminoácidos não-essenciais (g kg⁻¹)</i>							
Ácido aspártico	36,80	34,50	34,20	35,30	35,50	34,80	66,00
Ácido glutâmico	61,20	60,40	60,20	61,70	61,40	60,40	103,40
Alanina	21,50	21,30	22,00	21,30	22,00	22,00	49,40
Cistina	6,30	6,30	6,40	3,60	5,60	7,10	9,90
Glicina	27,70	27,70	26,60	26,70	27,90	28,70	64,20
Prolina	26,10	26,20	26,70	24,20	26,50	26,30	43,30
Serina	24,40	25,10	24,70	21,70	25,00	25,00	30,30
Taurina	0,70	0,70	0,70	0,90	0,90	0,90	7,20
Tirosina	12,70	12,50	12,70	12,40	12,50	12,50	23,00
<i>Total aminoácidos (g kg⁻¹)</i>	390,76	386,55	391,45	375,24	393,93	389,02	717,00

4.3 Delineamento experimental

Utilizou-se um viveiro escavado de 4.000 m² de lâmina de água onde 24 hapas (6 m³, malha de 1 mm) foram instaladas para a distribuição das fêmeas e seis hapas (15 m³, malha 5 mm) para a distribuição dos machos, ambos em delineamento inteiramente casualizado. Paralelamente, foi desenvolvido um sistema de recirculação de água (3.000 L) para a incubação artificial dos ovos composto por 24 incubadoras (3 L) cilíndricas cônicas.

O experimento foi realizado em duas fases: *Fase I – Preparatória*: preparação nutricional dos animais mediante ao fornecimento das dietas experimentais por 90 dias; *Fase II – Reprodução*: acasalamento dos animais, compreendendo 102 dias. Durante as duas fases, fêmeas e machos receberam as dietas experimentais conforme os respectivos tratamentos.

4.4 Fase I – Preparatória

Foram utilizadas 360 fêmeas e 120 machos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) da variedade GIFT. Todos os animais foram anestesiados com solução de benzocaina (100 mg L^{-1}) (Gomes et al., 2001) pesados (0,01 g) e medidos (0,1 cm). As fêmeas foram identificadas eletronicamente com microchips (Animalltag®) e distribuídas nos respectivos hapas em delineamento inteiramente casualizado (DIC) composto por seis tratamentos com quatro repetições cada, na densidade de 15 fêmeas por hapa. Os machos foram mantidos separadamente em seus respectivos hapas na densidade de 20 machos por hapa por um período de 90 dias.

Os tratamentos consistiram na oferta de seis dietas isoproteicas e isoenergéticas contendo níveis crescentes de PHF (1%, 2%, 3%, 4% e 5%) e uma dieta controle (C - sem PHF). Os reprodutores (fêmeas e machos) foram alimentados com taxa de 1% do peso vivo por dia (corrigidos cada 30 dias por meio de biometrias) divididos em duas refeições diárias, as 10:00 h e 16:00 h. Ao final desta fase foi realizado os cálculos de conversão alimentar aparente ($CAA = \text{quantidade de ração ofertada} / \text{ganho em peso}$) das fêmeas dos diferentes grupos.

4.5 Fase II – Reprodução

Após a Fase I, realizou-se o acasalamento e coleta de ovos das fêmeas. Para isto, os machos foram transferidos para os hapas das fêmeas conforme os respectivos tratamentos permanecendo por 26 dias. A primeira coleta de ovos ocorreu após cinco dias de acasalamento entre os animais na proporção de 3 fêmeas:1 macho (Macintosh e Little, 1995).

Após este período (cinco dias), os hapas foram suspensos da lâmina de água e a cavidade bucofaríngea das fêmeas foi verificada para detecção da presença de ovos, e na ocorrência de desovas, os mesmos foram removidos em recipientes plásticos individuais e realizou-se a identificação do chip da fêmea através de um leitor de microchips, sendo que as mesmas foram pesadas (g) e devolvidas aos hapas. As

coletas subsequentes foram realizadas a cada sete dias, totalizando 26 dias de acasalamento. Após, os machos foram retirados dos hapas das fêmeas e foi realizado o descanso reprodutivo por 12 dias (Tacon et al., 1996) (Figura 1). Este procedimento foi realizado por três vezes ao longo da *Fase II*.

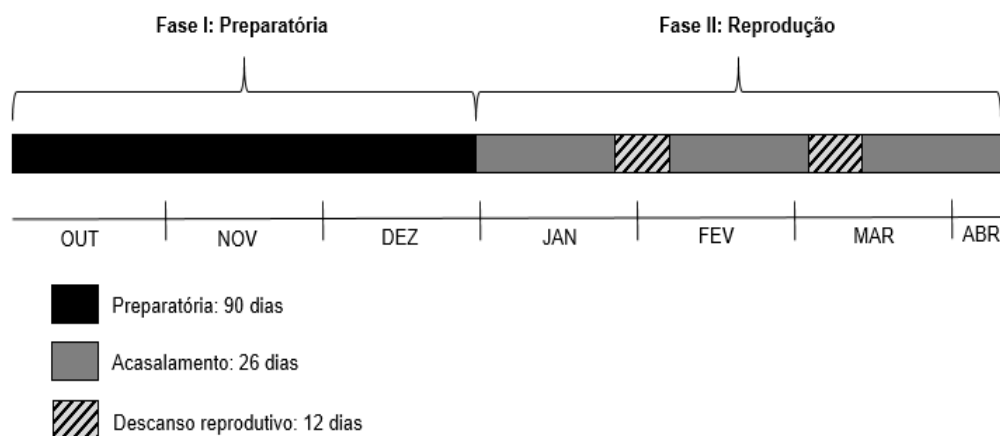


Figura 1 - Manejo reprodutivo adotado durante o período experimental.

Os recipientes contendo os ovos coletados foram identificados e levados ao laboratório para a mensuração do peso da desova por fêmea (g), contagem direta da quantidade de ovos por grama de desova e, mensuração das médias das taxas de fertilização. Além disso, uma alíquota (1 g) de ovos foi fixada em solução de Gilson (Simpson, 1951) para a mensuração do diâmetro de 100 ovos de cada repetição dos tratamentos em cada coleta. A medição foi realizada em estereomicroscópio (Olympus SZX7) com câmera digital acoplada (Olympus DP73) e auxílio de software (Olympus CellSens standard) para determinação do diâmetro médio (mm), o qual foi calculado mediante a média aritmética entre o eixo vertical e horizontal dos ovos (Ribeiro et al., 2017).

Parte dos ovos (20g) foi acondicionada em embalagens plásticas e congelados (-80 °C). Após, foram liofilizados para a realização das análises de matéria seca, umidade, proteína bruta e matéria mineral (AOAC, 2000). Os demais ovos (10 g) foram aclimatados e alocados nas incubadoras de acordo com os tratamentos até o momento da eclosão. Posteriormente, as larvas eclodidas foram contadas individualmente para a avaliação das médias das taxas de eclosão. Para a mensuração do tamanho das larvas (mm) 50 exemplares de cada repetição dos tratamentos foram fixados em solução de formalina 10% e após medidas em estereomicroscópio.

A produção de ovos foi avaliada por meio dos seguintes parâmetros: peso total de ovos (g); nº total de ovos; peso ovos por fêmea (g); fecundidade absoluta: nº de ovos por fêmea; fecundidade relativa: nº de ovos por fêmea/ g de fêmea⁻¹; nº total de desovas; % fêmeas desovantes: nº total de fêmeas que desovaram x 100/ nº total de fêmeas; % fêmeas desovantes/coleta: nº de fêmeas que desovaram por coleta x 100/ nº de fêmeas; nº total de desova por fêmea: nº total de desovas/ nº total de fêmeas; fertilização: nº de ovos viáveis x 100/ nº total de ovos; e eclosão: nº de larvas x 100/ nº de ovos; e tamanho das larvas (mm).

4.6 Coleta de sangue e órgãos

Para as concentrações dos metabólitos plasmáticos foram sacrificadas oito fêmeas (n=8) de cada tratamento ao final do experimento. As fêmeas foram anestesiadas em solução de benzocaína (100 mg.L⁻¹, Gomes et al., 2001) para a realização das medidas individuais de peso (g) e comprimento (cm), e após foram submetidas à coleta de sangue via punção da veia caudal com seringas contendo solução de heparina (Ranzani-Paiva et al., 2013). As alíquotas de sangue foram centrifugadas a 3.000 rpm por 15 minutos e, em seguida foi retirado o plasma para imediata preservação em nitrogênio líquido (-196°C) e na sequência mantidas em ultrafreezer (-80°C) até o momento das análises.

As dosagens das concentrações dos metabólitos plasmáticos foram realizadas em leitor de microplacas multimodal (Varioskan®) utilizando kits específicos conforme as orientações dos fabricantes (Cortisol (COR – Diagnostics Biochem Canadá - DBC; Metabólitos plasmáticos: proteínas totais (PT), albumina (ALB), uréia (UR), glicose (GLI), colesterol total (COL), colesterol HDL (HDL), triacilgliceróis (TAG) e fosfatase alcalina – Gold Analisa®).

Para a mensuração dos índices somáticos das fêmeas foram realizadas três coletas, sendo sacrificadas oito fêmeas (n=8) de cada tratamento ao final de cada acasalamento. Para tanto, as fêmeas foram eutanasiadas em solução de benzocaína (250 mg.L⁻¹, Gomes et al., 2001), realizada a mensuração das medidas individuais de peso (g) e comprimento (cm), dissecadas para a remoção das vísceras, separação dos órgãos e, mensurados os pesos (g) dos ovários, fígado, vísceras e gordura visceral dos peixes para os cálculos dos índices somáticos dado pela relação: peso do órgão ou da gordura (g) *100/ peso do peixe (g).

4.7 Qualidade de água

Durante o período experimental os parâmetros de qualidade da água: pH e oxigênio dissolvido (mg L^{-1}) foram mensurados semanalmente por meio de uma sonda multiparâmetro YSI®. A transparência da água (m) foi mensurada semanalmente por meio do disco de Secchi e a temperatura ($^{\circ}\text{C}$) avaliada diariamente com termômetro de mercúrio. As médias dos parâmetros da água durante o período experimental foram: pH: $7,24 \pm 0,85$; oxigênio dissolvido: $5,39 \pm 1,11 \text{ mg L}^{-1}$; transparência: $26,30 \pm 4,19 \text{ cm}$; temperatura $26,12 \pm 2,50^{\circ}\text{C}$.

4.8 Análise estatística

Os dados foram avaliados pelo teste de pressupostos de normalidade (Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (Levene) de variâncias e após, à análise de variância (ANOVA - one-way), ao nível de 5% de probabilidade pelo software Statistica 7.0 (Statsoft, 2005). As médias de cortisol (COR) não atingiram os pressupostos de normalidade e homocedasticidade e foram analisadas pelo teste de Kruskal-Wallis.

5. Resultados e discussão

A PHF apresentou conteúdo proteico de $780,40 \text{ g kg}^{-1}$ e de extrato etéreo de $119,70 \text{ g kg}^{-1}$ considerados próximos a outros hidrolisados de coprodutos animais, como de suínos e peixes (Tabela 2). Além disso, verifica-se consideráveis frações peptídicas de baixo peso molecular (Distribuição do peso molecular (% de peptídeos): $200 - 500 \text{ Da} = 6,06\%$; $500 - 800 \text{ Da} = 45,45\%$; $800 - 1100 \text{ Da} = 27,27\%$; $> 1000 \text{ Da} = 21,21\%$). Dentre essas frações incluem dipeptídeos, tripeptídeos e polipeptídeos com potencial atividade biológica, como anti-hipertensiva, antioxidante e hipoglicêmica (Biopep-Uwm, 2019) assim como aminoácidos livres, com percentagem de $14,06\%$, dentre os quais alanina, leucina e ácido glutâmico em elevadas quantidades.

Estudos anteriores demonstraram que a PHF é fonte nutritiva com elevada disponibilidade das frações proteicas, energéticas e aminoacídicas, acima de 90% de digestibilidade, e quando incluída em dietas para tilápia promove benefícios a saúde e ao desempenho, proporcionando melhores parâmetros zootécnicos, aumento do rendimento de filé, refletindo em alterações morfológicas do intestino e do metabolismo energético (Rocha, 2018; Luczinski, 2019). Entretanto, seus efeitos sobre o desempenho reprodutivo de fêmeas de tilápia ainda não havia sido investigado,

tornando este trabalho um dos pioneiros na busca por informações sobre esta classe de produtos funcionais para peixes.

Após 192 dias de experimento os parâmetros de crescimento das fêmeas foram semelhantes estatisticamente ($P > 0,05$) entre os diferentes níveis de inclusão da PHF e do grupo controle (Tabela 3).

As médias de conversão alimentar aparente das dietas calculadas na *Fase I* foram semelhantes estatisticamente nos diferentes grupos (2,35 a 2,65) ($P > 0,05$) sendo similar aos encontrados por Pereira et al. (2009) e Bombardelli et al. (2017). Segundo Siddiqui et al. (1997) fêmeas de tilápia alimentadas com taxas entre 0,5 a 1% do peso vivo por dia mantém adequado desenvolvimento reprodutivo devido ao direcionamento dos recursos alimentares para a produção de oócitos ao invés de utilizados para o crescimento.

As médias dos índices gonadossomático (IGS), hepatossomático (IHS), viscerossomático (IVS) e de gordura viscerossomática (IGVS) não demonstraram diferenças estatísticas ($P > 0,05$) entre os grupos alimentados com os níveis da PHF e o grupo controle (Tabela 3). A ausência de evidências significativas nos parâmetros citados até o momento corroboram com as observações de Bombardelli et al. (2009), os quais não identificaram influência do fornecimento de dietas contendo 35% de proteína bruta e de energia digestível variando de 2.700 a 3.700 Kcal kg⁻¹ sobre o peso final e índices somáticos das fêmeas quando alimentadas a 1% do peso vivo por dia.

Diferentemente, Oliveira et al. (2014) verificaram que com aumento dos níveis dietéticos de proteína de 32% para 36% em dietas para tilápia resultou em acréscimo do IVS e do IHS, reduzindo em níveis mais altos de proteína, além disso, obtiveram para o IGS um aumento linear até o nível de 38% de proteína refletindo em melhores resultados reprodutivos. Não ocorrendo similaridade com o presente estudo.

No entanto, quando os experimentos são direcionados à avaliar este tipo de alterações somáticas, o suprimento proteico insuficiente em dietas para tilápias não ocasionou alterações significativas sobre o IGS, como demonstrando por Gunasekera et al. (1995) os quais sugeriram que as tilápias podem canalizar suas reservas corporais para garantir o recrudescimento ovariano e não interromper a reprodução, mesmo às custas de seu próprio crescimento, porém, em um tempo superior do que as fêmeas alimentadas com os níveis adequados de proteína.

Tabela 3 - Parâmetros morfométricos e índices somáticos de fêmeas de tilápia-do-Nilo alimentadas com as dietas experimentais.

Parâmetros	Dietas (% Inclusão PHF)					
	Controle	1%	2%	3%	4%	5%
PI (g) ¹	584,95 ± 65,92	596,78 ± 32,30	585,02 ± 44,23	581,75 ± 48,20	589,95 ± 28,69	587,17 ± 20,72
PF (g) ²	792,42 ± 81,67	829,06 ± 132,12	790,11 ± 72,13	868,07 ± 102,50	886,24 ± 124,97	873,55 ± 89,96
IGS (%) ³	2,59 ± 1,12	2,31 ± 1,21	3,38 ± 2,05	2,90 ± 0,95	2,21 ± 0,96	2,61 ± 0,82
IHS (%) ⁴	1,95 ± 0,34	2,02 ± 0,30	2,01 ± 0,26	2,06 ± 0,31	1,93 ± 0,23	1,99 ± 0,29
IVS (%) ⁵	10,40 ± 1,96	11,82 ± 1,73	11,27 ± 1,73	11,4 ± 1,76	10,6 ± 2,11	11,1 ± 2,66
IGVS (%) ⁶	0,78 ± 0,27	1,05 ± 0,29	0,76 ± 0,38	0,76 ± 0,35	0,81 ± 0,41	0,69 ± 0,28

Valores expressos como média ± desvio padrão. Não significativo pelo teste de Tukey ($P > 0,05$). ¹ PI: Peso inicial; ² PF: Peso final; ³ IGS: Índice gonadossomático; ⁴ IHS: Índice hepatossomático; ⁵ IVS: Índice viscerossomático; ⁶ IGVS: Índice de gordura viscerossomático.

As relações ovarianas de tilápias-do-Nilo submetidas ao manejo reprodutivo em experimentos nutricionais tem revelado certa controvérsia. Isso pode estar associado a maneira com que são realizadas as amostragens, que normalmente são aleatórias, resultando em grande variabilidade entre os valores de um mesmo grupo experimental. A tilápia apresenta reprodução assíncrona com períodos vitelogênicos relativamente curtos, que podem influenciar no peso de seus ovários e conseqüentemente a padronização das coletas em experimentos.

Neste estudo, não foram identificadas influências significativas da inclusão da PHF sobre a quantidade de ovos produzidos ($P > 0,05$). No entanto, as fêmeas alimentadas com a inclusão de 5% da PHF apresentaram um incremento produtivo de 13,21%, em valores absolutos, no peso total de ovos (1.643,09 g), refletindo no n° total de ovos (218.685,03 ovos) (Tabela 4) que representa a totalidade de ovos produzidos pelas fêmeas durante o período experimental.

Tabela 4 - Parâmetros reprodutivos de fêmeas de tilápia-do-Nilo alimentadas com as dietas experimentais.

*Parâmetros reprodutivos	Dietas (% Inclusão PHF)					
	Controle	1%	2%	3%	4%	5%
Peso total de ovos (g)	1.425,94	1.440,44	1.450,92	1.442,52	1.477,55	1.643,09
N° total de ovos	185.498,31	189.778,06	195.588,21	180.012,11	190.204,58	218.685,03
Peso ovos por fêmea (g)	16,26 ± 4,09	16,76 ± 5,78	16,28 ± 4,05	17,27 ± 7,24	16,98 ± 4,67	17,82 ± 5,83
Fecundidade absoluta	2.074 ± 518	2.222 ± 755	2.192 ± 600	2.250 ± 999	2.250 ± 661	2.373 ± 783
Fecundidade relativa	2,85 ± 0,65	2,93 ± 0,94	3,11 ± 0,87	3,02 ± 1,30	3,19 ± 0,82	3,25 ± 0,86
N° total de desovas	92,00	88,00	91,00	94,00	92,00	97,00
% fêmeas desovantes	78,33 ± 10,00	76,67 ± 8,61	80,00 ± 18,05	78,33 ± 16,67	90,00 ± 8,61	90,00 ± 8,61
% fêmeas desovantes/coleta	20,68 ± 10,00	21,15 ± 8,86	19,56 ± 11,43	21,73 ± 11,55	24,24 ± 12,93	23,35 ± 11,89
N° desova por fêmea	1,53 ± 0,18	1,47 ± 0,37	1,52 ± 0,35	1,57 ± 0,54	1,53 ± 0,20	1,62 ± 0,41
Fertilização (%)	89,15 ± 10,93	91,06 ± 15,80	93,74 ± 9,17	89,81 ± 13,47	94,41 ± 7,51	91,23 ± 8,62
Eclosão (%)	63,27 ± 15,28	62,42 ± 16,13	59,48 ± 12,50	65,36 ± 13,29	60,64 ± 8,58	59,78 ± 11,14
Diâmetro dos ovos (mm)	2,05 ± 0,12	2,11 ± 0,07	2,08 ± 0,09	2,10 ± 0,09	2,10 ± 0,09	2,06 ± 0,09
Tamanho larvas (mm)	7,83 ± 0,59	7,92 ± 0,38	7,91 ± 0,63	7,94 ± 0,24	7,56 ± 0,52	8,17 ± 0,51

Valores expressos como média ± desvio padrão. *Não significativo pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

A fecundidade de tilápia-do-Nilo é bem variável, este fato pode estar relacionado ao tamanho das fêmeas, como por exemplo, fêmeas maiores possuem uma capacidade de produzir quantidades e tamanhos superiores de ovos do que as menores (Welcomme, 1967; Lupatsch et al., 2010). Neste mesmo sentido, Pereira (2019) demonstrou que fêmeas em segunda maturação gonadal (pesando de 457 a 657 g) são mais produtivas do que as de primeira maturação (as quais pesavam de 204 a 421 g). No entanto, o suprimento nutricional frente ao custo energético da produção de gametas é provavelmente um dos fatores mais importantes envolvidos na regulação da fecundidade (Wootton e Evans 1976, Wootton e Mills, 1979).

As médias de fecundidade absoluta e relativa não foram influenciadas ($P > 0,05$) pelos níveis da PHF, assim como o diâmetro médio dos ovos em relação ao grupo controle (Tabela 4). Corroborando com os resultados obtidos por Ribeiro et al. (2018) os quais obtiveram valores similares para a fecundidade absoluta (2.208 mil ovos) e diâmetro dos ovos (2,02 mm) para fêmeas alimentadas com 38% de proteína bruta na dieta.

No entanto, os valores do presente estudo diferem dos resultados encontrados por Oliveira et al. (2014), em determinação das exigências proteicas para a mesma

espécie, porém, com tempo (120 dias) e taxa de alimentação (2%) maiores antes do período de reprodução. Os autores observaram que 38% de proteína na dieta proporcionou qualidade e quantidade superior nas desovas, resultando nas médias de fecundidade absoluta de 3.757 ovos por fêmea e 4,70 ovos por grama de fêmea para a fecundidade relativa, refletindo também no diâmetro médio dos ovos, 2,78mm em comparação com 2,30 mm obtidos para as fêmeas alimentadas com 32% de proteína na dieta.

A percentagem de fêmeas que desovaram por coleta não diferenciou significativamente ($P > 0,05$) (Tabela 4). Siddiqui et al. (1998), evidenciaram que na primeira semana de acasalamento média de 13,6% das fêmeas desovaram, no entanto na segunda semana os percentuais foram em torno de 60%, mas decrescendo para 15,7% na terceira semana.

Diferentemente do observado no presente estudo, no qual foi constatada constância de 21,78% de fêmeas que desovaram em cada uma das coletas. No entanto, apesar de não significativa ($P > 0,05$) foram evidenciados uma percentagem total de desova satisfatória, média de $78,33 \pm 10,00\%$ para o grupo controle e de $90,00 \pm 8,61\%$ para os níveis mais altos de inclusão da PHF.

O desempenho reprodutivo engloba parâmetros como o tamanho dos ovos e larvas, época da estação reprodutiva, fecundidade, concentração plasmática dos hormônios e a frequência das desovas, contudo, destaca-se a fertilização por estimar a qualidade dos ovos, além da capacidade de fertilização dos espermatozoides e o sucesso de desenvolvimento larval das espécies (Bobe e Labbé, 2010).

Os valores médios de fertilização e eclosão dos ovos e tamanho das larvas não foram influenciados estatisticamente entre os diferentes grupos ($P > 0,05$) (Tabela 4). Percentagem de eclosão similar ao valor de 66% evidenciado por El-Sayed e Kawanna (2008) para fêmeas de tilápia alimentadas com dietas contendo 35% de proteína bruta e $17,03 \text{ kJ g}^{-1}$ de energia, entretanto, obtiveram valor de 9,4 mm para o tamanho das larvas, acima dos encontrados no presente estudo.

A composição proteica dos ovos não apresentou diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os diferentes grupos experimentais, assim como para a matéria seca e matéria mineral ($P > 0,05$) (Tabela 5). Isso corrobora com os resultados obtidos por Gunasekera et al. (1995), os quais verificaram que independentemente do nível de proteína da dieta (10% a 40%) a composição proteica dos ovos de tilápia não foi alterada.

Tabela 5 – Composição química dos ovos de tilápias-do-Nilo alimentadas com as dietas experimentais.

*Composição	Dietas (Inclusão PHF)					
	Controle	1%	2%	3%	4%	5%
MS (mg g ⁻¹) ¹	934,87 ± 0,67	935,77 ± 1,55	932,75 ± 2,43	934,50 ± 1,94	936,71 ± 1,98	938,31 ± 4,73
PB (mg g ⁻¹) ²	317,65 ± 9,27	320,21 ± 10,72	321,74 ± 6,90	321,43 ± 14,88	329,27 ± 15,50	327,19 ± 12,39
MM (mg g ⁻¹) ³	165,08 ± 8,01	170,01 ± 9,85	173,41 ± 7,36	175,06 ± 13,03	172,49 ± 15,13	180,13 ± 13,73

Valores expressos como média ± desvio padrão. *Não significativo pelo teste de Tukey ($P > 0,05$). ¹MS: Matéria seca (mg g⁻¹); ²PB: Proteína bruta (mg g⁻¹); ³MM: Matéria mineral (mg g⁻¹).

Entretanto, Gunasekera et al. (1996) demonstraram que níveis mais elevados de proteína na dieta de tilápias mostraram ovos mais proteicos (289 mg g⁻¹) e com superior quantidade de aminoácidos essenciais e não essenciais, além de maior proporção de aminoácidos livres quando comparados com a composição dos ovos das fêmeas alimentadas com baixos níveis de proteína.

Portanto, os níveis nutricionais das dietas destinadas aos reprodutores de tilápia podem afetar o perfil de nutrientes dos ovos e consequentemente determinar o desenvolvimento e a sobrevivência da prole, inclusive em outras espécies de peixes, como demonstrado para a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (Cleveland et al., 2019).

As abordagens científicas sobre os efeitos da nutrição no processo reprodutivo são de certa forma divergentes e difíceis de serem comparadas, principalmente pela variação da idade dos peixes, espécie, origem dos alimentos, sistema e técnicas de manejo reprodutivo (El-Sayed e Kwanna, 2008), além de fatores genéticos como a linhagem dos peixes (Gómez-Márquez et al., 2003).

Outro fator relacionado seria o condicionamento das fêmeas diante do sistema de produção, ou seja, animais submetidos previamente a manejos reprodutivos subsequentes se adaptam mais facilmente, fazendo com que os peixes tolerem os procedimentos rotineiros de maneira satisfatória, proporcionando melhoria na sincronia das desovas, sendo assim, mais produtivos (Little et al., 1993).

A composição bioquímica do plasma sanguíneo demonstra a situação metabólica dos tecidos animais, podendo direcionar à detecção de disfunções no organismo além de fornecer informações sobre o status metabólico diante dos desafios nutricionais, fisiológicos e de desequilíbrios metabólicos específicos ou de origem nutricional (Higuchi et al., 2011).

Os parâmetros dos metabólitos plasmáticos de proteínas totais (PT), ureia (UR), glicose (GLI), colesterol total (COL), colesterol HDL (HDL), triacilgliceróis (TAG) não

foram influenciados significativamente ($P > 0,05$) pela inclusão da PHF em comparação com o grupo controle (Tabela 6). Estes resultados estão de acordo com os valores de referência pré-determinados para a tilápia-do-Nilo segundo Hrubec et al. (2000) e Rodrigues et al. (2018).

O cortisol plasmático é o principal hormônio do estresse nos peixes (Barton, 2002) e suas concentrações dependem do tipo e intensidade do estressor (Campbell et al., 1992) podendo promover prejuízos nos processos reprodutivos dos peixes (Clearwater e Pankhurst, 1997; Coward et al., 1998; Schreck et al., 2001). No entanto, a sua avaliação na reprodução de peixes é complexa devido as alterações fisiológicas e comportamentais e, do status nutricional, portanto, torna-se difícil separar entre as variações ligadas a fisiologia reprodutiva e a alteração do metabolismo energético (Milla et al., 2009)

No presente estudo realizou-se a avaliação do cortisol com o intuito de investigar se a inclusão da PHF poderia influenciar na modulação do estresse diante do manejo de coleta de ovos das fêmeas. Embora verificado aumento das concentrações médias de cortisol nos níveis mais altos de inclusão da PHF, os resultados não demonstraram efeito significativo ($P > 0,05$) (Tabela 6).

Tabela 6 – Metabólitos plasmáticos de fêmeas reprodutoras de tilápia-do-Nilo alimentadas com as dietas experimentais.

*Metabólitos Plasmáticos	Dietas (% Inclusão PHF)					
	Controle	1%	2%	3%	4%	5%
PT (g L ⁻¹) ¹	42,9 ± 4,25	43,67 ± 5,74	41,61 ± 4,33	44,53 ± 2,76	41,12 ± 5,05	41,26 ± 4,07
UR (mg dL ⁻¹) ²	7,70 ± 1,57	8,21 ± 1,41	7,62 ± 0,81	8,00 ± 0,90	7,17 ± 0,89	7,63 ± 1,00
GLI (mg dL ⁻¹) ³	53,42 ± 12,59	64,09 ± 7,86	60,47 ± 14,85	69,03 ± 5,95	56,88 ± 13,19	60,41 ± 15,11
COL (mg dL ⁻¹) ⁴	142,2 ± 40,60	147,7 ± 38,72	137,3 ± 20,88	117,7 ± 14,23	130,4 ± 19,02	138,0 ± 26,72
HDL (mg dL ⁻¹) ⁵	43,90 ± 10,38	54,06 ± 15,43	38,79 ± 7,48	48,02 ± 5,81	45,15 ± 7,28	46,21 ± 6,03
TAG (mg dL ⁻¹) ⁶	173,3 ± 57,88	221,3 ± 34,78	191,4 ± 61,30	251,5 ± 69,19	172,6 ± 86,76	213,4 ± 47,53
**COR (µg dL ⁻¹) ^{7*}	8,50 ± 3,08	7,95 ± 2,77	18,31 ± 9,76	16,06 ± 13,27	19,53 ± 14,95	18,25 ± 13,80

Valores expressos como média ± desvio padrão. *Não significativo pelo teste de Tukey ($P > 0,05$). ¹PT: Proteínas totais; ²UR: Uréia; ³GLI: Glicose; ⁴COL: Colesterol total; ⁵HDL: Colesterol HDL; ⁶TAG: Triacilgliceróis; ⁷COR: Cortisol; **Não linear ($P > 0,05$ pelo teste de Kruskal-Wallis).

As concentrações de albumina foram superiores ($P < 0,05$) ao nível de 5% da PHF na dieta (Figura 2), quando comparados aos grupos controle ou 1% de inclusão da PHF.

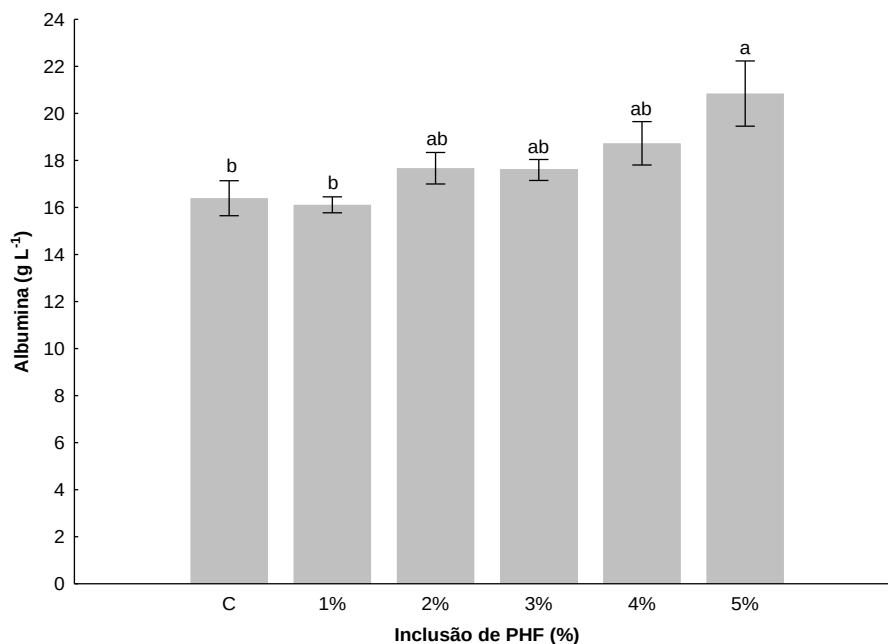


Figura 2 - Concentração de Albumina no plasma de fêmeas de tilápia-do-Nilo alimentadas com as dietas experimentais.

Sabe-se que a albumina é a principal proteína plasmática sintetizada pelo fígado dos animais, representando em torno de 50% do total de proteínas e contribui com 80% da osmolaridade plasmática, além de ser uma importante reserva proteica, bem como transportadora de ácidos graxos livres, aminoácidos, metais e bilirrubina (Andreeva, 2019; Gonzáles, 2018).

Pode ser quebrada intracelularmente para fornecer aminoácidos para a síntese de novas proteínas, e sofrer influência da nutrição, balanço hormonal, estado geral do fígado e estresse (Hasegawa et al., 2002; Mello et al., 2009). Além disso, seus valores aumentados podem estar relacionados com possível melhora da imunidade inata como demonstrado para truta arco-iris (Yilmaz et al., 2015) e tilápia (Lebda et al., 2019).

Neste estudo, a maior disponibilidade de aminoácidos livres e de pequenas cadeias peptídicas na dieta contendo 5% da PHF possivelmente tenham sido absorvidas e disponibilizadas para a corrente sanguínea dos peixes para a formação da albumina. Segundo Carvalho (2019) adaptações morfológicas do intestino da tilápia devido a inclusão de hidrolisado na dieta, como o aumento do número de vilosidades e diminuição da túnica muscular do intestino viabiliza melhor superfície absorviva para os nutrientes da dieta.

Os resultados dos metabólitos plasmáticos encontrados no presente estudo corroboram aos observados por Lima (2018), destacando-se as concentrações de

albumina ($19,43 \text{ g L}^{-1}$) e atividade da fosfatase alcalina ($89,07 \text{ UI L}^{-1}$) em fêmeas de tilápia-do-Nilo suplementadas com nucleotídeos, o qual identificou melhores resultados de saúde com suplementação de 5 g kg^{-1} de nucleotídeos na dieta. Entretanto, observou também que as dietas contendo 10 g kg^{-1} de nucleotídeos proporcionou superior desempenho reprodutivo, ocorrendo aumento da albumina ($20,09 \text{ g L}^{-1}$) e da atividade da fosfatase alcalina ($108,37 \text{ UI L}^{-1}$), sugerindo possíveis alterações hepáticas e no sistema imune.

A atividade da fosfatase alcalina demonstrou uma média superior ($P < 0,05$) para as fêmeas alimentadas com a dieta contendo 5% de inclusão da PHF na dieta (Figura 3).

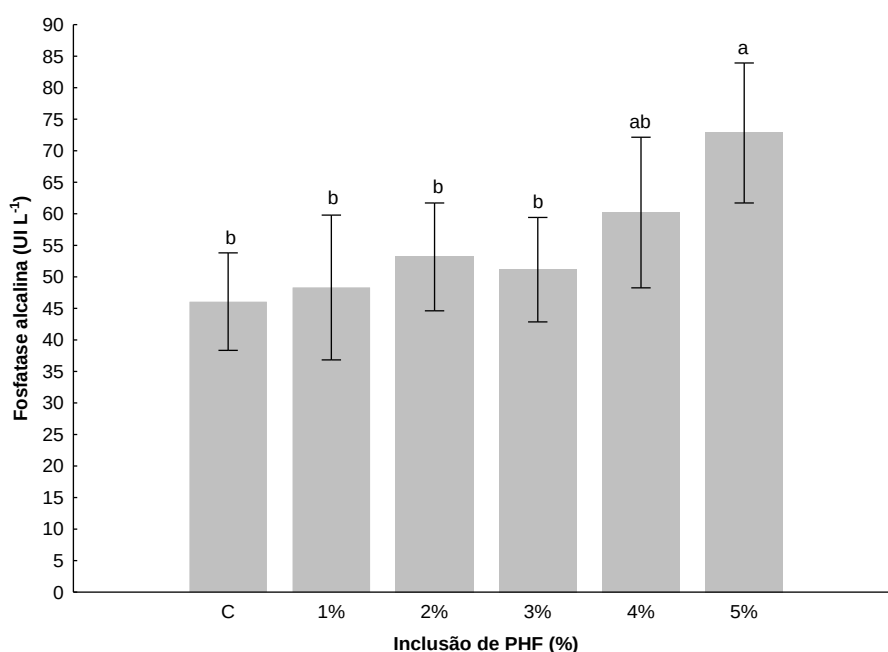


Figura 3 - Concentração de fosfatase alcalina no plasma de fêmeas de tilápia-do-Nilo alimentadas com as dietas experimentais.

Nos vertebrados, as fosfatases são amplamente distribuídas por diferentes órgãos, seus substratos fisiológicos ainda são pouco conhecidos, no entanto estudos demonstram que esta enzima está associada a absorção de lipídeos, glicose, cálcio, fosfatos inorgânicos e fósforo (Malagelada et al., 1977; Roubaty e Portmann et al., 1988; Dupuis et al. 1991; Alpers et al. 1994; Tengjaroenkul et al. 2000), além de estar associada a desfoforilação de lipopolissacarídeos de bactérias gram-negativas, prevenindo respostas inflamatórias da microbiota intestinal (Bates et al., 2007).

Por outro lado, a alteração anormal desta enzima pode fornecer evidências de lesão hepática em animais expostos a substâncias tóxicas (Mirmazloomi et al. 2015;

Fathy et al., 2019), ou alterações por fontes nutricionais, como por exemplo, diferentes ácidos graxos e ácidos orgânicos, demonstrando estimulação de secreção enzimática e sobrecarga do fígado (Ayisi et al., 2018; Ebrahimi et al. 2017). Além disso, pode ser influenciada pelo estresse, devido a presenças de isoenzimas induzidas pela ação de corticoides endógenos (Rodrigues et al., 2018).

Há várias possibilidades que podem sugerir o aumento das concentrações de fosfatase alcalina. O aumento gradual das fontes de cálcio nas dietas (fosfato bi-cálcico e calcário, Tabela 1) utilizadas para suprir as exigências nutricionais, pode também vir a influenciar na atividade desta enzima pela diferença de suas disponibilidades (Shiau e Tseng, 2007).

No presente estudo, não foram constatados alterações marcantes nos metabólitos plasmáticos com relação aos resultados relatados na literatura devido a ampla faixa de variação das concentrações consideradas ideais e as variantes como a idade, sexo, ambiência e estado de saúde dos peixes, o que dificultam uma inferência fidedigna do estado de higidez dos animais com relação as dietas fornecidas.

Notou-se que, independentemente do nível de inclusão de PHF nas dietas e do grupo controle, as médias dos parâmetros reprodutivos analisados apresentaram diferenças numéricas e tendência de aumento nos maiores níveis de inclusão, porém, com alta variabilidade entre os valores obtidos das fêmeas de um mesmo grupo. Estas evidências sugerem que as fêmeas amostradas nem sempre apresentavam o mesmo estágio de desenvolvimento de seus oócitos, supostamente pelas características reprodutivas da espécie, como o comportamento de desova assíncrona (Bhujel, 2000), a frequência de desova anual e falta de sazonalidade acentuada (Brummett, 1995).

6. Conclusão

Há ocorrência de possível sobrecarga no estado metabólico dos animais devido à superior concentração de albumina e atividade de fosfatase alcalina no plasma ao nível de 5% de inclusão da PHF. Sugere-se a inclusão de até 4% da PHF na dieta de tilápia-do-Nilo como fonte proteica alternativa sem comprometer o estado metabólico e a reprodução em fêmeas de tilápia-do-Nilo.

7. Referências

AOAC (Association Of Official Analytical Chemistry). (2000). *Official Methods of Analysis*, 17th ed, Washington, D.C. USA.

Al-Feky, S. S. A., El-Sayed, A. F., & Ezzat, A. A. (2016). Dietary taurine improves reproductive performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock. *Aquaculture nutrition*, 22(2), 392-399.
<https://doi.org/10.1111/anu.12256>

Alves, D. R. S., Silva, T. C., Rocha, J. D. M., Oliveira, S. R., Signor, A. & Boscolo, W. R. (2019a). Compelling palatability of protein hydrolysates for Nile tilapia juveniles. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 47, 371-376. <http://dx.doi.org/10.3856/vol47-issue2-fulltext-19>

Alves, D. R. S., Oliveira, S. R., Luczinski, T. G., Paulo, I. G. P., Boscolo, W. R., Bittencourt, A., & Signor, A. (2019b). Palatability of Protein Hydrolysates from Industrial Byproducts for Nile Tilapia Juveniles. *Animals*, 9, 311.
<https://doi.org/10.3390/ani9060311>

Alpers, D. H., Mahmood, A., Engle, M., Yamagishi, F., & De Schryver-Kecsckemeti, K. (1994). The secretion of intestinal alkaline phosphatase (IAP) from the enterocyte. *Journal of gastroenterology*, 29, 63-67.
<https://europepmc.org/article/med/7921156>

Andreeva, A. M. (2019). The Strategies of Organization of the Fish Plasma Proteome: with and without Albumin. *Russian Journal of Marine Biology*, 45(4), 263-274.
<https://doi.org/10.1134/S1063074019040023>

Ayisi, C. L., Zhao, J., & Wu, J. W. (2018). Replacement of fish oil with palm oil: Effects on growth performance, innate immune response, antioxidant capacity and disease resistance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *PloS one*, 13(4), e0196100.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196100>

Barros, M. M., Pezzato, L. E., Kleemann, G. K., Hisano, H. & Rosa, G. J. D. M. (2002). Níveis de vitamina C e ferro para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, 2149-2156.
<http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982002000900001>

Barton, B. A. (2002). Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and comparative biology*, 42(3), 517-525.
<https://doi.org/10.1093/icb/42.3.517>

Bates, J. M., Akerlund, J., Mittge, E., & Guillemin, K. (2007). Intestinal alkaline phosphatase detoxifies lipopolysaccharide and prevents inflammation in zebrafish in response to the gut microbiota. *Cell host & microbe*, 2(6), 371-382.
<https://doi.org/10.1016/j.chom.2007.10.010>

Bobbe, J., & Labbé, C. (2010). Egg and sperm quality in fish. *General and comparative endocrinology*, 165(3), 535-548. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.02.011>

Bombardelli, R. A., Hayashi, C., Natali, M. R. M., Sanches, E. A. & Piana, P. A. (2009). Desempenho reprodutivo e zootécnico e deposição de lipídios nos hepatócitos de fêmeas de tilápia-do-nilo alimentadas com rações de diversos níveis energéticos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 1391-1399. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982009000800001>

Bombardelli, R. A., Reis Goes, E. S., Negreiros Sousa, S. M., Syperreck, M. A., Goes, M. D., Oliveira Pedreira, A. C., & Meurer, F. (2017). Growth and reproduction of female Nile tilapia fed diets containing different levels of protein and energy. *Aquaculture*, 479, 817-823. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.07.031>

Broggi, J. A., Wosniak, B., Uczay, J., Pessatti, M. L., & Fabregat, T. E. H. P. (2017) Sardine waste protein hydrolisate as feeding stimulant for silver catfish juveniles. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 69, 2, 505-512. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-8348>

Bhujel, R.C. (2000). A review of strategies for the management of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodfish in seed production systems, especially hapa-based systems. *Aquaculture*, 181, 37-59. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00217-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00217-3)

Bhujel, R. C., Yakupitiyage, A., Turner, W. A., & Little, D. C. (2001). Selection of a commercial feed for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodfish breeding in a hapa-in-pond system. *Aquaculture*, 194(3-4), 303-314. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00521-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00521-4)

Biopep-Uwm (2019). Minkiewicz P., Iwaniak A., Darewicz M. Database of Bioactive Peptides: Current Opportunities. *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 5978. <https://doi.org/10.3390/ijms20235978>

Brummett, R. E. (1995). Environmental regulation of sexual maturation and reproduction in tilapia. *Reviews in Fisheries Science*, 3(3), 231-248. <https://doi.org/10.1080/10641269509388573>

Campbell, P. M., Pottinger, T. G., & Sumpter, J. P. (1992). Stress reduces the quality of gametes produced by rainbow trout. *Biology of reproduction*, 47(6), 1140-1150. <https://doi.org/10.1095/biolreprod47.6.1140>

Carvalho, K. V. (2019). Hidrolisado proteico misto de subprodutos de aves e suínos na inclusão de dietas para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Toledo – PR. Dissertação (mestrado) Programa Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca. Universidade Estadual Do Oeste Do Paraná.

Chalamaiah, M., Dinesh Kumar, B., Hemalatha, R., & Jyothirmayi, T. (2012). Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. *Food Chemistry*, 135, 3020–3038. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.100>

Clearwater, S. J., & Pankhurst, N. W. (1997). The response to capture and confinement stress of plasma cortisol, plasma sex steroids and vitellogenic oocytes in the marine teleost, red gurnard. *Journal of fish biology*, 50(2), 429-441. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1997.tb01370.x>

Cleveland, B. M., Leeds, T. D., Picklo, M. J., Brentesen, C., Frost, J., & Biga, P. R. (2019). Supplementing rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) broodstock diets with choline and methionine improves growth in offspring. *Journal of the World Aquaculture Society*, 1-16. <https://doi.org/10.1111/jwas.12634>

Coward, K., Bromage, N. R., & Little, D. C. (1998). Inhibition of spawning and associated suppression of sex steroid levels during confinement in the substrate-spawning *Tilapia zillii*. *Journal of Fish Biology*, 52(1), 152-165. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1998.tb01560.x>

Dieterich, F. (2014). Desenvolvimento, avaliação físico-química e biológica de hidrolisado proteico de resíduos agroindustriais para surubim. Jaboticabal – SP. Tese (Doutorado). Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP – CAUNESP. <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/108942>

Dupuis, Y., Tardivel, S., Porembska, Z., & Fournier, P. (1991). Effect of some alkaline phosphatase inhibitors on intestinal calcium transfer. *The International journal of biochemistry*, 23(2), 175-180. [https://doi.org/10.1016/0020-711X\(91\)90186-Q](https://doi.org/10.1016/0020-711X(91)90186-Q)

Ebrahimi, M., Daeman, N. H., Chong, C. M., Karami, A., Kumar, V., Hoseinifar, S. H., & Romano, N. (2017). Comparing the effects of different dietary organic acids on the growth, intestinal short-chain fatty acids, and liver histopathology of red hybrid tilapia (*Oreochromis sp.*) and potential use of these as preservatives. *Fish physiology and biochemistry*, 43(4), 1195-1207. <https://doi.org/10.1007/s10695-017-0365-0>

El-Sayed, A. F. M., & Kawanna, M. (2008). Effects of dietary protein and energy levels on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock in a recycling system. *Aquaculture*, 280(1-4), 179-184. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.04.030>

El-Sayed, A. F. M. (2019). Tilapia culture. Academic Press.

Fathy, M., Mohamed, I. A., Farghal, A. I., Temerak, S. A., & Sayed, A. E. D. H. (2019). Hemotoxic effects of some herbicides on juvenile of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-9. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06280-x>

Folador, J. F., Karr-Lilienthal, L. K., Parsons, C. M., Bauer, L. L., Utterback, P. L., Schasteen, C. S., Bechtel, P. J., & Fahey Jr, G. C. (2006). Fish meals, fish components, and fish protein hydrolysates as potential ingredients in pet foods. *Journal of Animal Science*, 84, 2752–2765. <https://doi.org/10.2527/jas.2005-560>

Furuya, W. M. (2010). Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias. Toledo, Paraná, 100p.

Gilbert, E. R., Wong, E. A., & Webb Jr, K. E. (2008). Board-invited review: peptide absorption and utilization: implications for animal nutrition and health. *Journal of animal science*, 86(9), 2135-2155.

<https://doi.org/10.2527/jas.2007-0826>

Gomes, L. C., Chippari-Gomes, A. R., Lopes, N. P., Roubach, R., & Araujo-Lima, C. A. R. M. (2001). Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 32, 426-431.

<https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2001.tb00470.x>

Gómez-Márquez, J. L., Peña-Mendoza, B., Salgado-Ugarte, I. H., & Guzmán-Arroyo, M. (2003). Reproductive aspects of *Oreochromis niloticus* (Perciformes: Cichlidae) at Coatetelco lake, Morelos, Mexico. *Revista de Biología Tropical*, 51(1), 221-228.

https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442003000100020

Gonzalez, F. H. D. (2018). Doze leituras em bioquímica clínica veterinária.

<https://www.ufrgs.br/lacvet/site/wp-content/uploads/2018/05/Leituras-em-bioqu%C3%ADmica-cl%C3%ADnica.pdf>

Gunasekera, R. M., Shim, K. F., & Lam, T. J. (1995). Effect of dietary protein level on puberty, oocyte growth and egg chemical composition in the tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture*, 134(1-2), 169-183. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(95\)00028-Z](https://doi.org/10.1016/0044-8486(95)00028-Z)

Gunasekera, R. M., Shim, K. F., & Lam, T. J. (1996). Effect of dietary protein level on spawning performance and amino acid composition of eggs of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 146(1-2), 121-134. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(96\)01365-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(96)01365-8)

Hasegawa, M.Y., Fontequé, J.H., Kohayagawa, A., & Boretti L. P. (2002). Avaliação do perfil eletroforético das proteínas séricas em matrizes pesadas (*Gallus Gallus domesticus*) da linhagem Avian Farm. *Revista Brasileira Ciência Avícola*, 4, 203-207. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-635X2002000300004>

Higuchi, L. H., Feiden, A., Maluf, M. L. F., Dallagnol, J. M., Zaminhan, M., & Boscolo, W. R. (2011). Avaliação eritrocitária e bioquímica de jundiás (*Rhamdia quelen*) submetidos à dieta com diferentes níveis proteicos e energéticos. *Ciência Animal Brasileira*, 12(1), 70-75.

<http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=DJ2012061856>

Hrubec, T. C., Cardinale, J. L., & Smith, S. A. (2000). Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured tilapia (*Oreochromis hybrid*). *Veterinary clinical pathology*, 29(1), 7-12.

<https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2000.tb00389.x>

Izquierdo, M. S., Fernandez-Palacios, H., & Tacon, A. G. J. (2001). Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*, 197, 25-42. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00581-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00581-6)

Lebda, M. A., El-Hawarry, W. N., Shourbela, R. M., El-Far, A. H., Shewita, R. S., & Mousa, S. A. (2019). Miswak (*Salvadora persica*) dietary supplementation improves antioxidant status and nonspecific immunity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish and Shellfish Immunology*, 88, 619-626. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.03.037>

Lewandowski, V., Decarli, J. A., Pedron, F. de A., Feiden, A., Signor, A., & Boscolo, W.R. (2013). Hidrolisados cárneos na alimentação do surubim do Iguaçu (*Steindachneridion melanoderdatum*). *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, 20, 222–226. <http://dx.doi.org/10.4322/rbcv.2014.008>

Lima, S. A. (2018). Nucleotídeos purificados na dieta de fêmeas de tilápia do Nilo em reprodução. Marechal Cândido Rondon – PR. Dissertação (mestrado) Universidade Estadual Do Oeste Do Paraná, Programa de pós-graduação mestrado em zootecnia. <http://tede.unioeste.br/handle/tede/4169>

Lim, C.E., Webster, C.D. 2006. Tilapia: Biology, Culture and Nutrition. Food Products Press, An Imprint of The Haworth Press, Inc., New York, London, Oxford.

Little, D. C., Macintosh, D. J., & Edwards, P. (1993). Improving spawning synchrony in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture Research*, 24(3), 399-405. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.1993.tb00563.x>

Lorenz, E. K., Barone, R. S. C., Yamamoto, F. Y., & Cyrino, J. E. P. (2018). Dietary protein hydrolysates from animal by-products: digestibility and enzymatic activity for dourado *Salminus brasiliensis*. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 27, 236-246. <https://doi.org/10.1080/10498850.2018.1424745>

Lupatsch, I., Deshev, R., & Magen, I. (2010). Energy and protein demands for optimal egg production including maintenance requirements of female tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture Research*, 41(5), 763-769. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02229.x>

Luczinski, T. G. (2019). Proteína hidrolisada de frango em dietas para juvenis de tilápia do Nilo. Toledo – PR. Dissertação (mestrado) Programa Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca. Universidade Estadual Do Oeste Do Paraná.

Macintosh, D. J., & Little, D. C. (1995). Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). In: Bromage, N. R.; Roberts, R. J. (Eds.). Broodstock Management and Egg and Larval Quality. *Blackwell Science Ltd*, London, 277–320.

Malagelada, J. R., Linscheer, W. G., & Fishman, W. H. (1977). The effect of fatty acid perfusion on intestinal alkaline phosphatase. *The American journal of digestive diseases*, 22(6), 516-523. <https://doi.org/10.1007/BF01072504>

Martínez-Alvarez, O. (2013). Hormone-like peptides obtained by marine-protein hydrolysis and their bioactivities. *Marine proteins and peptides: Biological activities and applications*, 351-367.

<https://doi.org/10.1002/9781118375082.ch16>

Melo, D. C., Oliveira, D. A. A., Melo, M. M., Júnior, D. V., Teixeira, E. A., & Guimarães, S. R. (2009). Perfil proteico de tilápia nilótica chitralada (*Oreochromis niloticus*), submetida ao estresse crônico por hipóxia. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 61(5), 1183-1190. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352009000500022>

Milla, S., Wang, N., Mandiki, S. N. M., & Kestemont, P. (2009). Corticosteroids: friends or foes of teleost fish reproduction? *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 153(3), 242-251. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2009.02.027>

Mirmazloomi, S., Shahsavani, D., & Baghshani, H. (2015). Studies on the protective effects of ascorbic acid and thiamine on lead-induced lipid and protein oxidation as well as enzymatic alterations in some tissues of *Cyprinus carpio*. *Comparative Clinical Pathology*, 24(5), 1231-1236. <https://doi.org/10.1007/s00580-015-2065-4>

Nascimento, T. S. R., De Stéfani, M. V., Malheiros, E. B., & Koberstein, T. C. D. (2014). High levels of dietary vitamin E improve the reproductive performance of female *Oreochromis niloticus*. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 36(1), 19-26. <https://doi.org/10.4025/actasciobiolsci.v36i1.19830>

Ng, W. K., & Romano, N. (2013). A review of the nutrition and feeding management of farmed tilapia throughout the culture cycle. *Reviews in Aquaculture*, 5(4), 220-254. <https://doi.org/10.1111/raq.12014>

Oliveira, M. M., Ribeiro, T., Orlando, T. M., Oliveira, D. G. S., Drumond, M. M., Freitas, R. T. F., & Rosa, P. V. (2014). Effects crude protein levels on female Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reproductive performance parameters. *Animal Reproduction Science*, 150, 62-69. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.08.006>

Orlando, T. M., Oliveira, M. M., Paulino, R. R.; Costa, A. C., Allaman, I. B., & Rosa, P. V. (2017). Reproductive performance of female Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets with different digestible energy levels. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 46(1):1-7. <http://dx.doi.org/10.1590/s1806-92902017000100001>

Pasupuleti V.K., Holmes C., & Demain A.L. (2008) Applications of Protein Hydrolysates in Biotechnology. In: Pasupuleti V., Demain A. (eds) Protein Hydrolysates in Biotechnology. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6674-0_1

Pasupuleti, V. K., & Braun, S. (2010). State of the art manufacturing of protein hydrolysates. *Protein Hydrolysates in Biotechnology*, 11–32.; https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6674-0_2

Pereira, M. M. Dietas suplementadas com minerais orgânicos e inorgânicos para tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* (fases juvenil, reprodutora e larval). (2019). Jaboticabal –

SP. Tese (Doutorado). Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP – CAUNESP

Pereira, T. S., Fabregat, T. E. H. P., Fernandes, J. B. K., Boscolo, C. N., Castillo, J. D. A., & Koberstein, T. C. R. D. (2009). Selênio orgânico na alimentação de matrizes de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 31(4), 433-437.

<http://dx.doi.org/10.4025/actascianimsci.v31i4.6300>

Ranzani-Paiva, M.J.T., Pádua, S.B., Tavares-Dias, M., & Egami, M.I. (2013). Métodos para análise hematológica em peixes. 1ª ed., Maringá – PR, Universidade Estadual de Maringá - UEM. 135 p.

Ribeiro, M. J. P., Evangelista, M. M., Antônio, E., Gonçalves, G. S., & Romagosa, E. (2017). Crude protein in diets for Nile tilapia broodfish. *Boletim do Instituto de Pesca*, 43, 35-46.

<http://dx.doi.org/10.20950/1678-2305.2017.35.46>

Ribeiro, M. J. P., Evangelista, M. M., Sanches, E. A., Lopes, T. S., Gonçalves, G. S. & Romagosa, E. (2018). Effect of diets of different protein levels for Nile tilapia broodstock on sperm quality characteristics and on egg biomass production and fecundity. *Global Journal of Fisheries and Aquaculture*, 6 (1), 445-454.

<http://globalscienceresearchjournals.org/journals>

Ridha, M. T., & Cruz, E. M. (2000). Effect of light intensity and photoperiod on Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. seed production. *Aquaculture Research*, 31(7), 609-617.

<https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2000.00481.x>

Robinson, J. J., Ashworth, C. J., Rooke, J. A., Mitchell, L. M., & McEvoy, T. G. (2006). Nutrition and fertility in ruminant livestock. *Animal Feed Science and Technology*, 126, 259–76.

<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.08.006>

Rocha J. D. A. M. (2018). Proteína hidrolisada de frango para tilápia do Nilo: digestibilidade e desempenho produtivo. Toledo – PR. Tese (doutorado) Programa Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca. Universidade Estadual Do Oeste Do Paraná.

Rodrigues, G. M., de Oliveira Nascimento, F. G., Bizare, A., Oliveira, W. J., Guimarães, E. C., & Mundim, A. V. (2018). Serum Biochemical Profile of Nile Tilapias (*Oreochromis niloticus*) Bred in Net Cages during Summer and Winter. *Acta Scientiae Veterinariae*, 46(1), 8.

<https://doi.org/10.22456/1679-9216.81814>

Roubaty, C., & Portmann, P. (1988). Relation between intestinal alkaline phosphatase activity and brush border membrane transport of inorganic phosphate, D-glucose, and D-glucose-6-phosphate. *Pflügers Archiv*, 412(5), 482-490.

<https://doi.org/10.1007/BF00582536>

Sarmiento, N. L., Martins, E. F., Costa, D. C., Mattioli, C. C., da Costa Julio, G. S., Figueiredo, L. G., Luz, M. R., & Luz, R. K. (2018). Reproductive efficiency and egg and larvae quality of Nile tilapia fed different levels of vitamin C. *Aquaculture*, 482, 96-102.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.08.035>

Schreck, C. B., Contreras-Sanchez, W., & Fitzpatrick, M. S. (2001). Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. In *Reproductive Biotechnology in Finfish Aquaculture* (pp. 3-24). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-50913-0.50005-9>

Siddiqui, A. Q., Al-Harbi, A. H., & Al-Hafedh, Y. S. (1997). Effects of food supply on size at first maturity, fecundity and growth of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) $\times$ *Oreochromis aureus* (Steindachner), in outdoor concrete tanks in Saudi Arabia. *Aquaculture Research*, 28(5), 341-349. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.1997.t01-1-00864.x>

Siddiqui, A. Q., Al-Hafedh, Y. S., & Ali, S. A. (1998). Effect of dietary protein level on the reproductive performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture research*, 29(5), 349-358. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.1998.00206.x>

Simpson, A. C. (1951). The fecundity of the plaice. *Fish. Invest*, 5, 1-27. https://www.researchgate.net/publication/284246164_The_fecundity_of_the_plaice

Shiau, S. Y., & Tseng, H. C. (2007). Dietary calcium requirements of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* $\times$ *O. aureus*, reared in fresh water. *Aquaculture nutrition*, 13(4), 298-303. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00481.x>

Shokr, E. S. (2015). Effect of Follicular Stimulating Hormone and Leutinizing Hormone on Reproduction, Physiological and Biochemical Changes of *Oreochromis niloticus*. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences Physiology & Molecular Biology*, 7(1), 61-73. <https://doi.org/10.21608/EAJBSC.2015.13703>

Soliman, A. K., Jauncey, K., & Roberts, R. J. (1986). The effect of dietary ascorbic acid supplementation on hatchability, survival rate and fry performance in *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Aquaculture*, 59(3-4), 197-208. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(86\)90004-9](https://doi.org/10.1016/0044-8486(86)90004-9)

StatSoft (2005). *Statistica 7.0 Software*. Tucksa, USA.

Tacon, P., Ndiaye, P., Cauty, C., Le Menn. F., & Jalabert, B. (1996). Relationships between the expression of maternal behavior and ovarian development in the mouth brooding cichlid fish *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 146, 261-275. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(96\)01389-0](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(96)01389-0)

Toldrá, F., & Reig, M. (2011). Innovations for healthier processed meats. *Trends in Food Science & Technology*, 22, 517-522. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.08.007>

Toldrá, F., Aristoy, M. C., Mora, L., & Reig, M. (2012). Innovations in value-addition of edible meat by-products edible meat by-products. *Meat Science*, 92, 290-296. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.04.004>

Tengjaroenkul, B., Smith, B. J., Caceci, T., & Smith, S. A. (2000). Distribution of intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture*, 182(3-4), 317-327. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00270-7](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00270-7)

Welcomme, R. L. (1967). The relationship between fecundity and fertility in the mouth brooding cichlid fish *Tilapia leucosticta*. *Journal of Zoology*, 151(4), 453-468. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1967.tb02125.x>

Wootton, R. J., & Evans, G. W. (1976). Cost of egg production in the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.). *Journal of Fish Biology*, 8(5), 385-395. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1976.tb03967.x>

Wootton, R. J., & Mills, L. A. (1979). Annual cycle in female minnows *Phoxinus phoxinus* (L.) from an upland Welsh lake. *Journal of Fish Biology*, 14(6), 607-618. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1979.tb03560.x>

Yilmaz, E., Ergün, S., & S. Yilmaz. (2015). Influence of Carvacrol on the Growth Performance, Hematological, Non-Specific Immune and Serum Biochemistry Parameters in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Food Nutrition Sciences*, 6, 523–531. <http://dx.doi.org/10.4236/fns.2015.65054>

Artigo II

O artigo, “Proteína hidrolisada de frango em dietas para machos de tilápia-do-Nilo” está formatado de acordo com as normas das revista científica Aquaculture Research, <https://onlinelibrary.wiley.com/journal/13652109>

Artigo II - Proteína hidrolisada de frango em dietas para machos de tilápia-do-Nilo

1. Resumo

O objetivo do estudo foi investigar os efeitos da inclusão da proteína hidrolisada de frango (PHF) sobre os parâmetros de crescimento, somáticos e espermáticos além de sua influência nas concentrações dos metabólitos plasmáticos de machos de tilápia-do-Nilo submetidos ao manejo reprodutivo. Foram utilizados 120 machos de tilápia (*Oreochromis niloticus* - GIFT) ($745,92 \pm 124,54$ g) distribuídos em seis hapas (15 m³, malha 5 mm) dispostos em um viveiro escavado de 4.000 m². A duração do experimento foi de 192 dias. Os machos foram mantidos por um período de 90 dias em manejo alimentar diário a taxa de 1% do peso dividido em duas refeições (10:00 e 16:00h) com uma dieta controle (C) isenta de PHF e dietas contendo níveis crescentes de PHF (1%, 2%, 3%, 4% e 5%). Não foram identificados resultados significativos para os parâmetros de crescimento e espermáticos ($P > 0,05$). No entanto, verificou-se suposta modulação do metabolismo lipídico devido a diminuição da gordura visceral ($P < 0,05$). Foi evidenciado diminuição do índice viscerossomático (IVS) e aumento do índice hepatossomático (IHS) ($P < 0,05$) à medida que os níveis da PHF na dieta foram superiores, além disso, verificou-se aumento das concentrações plasmáticas da lipoproteína HDL ($P < 0,05$) ao nível de 2% da PHF na dieta, no entanto, sem influência nos demais metabólitos plasmáticos. Sugere-se que a inclusão de até 5% da PHF em dietas para machos de tilápia possa ser realizada como fonte proteica alternativa sem afetar os parâmetros reprodutivos.

Palavras-chave: colesterol HDL, hidrólise enzimática, motilidade espermática, nutrição, peptídeos bioativos.

2. Abstract

The aim of the present study was to investigate the effects of supplementation of poultry hydrolyzed protein (PHF) on growth parameters, somatic, sperm and its influence on the concentrations of plasma metabolites of tilapia males submitted to reproductive management. 120 males of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* - GIFT) (745.92 ± 124.54 g) distributed in six hapas (15 m³, 5 mm mesh) arranged in a 4,000 m² earth pond. The experiment was conducted for 192 days. The males were kept for a period of 90 days in daily food handling at a rate of 1% of the weight divided into two meals (10:00 and 16:00) with a control diet (C) free of PHF and diets containing increasing levels PHF (1%, 2%, 3%, 4% and 5%). No significant results were identified for growth and sperm parameters ($P > 0.05$). However, there was supposed to be modulation of lipid metabolism due to decreased visceral fat ($P < 0.05$). A decrease in the viscerosomatic index (VSI) and an increase in the hepatosomal index (HSI) ($P < 0.05$) were observed as the levels of PHF in the diet were higher. In addition, there was increase in HDL plasma concentrations ($P < 0.05$) at the level of 2% of PHF in the diet, however, without influence on the other plasma metabolites. It is suggested that the inclusion of up to 5% of PHF in diets for tilapia males can be carried out as alternative protein source without affecting reproductive parameters.

Keywords: agroindustrial by-products, bioactive peptides, HDL cholesterol, sperm motility, broodstock nutrition.

3. Introdução

A criação de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) vem demonstrando expressivo crescimento e importância mundial nas últimas décadas, atingindo o montante de 4,1 milhões de toneladas em 2017, sendo uma das espécies de peixe mais produzida na aquicultura (FAO, 2019). Este fato se deve a características atraentes à sua produção como a facilidade de manejo e reprodução, rápido crescimento, tolerância ao estresse, alta resistência a doenças e infecções, adaptabilidade a ampla gama de condições ambientais além da carne com boas características nutricionais e organolépticas (Little e Hulata, 2000; Shokr, 2015).

Diante do crescimento da tilapicultura, devida atenção deve ser direcionada as facetas da reprodução. Especialmente no que tange melhorias na saúde, bem estar e produtividade dos reprodutores em virtude de sustentar o fornecimento de larvas e alevinos em qualidade e quantidade para o elo da cadeia produtiva destinada a terminação (De Silva et al., 2008). Neste sentido, a nutrição dos reprodutores é um dos fatores relevantes, pois exerce influência significativa na qualidade reprodutiva dos peixes, exigindo o fornecimento de dietas que contenham adequado balanço de nutrientes necessários para a manutenção das funções fisiológicas e demanda dos eventos reprodutivos definindo a capacidade de fertilização dos gametas e desenvolvimento embrionário normal da prole (Izquierdo et al., 2001; Rurangwa et al., 2004; Bobe e Labbé, 2010).

Esforços têm sido realizados para compreender a relação entre nutrição e desempenho reprodutivo da tilápia, no entanto, concentrando-se principalmente em exigências nutricionais para a obtenção de melhores índices reprodutivos para as fêmeas, sendo os machos eventualmente avaliados. Contudo, trabalhos realizados demonstram as influências de alguns nutrientes sobre a performance reprodutiva e saúde dos machos, como por exemplo, os níveis de proteína (Oliveira et al., 2014; Ribeiro et al., 2017), energia (Bombardelli et al., 2010) e de alimentos como a glicerina bruta (Mewes et al., 2016), além de dietas suplementadas com vitaminas (Gammanpila et al., 2007; Mataveli et al., 2007; Mataveli et al., 2010), minerais inorgânicos, orgânicos (Pereira, 2019) e nucleotídeos purificados (Henriques, 2018). Entretanto, estes trabalhos não estabelecem com eficiência uma nutrição adequada para os reprodutores além de carecer de avaliações diante da variedade de ingredientes e suplementos alimentares existentes com potencial de otimizar o desempenho reprodutivo e auxiliar

na manutenção da saúde diante das situações estressantes inerentes ao manejo e reprodução dos animais.

Neste contexto, dentre os ingredientes suplementares destinados a nutrição animal merecida atenção deve-se aos hidrolisados proteicos. São produzidos por meio do fracionamento da cadeia polipeptídica das proteínas, podendo ser pela ação de agentes químicos (ácidos ou álcalis) ou biológicos (enzimas) conferindo produtos nutritivos com adequado balanço de aminoácidos, minerais, vitaminas além de aminoácidos livres e peptídeos bioativos os quais demonstram ser rapidamente absorvidos e melhor assimilados, desempenhando funções nutracêuticas ou servindo como alimentos funcionais aos animais (Dabrowski, 1984; Gilbert et al., 2008; Pasupuleti e Braun, 2010; Toldrá e Reig, 2011; Kumar et al., 2012; Toldrá et al., 2012; Chalamaiah et al., 2012; Broggi et al., 2017).

Recentemente, coprodutos agroindustriais de baixo valor agregado inerentes a atividade de abate de aves e suínos têm sido transformados em hidrolisados proteicos como uma estratégia eficiente e de fundamental importância para as companhias de alimentos devido a agregação de valor e mitigação dos impactos causados pela disposição dos resíduos no ambiente.

Estudos têm demonstrado que a inclusão de hidrolisados suínos ou combinados com o de aves (*Blend*) em dietas é benéfica para os peixes, podendo influenciar sobre a modulação do trato gastrointestinal aumentando o número de vilosidades e diminuindo a túnica muscular do intestino, viabilizando melhor superfície absorptiva (Carvalho, 2019) além de superior atividade de proteases, promovendo a digestibilidade e o crescimento (Lorenz et al., 2018), conversão alimentar e taxa de eficiência proteica (Dieterich, 2014) sem afetar a saúde dos animais (Lewandowski et al., 2013).

Diante deste enunciado, o estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da inclusão de níveis da proteína hidrolisada de frango (PHF) na dieta sobre os parâmetros espermáticos e metabólitos plasmáticos de machos de tilápia-do-Nilo.

4. Material e métodos

4.1 Local

O experimento foi realizado na Aquicultura Venites (latitude 24°41'44" sul e longitude 53°46'48" oeste), localizada no município de Toledo, Paraná, Brasil, durante

192 dias. O mesmo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Protocolo nº32/19).

4.2 Dietas experimentais

As dietas experimentais foram formuladas e processadas atendendo as exigências nutricionais de macro-nutrientes (Oliveira et al., 2014; Orlando et al., 2017) e micronutrientes (Furuya, 2010), sendo isoproteicas e isoenergéticas (Tabela 1).

Os ingredientes foram pesados, homogeneizados e moídos em moinho tipo martelo (Vieira®) com peneiras de 0,3 mm. Após, as dietas foram umedecidas com 20% de água e submetidas ao processo de extrusão (Ex-Micro®) com matriz de 4 mm e secas em estufa de circulação de ar forçada a temperatura de 55° C por 24 horas.

Realizou-se análises de proteína bruta, extrato etéreo, umidade, matéria mineral (AOAC, 2000) e de aminoácidos (essenciais e não essenciais) das rações e da PHF (Tabela 2) (CBO – Valinhos-SP). A energia bruta foi determinada em bomba calorimétrica (IKA® C 2000 basic).

Tabela 1 - Composição da dieta controle e das dietas contendo níveis crescentes de inclusão de proteína hidrolisada de frango (PHF) para machos de tilápia-do-Nilo

Composição	Dietas (Inclusão PHF)					
	Controle	1%	2%	3%	4%	5%
<i>Ingredientes (g kg⁻¹)</i>						
Farinha de penas ¹	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Farelo de soja – 46% PB ¹	353,30	342,30	331,40	320,50	309,80	298,70
Farinha de vísceras de aves ¹	170,00	164,00	158,00	152,00	146,00	140,00
Milho grão ¹	205,30	206,90	208,40	209,90	211,40	213,00
Farelo de trigo ¹	120,00	126,00	132,00	138,00	144,00	150,00
Óleo de soja ¹	29,80	28,70	27,70	26,70	25,60	24,60
Proteína hidrolisada de frango ¹	0,00	10,00	20,00	30,00	40,00	50,00
Sal - NaCl	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Calcário	1,90	2,20	2,40	2,60	2,80	3,00
Cloreto de colina ²	1,30	1,30	1,30	1,30	1,30	1,30
DL- Metionina ³	3,00	3,00	2,90	2,90	2,80	2,80
Fosfato bicálcico	1,90	2,30	2,70	3,10	3,50	3,90
L-Lisina – HCL ⁴	0,80	0,60	0,50	0,30	0,10	0,00
Premix mineral e vitamínico ⁵	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Vitamina E ⁶	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Vitamina C ⁷	2,20	2,20	2,20	2,20	2,20	2,20
Propionato de cálcio	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50
Antioxidante ⁸	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Total	1000,00	1000,00	1000,00	1000,00	1000,00	1000,0

¹BRF Ingredients Ltda[®]; ²Cloreto de colina (60%); ³DL-Metionina Evonik[®] (99%); ⁴L-Lisina HCL Evonik[®] (54,6%); ⁵Níveis de garantia por quilograma do produto: Vit. A, 500.00 UI; Vit. D3, 200.00 UI; Vit. E, 5.000 mg; Vit. K3, 1.000 mg; Vit. B1, 1.500 mg; Vit. B2, 1.500 mg; Vit. B6, 1.500 mg; Vit. B12, 4.000 mg; Nicotinamida, 7.000 mg; Colina, 40.000 mg; Biotina, 50,00 mg; Pantotenato Cálcio, 4.000 mg; Vit. C, 15.000 mg; Ácido Fólico, 500,00 mg; Inositol, 10.000 mg; Ferro, 5.000 mg; Iodo, 50,00 mg; Manganês, 1.500 mg; Zinco, 5.000 mg; Selênio, 10,00 mg; Cobre, 500,00 mg; Cobalto, 10,00 mg; ⁶Vitamina E (50%); ⁷Vitamina C (30%); ⁸Banox-Alltech[®].

Tabela 2 - Composição proximal e perfil de aminoácidos da proteína hidrolisada de frango (PHF) e das dietas experimentais para machos de tilápia-do-Nilo.

Composição	Dietas (Inclusão PHF)						PHF
	Controle	1%	2%	3%	4%	5%	
<i>Composição físico-química (g kg⁻¹)</i>							
Matéria seca	920,30	917,50	926,30	948,30	934,40	928,10	936,20
Proteína Bruta	391,20	396,60	399,40	390,10	397,50	397,90	780,40
Energia bruta (kJ g ⁻¹)	16,40	16,50	16,60	16,40	16,90	16,70	20,30
Extrato etéreo	72,90	71,00	74,30	71,50	74,00	73,10	119,70
<i>Aminoácidos essenciais (g kg⁻¹)</i>							
Arginina	27,50	27,30	28,00	26,70	28,00	27,50	47,70
Histidina	8,90	8,80	9,30	9,20	9,50	8,80	17,60
Isoleucina	17,20	16,80	17,00	15,90	17,50	16,50	30,50
Leucina	30,50	30,50	30,20	29,50	30,20	30,30	55,30
Lisina	21,90	21,70	22,20	22,40	22,60	21,70	48,90
Metionina	8,10	8,00	8,00	8,50	8,60	8,50	17,40
Fenilalanina	18,90	17,70	19,00	17,80	19,00	18,40	30,00
Treonina	16,10	16,30	16,30	15,70	16,50	16,50	29,40
Valina	20,20	19,70	20,20	17,10	20,70	19,50	37,60
Triptofano	-	-	-	-	-	-	5,10
<i>Aminoácidos não-essenciais (g kg⁻¹)</i>							
Ácido aspártico	36,80	34,50	34,20	35,30	35,50	34,80	66,00
Ácido glutâmico	61,20	60,40	60,20	61,70	61,40	60,40	103,40
Alanina	21,50	21,30	22,00	21,30	22,00	22,00	49,40
Cistina	6,30	6,30	6,40	3,60	5,60	7,10	9,90
Glicina	27,70	27,70	26,60	26,70	27,90	28,70	64,20
Prolina	26,10	26,20	26,70	24,20	26,50	26,30	43,30
Serina	24,40	25,10	24,70	21,70	25,00	25,00	30,30
Taurina	0,70	0,70	0,70	0,90	0,90	0,90	7,20
Tirosina	12,70	12,50	12,70	12,40	12,50	12,50	23,00
<i>Total aminoácidos (g kg⁻¹)</i>	386,70	382,50	387,40	371,20	389,90	385,00	717,00

4.3 Delineamento experimental

Foram utilizados 120 machos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) da variedade GIFT. Os animais foram anestesiados com solução de benzocaina (100 mg L⁻¹) (Gomes et al., 2001) pesados em balança digital (0,01 g) e medidos (cm) com auxílio de ictiômetro e, distribuídos em seis hapas (15 m³, malha 5 mm) dispostos em um viveiro de 4.000 m² e, mantidos em manejo alimentar a taxa de 1% do peso vivo por dia (corrigidos cada 30 dias por meio de biometrias) dividido em duas refeições (10:00 e 16:00h) de acordo com as respectivas dietas experimentais contendo níveis crescentes de PHF (1%, 2%, 3%, 4% e 5%) e uma dieta controle por 192 dias.

Aos 90 dias após o início do experimento os animais foram dispostos ao acasalamento com fêmeas ($587,35 \pm 44,36\text{g}$) distribuídas em 24 hapas em delineamento inteiramente casualizado (6 m^3 , malha de 1 mm) durante 102 dias na proporção de 3 fêmeas:1 macho (Macintosh e Little, 1995).

4.4 Coleta de sangue e órgãos

Ao final do experimento, dez machos ($n=10$) de cada tratamento foram anestesiados em solução de benzocaína (100 mg L^{-1} , Gomes et al., 2001) para a realização das medidas individuais de peso (g) e comprimento (cm), e após foram submetidos à coleta de sangue via punção da veia caudal com seringas contendo solução de heparina (Ranzani-Paiva et al., 2013).

As alíquotas de sangue foram centrifugadas a 3.000 rpm por 15 minutos e, em seguida foi retirado o plasma para imediata preservação em nitrogênio líquido (-196°C) e na sequência mantidos em ultrafreezer (-80°C) até o momento das análises.

As dosagens das concentrações dos metabólitos plasmáticos foram realizadas em triplicata em leitor de microplacas multimodal (Varioskan®) utilizando kits específicos conforme as orientações dos fabricantes (Testosterona (T) – Diagnostics Biochem Canadá - DBC; Elementos bioquímicos: proteínas totais (PT), albumina (ALB), uréia (UR), glicose (GLI), colesterol total (COL), colesterol HDL (HDL), triacilgliceróis (TAG) e fosfatase alcalina – Gold Analisa®).

Após a coleta de sangue, os peixes foram eutanasiados em solução de benzocaína (250 mg L^{-1} , Gomes et al., 2001), dissecados para a remoção das vísceras e separação dos órgãos e, mensurados os pesos (g) dos testículos, fígado, vísceras e gordura visceral para os cálculos dos índices somáticos dado pela relação: peso do órgão ou da gordura (g) $\times 100 /$ peso do peixe (g).

4.5 Coleta do sêmen e avaliação espermática

A avaliação seminal foi realizada mediante a coleta do sêmen de dez peixes de cada tratamento ($n=10$), totalizando 60 amostragens. Para tanto, após a mensuração do peso (item 4.4), os testículos foram seccionados com o auxílio de bisturi na porção medial para a coleta do sêmen e colocados em tubos eppendorfs (1,5 mL). As alíquotas foram ativadas com água destilada e adicionados em câmara de Neubauer espelhada (100 μm profundidade) e lamínula (24 x 24 mm) para a captura dos vídeos realizada com auxílio de microscópio de luz trinocular (Nikon e200) em objetiva de 40 x e câmera

(Basler® 640-120gc; 640x480 pixels) conectada a um computador (intel core i7® CPU 2,3 GHz, 4Gb de Ram; Microsoft Windows XP®, 2002).

Os vídeos foram capturados a 100 fps (*software* Pylon - basler.com), sendo editados um segundo das imagens (Virtualdub-1.9.0 - (virtualdub.org) e analisados no *software* ImageJ (National Institutes of Health, USA - <http://rsb.info.nih.gov/ij/>) pelo plugin CASA (Computer Assisted Sperm Analysis - University of California and Howard Hughes Medical Institute, USA) conforme Wilson-Leedy e Ingermann (2007) e Sanches et al. (2010) adaptado para a tilápia-do-Nilo, totalizando 180 vídeos analisados em três momentos, 10, 30 e 60 segundos após a ativação espermática. Os parâmetros de motilidade espermática avaliados foram a taxa de motilidade (MOT), velocidade curvilinear (VCL), velocidade média do caminho (VAP) e velocidade em linha reta (VSL). Considerou-se como móveis espermatozoides acima de 1, 10 e 15 $\mu\text{m/s}$ para os parâmetros de VSL, VAP e VCL respectivamente.

Para quantificar a concentração espermática uma alíquota do sêmen foi diluído em solução formol-salina (1:1000) e realizada a contagem em câmara de Neubauer utilizando microscópio (Sanches et al., 2011). A sobrevivência espermática foi estimada por meio da contagem de células fixadas e coradas com eosina-nigrosina conforme recomendado por Kavamoto e Fogli da Silveira (1986) e Sanches et al. (2009). A normalidade dos espermatozoides foi avaliada por meio da classificação dos espermatozoides (Caneppele et al., 2015) fixados em solução formol-salina e corados com rosa de bengala (Streit Jr. et al., 2004).

4.6 Qualidade de água

Durante o período experimental os parâmetros de qualidade da água: pH e oxigênio dissolvido (mg L^{-1}) foram mensurados semanalmente por meio de uma sonda multiparâmetro YSI®. A transparência da água (m) foi mensurada semanalmente por meio do disco de Secchi e a temperatura ($^{\circ}\text{C}$) avaliada diariamente com termômetro de mercúrio.

As médias dos parâmetros da água durante o período experimental foram: pH: $7,24 \pm 0,85$; oxigênio dissolvido: $5,39 \pm 1,11 \text{ mg L}^{-1}$; transparência: $26,30 \pm 4,19 \text{ cm}$; temperatura $26,12 \pm 2,50^{\circ}\text{C}$.

4.7 Análise estatística

Os dados foram avaliados pelo teste de pressupostos de normalidade (Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (Levene) de variâncias e após, à análise de variância (ANOVA - one-way), quando significativas ($P < 0,05$), ao teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade pelo software Statistica 7.0 (Statsoft, 2005).

5. Resultados e discussão

Resultado do processo de hidrólise enzimática, a PHF é um produto com elevada qualidade nutricional das frações proteicas (780,40 g kg⁻¹) e peptídicas de baixo peso molecular (Distribuição do peso molecular (% de peptídeos): 200 – 500 Da = 6,06%; 500 – 800 Da = 45,45%; 800 – 1100 Da = 27,27%; > 1000 Da: 21,21%), incluindo dipeptídeos, tripeptídeos e polipeptídeos com potencial atividade biológica, como anti-hipertensiva, antioxidante e hipoglicêmica (Biopep-Uwm, 2019), assim como aminoácidos livres (14,06% - principais: alanina, leucina e ácido glutâmico).

A PHF como ingrediente adicional em dietas para tilápia demonstra elevada digestibilidade de suas frações proteicas, apresentando valores médios de 90,84% para a proteína bruta, 93,85% para os aminoácidos totais e de 87,29% para a energia bruta (Dos Santos, 2019) e quando incluída na nutrição de alevinos de tilápias melhorou os índices de atratividade e palatabilidade (Alves et al., 2019a; Alves et al., 2019b), desempenhando efeitos positivos sobre os parâmetros zootécnicos de pós-larvas e alevinos (Rocha, 2018), além de influenciar na morfologia do intestino e no metabolismo lipídico dos animais (Luczinski, 2019).

Dentre os índices somáticos avaliados, o IVS, IHS e IGVS foram influenciados significativamente ($P < 0,05$) pelos níveis da PHF na dieta, contudo, não foram evidenciados efeitos significativos ($P > 0,05$) para o IGS (Tabela 3).

Segundo as observações, notou-se média de 11,73% de vísceras nos animais alimentados com a dieta contendo 5% de inclusão da PHF ($P < 0,05$), entretanto, não diferenciando dos demais níveis, porém, comparativamente inferiores com relação ao grupo controle ($P < 0,05$), o qual apresentou em média 14,24% de vísceras (Tabela 3).

Tabela 3 – Parâmetros morfométricos e índices somáticos de machos de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas experimentais.

Parâmetros	Dietas (% Inclusão PHF)						P
	C	1%	2%	3%	4%	5%	
PI (g) ¹	766,73 ± 70,13	771,68 ± 80,44	786,92 ± 81,76	756,76 ± 99,25	757,65 ± 95,55	777,75 ± 98,01	0,8905
PF (g) ²	1086,20 ± 133,74	1118,94 ± 114,97	1153,55 ± 59,91	1227,05 ± 58,52	1256,05 ± 50,94	1285,90 ± 66,97	0,1623
IVS (%) ³	14,24 ± 1,06 ^a	13,62 ± 1,12 ^{ab}	12,45 ± 0,89 ^{ab}	12,30 ± 0,36 ^{ab}	11,80 ± 1,15 ^b	11,73 ± 0,96 ^b	0,0080
IHS (%) ⁴	1,94 ± 0,23 ^b	1,97 ± 0,42 ^b	2,03 ± 0,37 ^b	2,29 ± 0,25 ^{ab}	2,50 ± 0,25 ^{ab}	2,72 ± 0,22 ^a	0,0091
IGS (%) ⁵	0,97 ± 0,27	0,83 ± 0,41	0,78 ± 0,23	0,83 ± 0,33	0,78 ± 0,26	0,80 ± 0,27	0,9703
IGVS (%) ⁶	1,07 ± 0,21 ^a	0,85 ± 0,26 ^{ab}	0,62 ± 0,13 ^{ab}	0,56 ± 0,18 ^b	0,54 ± 0,20 ^b	0,58 ± 0,16 ^b	0,0087

Valores expressos como média ± desvio padrão. ^{ab}Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey. ¹Peso inicial; ²Peso final; ³Índice viscerossomático; ⁴Índice hepatossomático; ⁵Índice gonadossomático; ⁶Índice de gordura viscerossomática.

Os valores médios observados para o IHS foram significativamente superiores ($P < 0,05$) nos machos alimentados com a dieta contendo 5% da PHF, apresentando média de 2,72%, porém similar aos grupos alimentados com 3% e 4% os quais apresentaram médias de 2,29% e 2,50% respectivamente (Tabela 3). O grupo controle e os grupos alimentados com até 2% da PHF na dieta apresentaram menores IHS (Tabela 3).

Sugere-se que o aumento do IHS nos peixes que receberam a inclusão da PHF pode estar relacionado a maior atividade do fígado, devido a metabolização dos compostos presentes nos hidrolisados (peptídeos e aminoácidos livres), pois todas as dietas, inclusive a controle forneceram as exigências nutricionais para os reprodutores de tilápia, sendo isoproteicas e isoenergéticas em sua formulação, diferenciando somente pela inclusão da PHF.

O fígado é o principal órgão metabólico do organismo e sua sobrecarga pode causar hiperplasia ou hipertrofia resultando em aumento do IHS (Meurer et al., 2009). Esta suposição se confirmou à medida que os níveis de inclusão da PHF foram aumentados na dieta e apresentou valores médios acima dos relatados na literatura para reprodutores de tilápia (0,98%) alimentados com dietas contendo nível de 38% de proteína (Oliveira et al., 2014).

Este parâmetro está relacionado com a nutrição e em conjunto com o IGVS pode estimar a dinâmica da utilização de energia endógena, indicando que modificações nesses índices podem refletir a utilização de lipídeos, proteína e estoque imediato de glicogênio os quais podem ser mobilizados em situações como estresse, para a

formação dos gametas e outros (Collins e Anderson, 2005; Cyrino et al., 2000; Yogata e Oku, 2000; Querol et al., 2002; Tavares-Dias e Mataquero, 2004).

Porém, este fato não determinou influências sobre a atividade da fosfatase alcalina, a qual pode fornecer evidência de alterações hepáticas relacionadas a nutrição (Ayisi et al., 2018; Ebrahimi et al. 2017). Ressalta-se a necessidade de análises adicionais da atividade das principais enzimas relacionadas ao catabolismo de aminoácidos (AST- asparato aminotrasferase; ALT- alanina aminotransferase) e da morfologia hepática para melhor compreensão deste evento.

O IGVS apresentou valores superiores ($P < 0,05$) nos grupos alimentados com a dieta controle (1,07%) porém não diferenciando dos grupos alimentados com 1% (0,85%) e 2% (0,62%) com relação aos tratamentos com maior inclusão da PHF (Tabela 3).

As concentrações dos metabólitos plasmáticos podem refletir a situação metabólica dos tecidos animais, assim possibilitando a detecção de alterações no funcionamento dos órgãos e a adaptação dos animais diante dos desafios nutricionais, fisiológicos e desequilíbrios metabólicos, específicos ou de origem nutricional (Higuchi et al., 2011).

Os metabólitos plasmáticos de proteínas totais (PT), albumina (ALB), ureia (UR), glicose (GLI), colesterol total (COL), triacilgliceróis (TAG), fosfatase alcalina (FAL) e testosterona (T) não foram influenciados significativamente ($P > 0,05$) pela inclusão da PHF entre os diferentes grupos (Tabela 4).

Tabela 4 – Metabólitos plasmáticos de machos de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas experimentais.

Metabólitos plasmáticos	Dietas (% Inclusão PHF)						P
	C	1%	2%	3%	4%	5%	
PT (g L ⁻¹) ¹	36,44 ± 3,30	37,52 ± 4,38	39,03 ± 4,29	35,61 ± 5,44	36,78 ± 6,53	37,58 ± 2,58	0,7630
ALB (g L ⁻¹) ²	16,31 ± 0,98	17,04 ± 1,75	18,03 ± 1,31	16,74 ± 2,46	18,28 ± 3,54	16,67 ± 1,74	0,3728
UR (mg DI ⁻¹) ³	6,52 ± 0,90	7,16 ± 0,65	7,16 ± 0,80	7,50 ± 1,49	6,66 ± 0,64	6,80 ± 0,85	0,3050
GLI (mg DI ⁻¹) ⁴	53,28 ± 19,26	62,63 ± 34,43	74,37 ± 23,26	85,48 ± 33,62	86,22 ± 32,96	90,05 ± 22,22	0,0787
COL (mg DI ⁻¹) ⁵	92,53 ± 8,52	99,49 ± 18,65	96,75 ± 7,79	94,86 ± 12,08	112,9 ± 33,93	103,4 ± 22,71	0,3733
HDL (mg DI ⁻¹) ⁶	25,48 ± 2,57 ^b	24,71 ± 2,79 ^b	31,66 ± 2,34 ^a	26,07 ± 3,10 ^b	25,00 ± 3,33 ^b	26,67 ± 2,17 ^b	0,0006
TAG (mg DI ⁻¹) ⁷	107,2 ± 37,24	96,21 ± 38,43	108,8 ± 45,78	97,47 ± 42,09	107,2 ± 40,29	94,33 ± 42,03	0,9617
FAL (UI L ⁻¹) ⁸	47,29 ± 8,98	45,95 ± 7,18	45,57 ± 3,99	45,38 ± 5,30	47,87 ± 6,69	55,78 ± 9,81	0,0563
T (ng mL ⁻¹) ⁹	13,95 ± 3,34	13,72 ± 5,58	12,77 ± 5,13	13,80 ± 5,21	12,37 ± 4,76	12,24 ± 5,73	0,9721

Valores expressos como média ± desvio padrão. ¹PT: Proteínas totais; ²ALB: Albumina; ³UR: Uréia; ⁴GLI: Glicose; ⁵COL: Colesterol total; ⁶HDL: Colesterol HDL; ⁷TAG: Triacilgliceróis; ⁸FAL: Fosfatase alcalina; ⁹T: Testosterona. ^{ab}Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Embora não tenham sido evidenciadas alterações nos outros componentes do perfil bioquímico plasmático dos peixes no presente estudo, os valores médios obtidos para os diferentes grupos se assemelham aos resultados reportados por Hrubec et al. (2000), no qual para as concentrações de proteína (29 a 66 g L⁻¹), albumina (13 a 26 g L⁻¹), glicose (39 a 96 mg dL⁻¹) e colesterol (64 a 299 mg dL⁻¹) foram considerados dentro da faixa ideal para tilápias em sistema de cultivo. Para as concentrações médias de ureia que é um indicativo da atividade metabólica de nitrogenados, os valores médios apresentaram-se dentro da faixa proposta considerada ideal (até 10 mg dL⁻¹) para metabolização e excreção de nitrogenados no organismo de teleósteos de água doce (Campbell, 2012).

Entretanto, as concentrações de colesterol HDL foram superiores ($P < 0,05$) para os peixes alimentados com a dieta contendo nível de 2% da PHF (Tabela 4). Sugerindo que estas evidências sejam decorrente da propriedade lipolítica conferida aos hidrolisados proteicos (Tu et al., 2018) embora não tenha desempenhado efeitos sobre as outras frações lipídicas sanguíneas, como o colesterol e triacilgliceróis.

A lipoproteína de alta densidade (HDL) é formada no fígado, intestino e circulação sanguínea, constituída principalmente por proteínas necessárias para a estabilização e transporte plasmático do colesterol através de sua esterificação, e está associada ao transporte reverso de colesterol (TRC) responsável pela mobilização de cadeias lipídicas dos tecidos periféricos para requerimento energético ou eliminação por meio do fígado, podendo ser excretado na bile e fezes. Além disso, possui funções antiaterogênicas, proteção contra oxidação das lipoproteínas de baixa densidade (LDLs), inibição da fixação de moléculas de adesão e monócitos ao endotélio, e ação vasodilatadora devido a estimulação da liberação de óxido nítrico (Nelson e Cox, 2002; Faludi et al., 2017).

Estudo com machos em fase de crescimento (300g) demonstrou que a inclusão da PHF até o nível de 5% em dietas proporcionou redução de gordura no filé (de 1,50% para 0,92%) e dos metabólitos plasmáticos de triacilgliceróis (de 117 para 69,59 mg dL⁻¹), lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) (de 22,36 para 12,52 mg dL⁻¹) e colesterol total (de 82,17 para 63,81 mg dL⁻¹) supostamente devido ao aumento do colesterol HDL (de 127,24 para 184,78 mg dL⁻¹) (Luczinski, 2019).

A associação do efeito anti-adipogênico de frações peptídicas de baixo peso molecular que constituem os hidrolisados proteicos supostamente está relacionada a mecanismos de supressão da atividade enzimática da glicerol-3-fosfato desidrogenase

a qual está envolvida na diferenciação dos adipócitos, gerando a inibição do acúmulo de lipídios por pré-adipócitos (Tsou et al., 2010).

De maneira geral, o aumento da concentração da HDL neste estudo ao nível de 2% culminou com a diminuição da gordura visceral, no entanto, as concentrações de HDL do grupo controle e 1% foram similares os níveis de 3, 4 e 5% de inclusão da PHF na dieta, tornando difícil a interpretação e a inferência destes resultados, inclusive para os demais metabólitos plasmáticos avaliados devido ao fato de que os valores de referência para a tilápia-do-Nilo ainda não estão claras e apresentam variações por motivo de diferenças entre idade, sexo, ambiente de cultivo e estado de saúde dos animais (Bittencourt et al., 2003; Neu et al., 2013).

A testosterona é sintetizada a partir do colesterol nas células de Leydig (Wayne Hou et al., 1990) e convertida no principal androgênio responsável pela espermatogênese em peixes, a 11-ketotestosterona (Gazola e Borella, 1997; Ohta et al., 2007). No presente estudo, não foram constatadas diferenças significativas ($P > 0,05$) nas concentrações deste hormônio nos machos dos diferentes grupos.

As características de elevada disponibilidade, assimilação (Dabrowski, 1984; Gilbert et al., 2008) e dos efeitos nutracêuticos que os compostos bioativos presentes nos hidrolisados podem oferecer (Chalamaiah et al., 2012), este estudo especulava que este ingrediente fosse desempenhar efeitos potenciadores na capacidade reprodutiva. Entretanto, após 192 dias de experimentação os parâmetros reprodutivos avaliados não foram influenciados significativamente pela inclusão da PHF.

As médias de concentração ($1,29$ a $2,03 \text{ spz } 10^9 \text{ mL}^{-1}$), sobrevivência (78,06 a 84,96%) e normalidade (66,93 a 78,21%) espermática não foram influenciadas significativamente ($P > 0,05$) pela inclusão da PHF nas dietas (Tabela 5).

Tabela 5 – Concentração, sobrevivência e normalidade dos espermatozoides de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas experimentais.

Dietas	Concentração (spz 10^9 mL^{-1})	Sobrevivência (%)	Normalidade (%)
C	$1,29 \pm 0,70$	$78,06 \pm 10,29$	$66,93 \pm 7,68$
1%	$1,36 \pm 0,59$	$81,14 \pm 13,27$	$70,93 \pm 10,71$
2%	$1,47 \pm 0,65$	$80,66 \pm 11,73$	$75,86 \pm 5,77$
3%	$1,75 \pm 0,62$	$84,96 \pm 6,16$	$73,06 \pm 10,95$
4%	$1,76 \pm 1,06$	$82,13 \pm 9,03$	$78,21 \pm 8,74$
5%	$2,03 \pm 0,88$	$79,01 \pm 12,75$	$73,92 \pm 12,10$
<i>P</i>	0,2615	0,7649	0,1553

Valores expressos como média $\pm$ desvio padrão.

As taxas médias de motilidade (MOT) e velocidades espermáticas avaliadas no presente estudo (VCL, VAP e VSL) não foram influenciadas significativamente ($P > 0,05$) pela inclusão dietética da PHF nos diferentes tempos após a ativação espermática (Tabela 6). O resultado pode ser atribuído ao atendimento dos níveis nutricionais sugeridos na literatura de proteína, energia e vitamina C para boa performance dos parâmetros espermáticos de machos de tilápia.

Tabela 6 - Parâmetros espermáticos de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas experimentais.

Dietas	¹ MOT (%)	² VCL ($\mu\text{m s}^{-1}$)	³ VAP ($\mu\text{m s}^{-1}$)	⁴ VSL ($\mu\text{m s}^{-1}$)
<i>10 segundos após a ativação espermática</i>				
C	70,43 ± 10,44	111,52 ± 10,17	57,01 ± 08,70	50,96 ± 07,56
1%	64,02 ± 15,63	106,23 ± 12,76	53,52 ± 08,92	48,30 ± 07,01
2%	62,51 ± 12,78	110,31 ± 11,34	55,01 ± 06,04	48,29 ± 05,38
3%	64,65 ± 09,54	105,11 ± 08,43	50,25 ± 05,71	45,02 ± 06,32
4%	67,25 ± 11,22	107,61 ± 11,86	50,26 ± 08,35	45,34 ± 06,74
5%	69,01 ± 12,20	112,95 ± 10,15	54,97 ± 05,27	48,53 ± 03,83
<i>P</i>	0,7085	0,5429	0,2358	0,2935
<i>30 segundos após a ativação espermática</i>				
C	66,03 ± 16,88	77,35 ± 08,99	39,28 ± 06,30	36,43 ± 05,55
1%	58,43 ± 16,76	76,26 ± 11,46	36,45 ± 07,45	37,71 ± 06,70
2%	59,27 ± 11,08	70,39 ± 09,19	33,84 ± 04,75	31,06 ± 03,94
3%	62,03 ± 13,26	77,42 ± 09,33	36,01 ± 04,58	32,98 ± 04,54
4%	53,67 ± 19,59	79,21 ± 10,43	37,12 ± 06,56	33,72 ± 05,43
5%	58,12 ± 18,64	70,69 ± 10,71	33,98 ± 06,22	31,40 ± 05,70
<i>P</i>	0,6651	0,2438	0,3517	0,2843
<i>60 segundos após a ativação espermática</i>				
C	43,77 ± 19,33	53,59 ± 06,06	24,23 ± 03,87	22,44 ± 03,58
1%	38,02 ± 18,40	56,36 ± 08,52	24,58 ± 05,23	22,56 ± 05,05
2%	32,58 ± 14,53	54,75 ± 09,38	24,25 ± 05,99	21,96 ± 05,44
3%	44,12 ± 14,07	57,34 ± 09,16	23,48 ± 03,04	21,31 ± 02,79
4%	38,19 ± 17,14	57,96 ± 07,92	24,65 ± 05,58	22,43 ± 05,30
5%	32,10 ± 19,76	52,23 ± 08,65	21,65 ± 04,88	19,98 ± 04,42
<i>P</i>	0,4788	0,6141	0,7428	0,7923

Valores expressos em média ± desvio padrão. ¹MOT: Taxa de motilidade espermática; ²VCL: Velocidade curvilínea; ³VAP: Velocidade média do caminho. ⁴VSL: Velocidade em linha reta.

Na literatura, foi encontrado apenas um trabalho referente a avaliação dos efeitos da inclusão de hidrolisado proteico em dietas sobre a saúde e fertilidade de machos, entretanto, para ratos. Segundo Lassoued et al. (2018), a inclusão de hidrolisados de thornback ray (*Raja clavata*) para ratos demonstrou atividades hipocolesterolêmicas e antioxidantes que reduziram a aterosclerose por meio da

redução do estresse oxidativo, das concentrações dos metabólitos plasmáticos de colesterol total, triacilgliceróis, LDL e aumento do HDL sérico, além de contribuir para a melhora dos parâmetros espermáticos (concentração, motilidade e viabilidade) quando induzidos aos impactos negativos da hipercolesterolemia.

Estudos com a mesma variedade de tilápia (GIFT) realizado por Ribeiro et al. (2018) demonstraram que machos alimentados com dietas contendo 44% de proteína na dieta apresentam superior qualidade espermática em comparação com níveis de 32, 38 e 50% de proteína dietética.

Sarmiento et al. (2017) verificaram que dietas (37% de proteína bruta e 3.900 kcal kg⁻¹ energia bruta) suplementadas com vitamina C (0, 261, 599 e 942 mg kg⁻¹) para machos reprodutores de tilápia-do-Nilo alimentados a 2% do peso vivo diariamente durante o período de 100 dias, proporcionou superior qualidade seminal exibindo aumento do IGS, volume seminal, motilidade (de 60,0 para 90,8%), concentração espermática (de 2,2 para 3,5 spz 10⁶ mL⁻¹) e velocidades (VCL, VAP e VSL), contudo, sem determinar efeitos sobre a normalidade (86,1%) dos espermatozoides.

Diferentemente dos resultados obtidos no presente estudo, pois não foram constatados efeitos significativos sobre os valores médios do IGS e apresentou valores inferiores aos mencionados pelos autores acima para as médias de motilidade espermática (44,55 a 62,68%) evidenciadas aos dez segundos após a ativação, porém, a concentração espermática (1,29 a 2,03 spz 10⁹ mL⁻¹) apresentou valores médios superiores.

Neste sentido, a falta de influências significativas entre o grupo controle e com a inclusão da PHF sobre os parâmetros espermáticos, concentrações de testosterona plasmática e desenvolvimento testicular dos machos (IGS), indica que este ingrediente não afeta os processos de proliferação espermática devido ao fornecimento de níveis nutricionais adequados para a manutenção do crescimento, funções fisiológicas e reprodutivas.

6. Conclusão

A inclusão de até 5% da PHF como fonte proteica alternativa pode ser realizada para machos de tilápia-do-Nilo, pois não interfere nos parâmetros espermáticos, bem como, contribui para o metabolismo lipídico, redução da gordura visceral e índice viscerossomático.

7. Referências

- Alves, D. R. S., Silva, T. C., Rocha, J. D. M., Oliveira, S. R., Signor, A. & Boscolo, W. R. (2019a). Compelling palatability of protein hydrolysates for Nile tilapia juveniles. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 47, 371-376. <http://dx.doi.org/10.3856/vol47-issue2-fulltext-19>
- Alves, D. R. S., Oliveira, S. R., Luczinski, T. G., Paulo, I. G. P., Boscolo, W. R., Bittencourt, A., & Signor, A. (2019b). Palatability of Protein Hydrolysates from Industrial Byproducts for Nile Tilapia Juveniles. *Animals*, 9, 311. <https://doi.org/10.3390/ani9060311>
- AOAC (Association Of Official Analytical Chemistry). (2000). *Official Methods of Analysis*, 17th ed, Washington, D.C. USA.
- Ayisi, C. L., Zhao, J., & Wu, J. W. (2018). Replacement of fish oil with palm oil: Effects on growth performance, innate immune response, antioxidant capacity and disease resistance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *PloS one*, 13(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196100>
- Biopep-Uwm (2019). Minkiewicz P., Iwaniak A., Darewicz M. Database of Bioactive Peptides: Current Opportunities. *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 5978. <https://doi.org/10.3390/ijms20235978>
- Bittencourt, N. L. R., Molinari, L. M., Scoaris, D. O., Pedroso, R. B., Nakamura, C. V., Ueda-Nakamura, T., Filho, B. A. A., & Filho, B. P. D. (2003). Hematological and biochemical values for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in semi-intensive system. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, 25, 385-389. <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.634.6424&rep=rep1&type=pdf>
- Bobe, J., & Labbé, C. (2010). Egg and sperm quality in fish. *General and comparative endocrinology*, 165(3), 535-548. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.02.011>
- Bombardelli, R. A., Hayashi, C., Natali, M. R. M., Sanches, E. A., & Piana, P. A. (2010). Níveis de energia digestível sobre os desempenhos reprodutivo e zootécnico e a deposição de lipídios nos hepatócitos de machos de tilapia-do-nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(5), 941-949. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982010000500001>
- Broggi, J. A., Wosniak, B., Uczay, J., Pessatti, M. L., & Fabregat, T. E. H. P. (2017). Sardine waste protein hydrolysate as feeding stimulant for silver catfish juveniles. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 69, 2, 505-512. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-8348>
- Campbell, T. W. (2012). Clinical chemistry of common nondomestic mammals, birds, reptiles, fish and amphibians. In: Thrall, M. A., Weiser, G., Allison, R. W & Campbell, T. W. *Veterinary hematology and clinical chemistry* (pp. 571-614). Second edition. WILEY-BLACKWELL, Ames, Iowa.

Caneppele, D., Sanches, E. A., & Romagosa, E. (2015). Sperm production of *Steindachneridion parahybae* (Steindachner 1877) and the effect of hormonal induction throughout one reproductive cycle. *Journal of Applied Ichthyology*, 31, 54-61.
<https://doi.org/10.1111/jai.12732>

Carvalho, K. V. (2019). Hidrolisado proteico misto de subprodutos de aves e suínos na inclusão de dietas para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Toledo – PR. Dissertação (mestrado) Programa Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca. Universidade Estadual Do Oeste Do Paraná.

Chalamaiah, M., Dinesh Kumar, B., Hemalatha, R., & Jyothirmayi, T. (2012). Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. *Food Chemistry*, 135, 3020–3038.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.100>

Collins, A. L., & Anderson, T. A. (2005). The role of food availability in regulating reproductive development in female golden perch. *Journal of Fish Biology*, 55(1), 94-104. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1999.tb00659.x>

Cyrino, J. E. P., Portz, L., & Martino, R. C. (2000). Retenção de proteína e energia em juvenis de "black bass" *Micropterus salmoides*. *Scientia Agricola*, 57(4), 609-616.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-90162000000400003>

Dabrowski, K. (1984). The feeding of fish larvae: present «state of the art» and perspectives. *Reproduction Nutrition Développement*, 24(6), 807-833.
https://rnd.edpsciences.org/articles/rnd/pdf/1984/07/RND_0181-1916_1984_24_6_ART0001.pdf

De Silva, S. S., Nguyen, T. T., & Ingram, B. I. (2008). Fish reproduction in relation to aquaculture. *Fish reproduction*, 535-575.
<http://hdl.handle.net/10536/DRO/DU:30021451>

Dieterich, F. (2014). Desenvolvimento, avaliação físico-química e biológica de hidrolisado proteico de resíduos agroindustriais para surubim. Jaboticabal – SP. Tese (Doutorado). Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP – CAUNESP.

<https://repositorio.unesp.br/handle/11449/108942>

Dos Santos, M. C. Digestibilidade aparente de hidrolisados proteicos de resíduos do abate de frangos e suínos pela tilápia do Nilo. (2019). Toledo – PR. Dissertação (mestrado) Programa Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca. Universidade Estadual Do Oeste Do Paraná.

Ebrahimi, M., Daeman, N. H., Chong, C. M., Karami, A., Kumar, V., Hoseinifar, S. H., & Romano, N. (2017). Comparing the effects of different dietary organic acids on the growth, intestinal short-chain fatty acids, and liver histopathology of red hybrid tilapia (*Oreochromis sp.*) and potential use of these as preservatives. *Fish physiology and biochemistry*, 43(4), 1195-1207.

<https://doi.org/10.1007/s10695-017-0365-0>

Faludi, A. A., Izar, M. C. D. O., Saraiva, J. F. K., Chacra, A. P. M., Bianco, H. T., Afiune Neto, & Chagas, A. C. P. (2017). Atualização da diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose–2017. *Arquivos brasileiros de cardiologia*, 109(2), 1-76.
<http://dx.doi.org/10.5935/abc.20170121>

Food and Agriculture Organization Of The United Nations (FAO). (2019). Fishery and Aquaculture Statistics.
<http://www.fao.org/fishery/statistics/yearbook/en>

Furuya, W. M. (2010). Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias. Toledo, Paraná, 100p.

Gammanpila, M., Yakupitiyage, A., & Bart, A. (2007). Evaluation of the effects of dietary vitamin C, E and Zinc supplementation on reproductive performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Sri Lanka Journal of Aquatic Science*, 12, 39-60.

Gazola, R., & Borella, M. I. (1997). Plasma testosterone and 11-ketotestosterone levels of male pacu *Piaractus mesopotamicus* (Cypriniformes, Characidae). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 30(12), 1485-1487.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-879X1997001200017>

Gilbert, E. R., Wong, E. A., & Webb Jr, K. E. (2008). Board-invited review: peptide absorption and utilization: implications for animal nutrition and health. *Journal of animal science*, 86(9), 2135-2155.
<https://doi.org/10.2527/jas.2007-0826>

Gomes, L. C., Chippari-Gomes, A. R., Lopes, N. P., Roubach, R., & Araujo-Lima, C. A. R. M. (2001). Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 32, 426-431.
<https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2001.tb00470.x>

Henriques, J. K. S. Desempenho de reprodutores de tilápia do Nilo alimentados com rações contendo nucleotídeos purificados. (2018). Marechal Cândido Rondon – PR. Dissertação (mestrado) Programa de pós graduação em zootecnia. Universidade Estadual Do Oeste Do Paraná.
<http://tede.unioeste.br/handle/tede/4359>

Higuchi, L. H., Feiden, A., Maluf, M. L. F., Dallagnol, J. M., Zaminhan, M., & Boscolo, W. R. (2011). Avaliação eritrocitária e bioquímica de jundiás (*Rhamdia quelen*) submetidos à dieta com diferentes níveis proteicos e energéticos. *Ciência Animal Brasileira*, 12(1), 70-75.
<http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=DJ2012061856>

Hrubec, T. C., Cardinale, J. L., & Smith, S. A. (2000). Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured tilapia (*Oreochromis hybrid*). *Veterinary clinical pathology*, 29(1), 7-12.
<https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2000.tb00389.x>

Izquierdo, M. S., Fernandez-Palacios, H., & Tacon, A. G. J. (2001). Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*, 197, 25-42.
[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00581-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00581-6)

Kavamoto, E. T., & Fogli da Silveira, W. (1986). Características físicas, químicas e microscópicas do sêmen do bagre, *Rhamdia hilarii* (Valenciennes, 1840) em 1061 condições de campo. *Boletim do Instituto de Pesca*, 13, 95-100.

https://www.pesca.sp.gov.br/boletim/index.php/bip/article/view/sumario_13_95-100

Kumar, N. S. S., Nazeer, R. A., & Ganesh, R. J. (2012). Funtional properties of protein hydrolysates from different body parts of horse mackerel (*Magalapis cordyla*) and croaker (*Otolithes ruber*). *Mediterranean Journal Nutrition Metabolism*, 5, 105-110.

<http://dx.doi.org/10.1007/s12349-012-0104-0>.

Lassoued, I., Mezghani, M., Jridi, M., Rahmouni, F., Jamoussi, K., Rebai, T., & Barkia, A. (2018). Protective effects of thornback ray muscle protein hydrolysate against dyslipidemia, oxidative stress and reduced fertility induced by high cholesterol diet in adult male rats. *RSC Advances*, 8(40), 22303-22312.

<https://doi.org/10.1039/C8RA00657A>

Lewandowski, V., Decarli, J. A., Pedron, F. de A., Feiden, A., Signor, A., & Boscolo, W.R. (2013). Hidrolisados cárneos na alimentação do surubim do Iguaçu (*Steindachneridion melanoderdatum*). *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, 20, 222–226.

<http://dx.doi.org/10.4322/rbcv.2014.008>

Little, D. C., & Hulata, G. (2000). Strategies for tilapia seed production. In *Tilapias: biology and exploitation* (pp. 267-326). Springer, Dordrecht.

Lorenz, E. K., Barone, R. S. C., Yamamoto, F. Y., & Cyrino, J. E. P. (2018). Dietary protein hydrolysates from animal by-products: digestibility and enzymatic activity for dourado *Salminus brasiliensis*. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 27, 236-246.

<https://doi.org/10.1080/10498850.2018.1424745>

Luczinski, T. G. (2019). Proteína hidrolisada de frango em dietas para juvenis de tilápia do Nilo. Toledo – PR. Dissertação (mestrado) Programa Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca. Universidade Estadual Do Oeste Do Paraná.

Macintosh, D. J., & Little, D. C. (1995). Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). In: Bromage, N. R.; Roberts, R. J. (Eds.). *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. Blackwell Science Ltd, London, 277–320.

Mataveli, M., de Moraes, G. V., Junior, D. P. S., Ribeiro, R. P., & Gasparino, E. (2010). Qualidade do sêmen em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de vitamina C. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 32(3), 345-349.

<https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v32i3.7836>

Mataveli, M., Moraes, G. V., Streir Junior, D. P., Vargas, L. D. M., Sakaguti, E. S., Toninato, J. C., & Merlini, L. (2007). Evaluation of semen quality from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) supplemented with different vitamin C concentrations. *Boletim do Instituto de Pesca*, 33, 1-7.

Meurer, F., Silva, M., Costa, M. M. D., Colpini, L. M. S., & Mascioli, A. D. S. (2009). Probiótico com levedura na alimentação da tilápia do Nilo, durante o período de

reversão sexual, cultivada em água de tanque de cultivo. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 10 (2).

<http://www.rbspa.ufba.br/index.php/rbspa/article/view/1179/840>

Mewes, J. K., Meurer, F., Tessaro, L., Buzzi, A. H., Syperreck, M. A., & Bombardelli, R. A. (2016). Diets containing crude glycerin damage the sperm characteristics and modify the testis histology of Nile tilapia broodstock. *Aquaculture*, 465, 164-171. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.08.035>

Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2002). Lehninger: Princípios de bioquímica. In *Lehninger: princípios de bioquímica* (pp. 975-975).

Neu, D. H., Furuya, W. M., Boscolo, W. R., Potrich, F. R., Lui, T. A., & Feiden, A. (2013). Glycerol inclusion in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles. *Aquaculture Nutrition*, 19, 211-217. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2012.00968.x>

Ohta, T., Miyake, H., Miura, C., Kamei, H., Aida, K., & Miura, T. (2007). Follicle-stimulating hormone induces spermatogenesis mediated by androgen production in Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Biology of Reproduction*, 77(6), 970-977. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.107.062299>

Oliveira, M. M., Ribeiro, T., Orlando, T. M., Oliveira, D. G. S., Drumond, M. M., Freitas, R. T. F., & Rosa, P. V. (2014). Effects crude protein levels on female Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reproductive performance parameters. *Animal Reproduction Science*, 150, 62-69. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.08.006>

Orlando, T. M., Oliveira, M. M., Paulino, R. R.; Costa, A. C., Allaman, I. B., & Rosa, P. V. (2017). Reproductive performance of female Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets with different digestible energy levels. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 46(1):1-7. <http://dx.doi.org/10.1590/s1806-92902017000100001>

Pasupuleti, V. K., & Braun, S. (2010). State of the art manufacturing of protein hydrolysates. *Protein Hydrolysates in Biotechnology*, 11–32.; https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6674-0_2

Pereira, M. M. Dietas suplementadas com minerais orgânicos e inorgânicos para tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* (fases juvenil, reprodutora e larval). (2019). Jaboticabal – SP. Tese (Doutorado). Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP – CAUNESP

Querol, M. V. M., Querol, E., & Gomes, N. N. A. (2002). Fator de condição gonadal, índice hepatossomático e recrutamento como indicadores do período de reprodução de *Loricariichthys platymetopon* (Osteichthyes, Loricariidae), bacia do rio Uruguai médio, sul do Brasil. *Iheringia. Série Zoologia*, 92(3), 79-84. <http://dx.doi.org/10.1590/S0073-47212002000300008>

Ranzani-Paiva, M.J.T., Pádua, S.B., Tavares-Dias, M., & Egami, M.I. (2013). Métodos para análise hematológica em peixes. 1ª ed., Maringá – PR, Universidade Estadual de Maringá - UEM. 135 p.

Ribeiro, M. J. P., Evangelista, M. M., Sanches, E. A., Lopes, T. S., Gonçalves, G. S. & Romagosa, E. (2018). Effect of diets of different protein levels for Nile tilapia broodstock on sperm quality characteristics and on egg biomass production and fecundity. *Global Journal of Fisheries and Aquaculture*, 6 (1), 445-454.

<http://globalscienceresearchjournals.org/journals>

Ribeiro, M. J. P., Evangelista, M. M., Antônio, E., Gonçalves, G. S., & Romagosa, E. (2017). Crude protein in diets for Nile tilapia broodfish. *Boletim do Instituto de Pesca*, 43, 35-46.

<http://dx.doi.org/10.20950/1678-2305.2017.35.46>

Rocha J. D. A. M. (2018). Proteína hidrolisada de frango para tilápia do Nilo: digestibilidade e desempenho produtivo. Toledo – PR. Tese (doutorado) Programa Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca. Universidade Estadual Do Oeste Do Paraná.

Rurangwa, E., Kime, D. E., Ollevier, F., & Nash, J. P. (2004). The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. *Aquaculture*, 234, 747– 28.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.12.006>

Sanches, E. A., Bombardelli, R. A., Marcos, R. M., Neumann, G., De Toledo, C. P. R., & Romagosa, E. (2010). Sperm motility of *Rhamdia quelen* studied using computer-assisted analysis by open-source software. *Aquaculture Research*, 42(1), 153-156.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02598.x>

Sanches, E. A., Marcos, R. M., Baggio, D. M., Tessaro, L., Balen, R. E., & Bombardelli, R. A. (2011). Sperm concentration estimate of fish semen using spermatocrit method. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 40(6), 1163-1167. [10.1590/S1516-35982011000600001](https://doi.org/10.1590/S1516-35982011000600001)

Sanches, E. A., Bombardelli, R. A., Baggio, D. M., & Souza, B. E. D. (2009). Dose inseminante para fertilização artificial de ovócitos de dourado. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38(11), 2091-2098.

<http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982009001100003>

Sarmiento, N. L. A. F., Martins, E. F. F., Costa, D. C., Silva, W. S., Mattioli, C. C., Luz, M. R., & Luz, R. K. (2017). Effects of supplemental dietary vitamin C on quality of semen from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) breeders. *Reproduction in Domestic Animals*, 52(1), 144-152.

<https://doi.org/10.1111/rda.12870>

Shokr, E. S. (2015). Effect of Follicular Stimulating Hormone and Leutinizing Hormone on Reproduction, Physiological and Biochemical Changes of *Oreochromis niloticus*. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences Physiology & Molecular Biology*, 7(1), 61-73.

<https://doi.org/10.21608/EAJBSC.2015.13703>

Siddiqui, A. Q., Al-Hafedh, Y. S., & Ali, S. A. (1998). Effect of dietary protein level on the reproductive performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture research*, 29(5), 349-358.

<https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.1998.00206.x>

Siddiqui, A. Q., Al-Harbi, A. H., & Al-Hafedh, Y. S. (1997). Effects of food supply on size at first maturity, fecundity and growth of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.)× *Oreochromis aureus* (Steindachner), in outdoor concrete tanks in Saudi Arabia. *Aquaculture Research*, 28(5), 341-349. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.1997.t01-1-00864.x>

StatSoft (2005). *Statistica 7.0 Software*. Tucksa, USA.

Streit Jr, D. P., de Moraes, G. V., Ribeiro, R. P., Povh, J. A., de Souza, E. D., & de Oliveira, C. A. L. (2004). Avaliação de diferentes técnicas para coloração de sêmen de peixes. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*, 7(2). <https://doi.org/10.25110/arqvet.v7i2.2004.82>

Tavares-Dias, M., & Mataqueiro, M. I. (2004). Características hematológicas, bioquímicas e biométricas de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae) oriundos de cultivo intensivo. *Acta Scientiarum, Biological Sciences*, 26(2), 157-62.

Toldrá, F., & Reig, M. (2011). Innovations for healthier processed meats. *Trends in Food Science & Technology*, 22, 517-522. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.08.007>

Toldrá, F., Aristoy, M. C., Mora, L., & Reig, M. (2012). Innovations in value-addition of edible meat by-products edible meat by-products. *Meat Science*, 92, 290-296. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.04.004>

Tsou, M. J., Lin, W. T., Lu, H. C., Tsui, Y. L., & Chiang, W. D. (2010). The effect of limited hydrolysis with Neutrase and ultrafiltration on the anti-adipogenic activity of soy protein. *Process Biochemistry*, 45(2), 217-222. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2009.09.010>

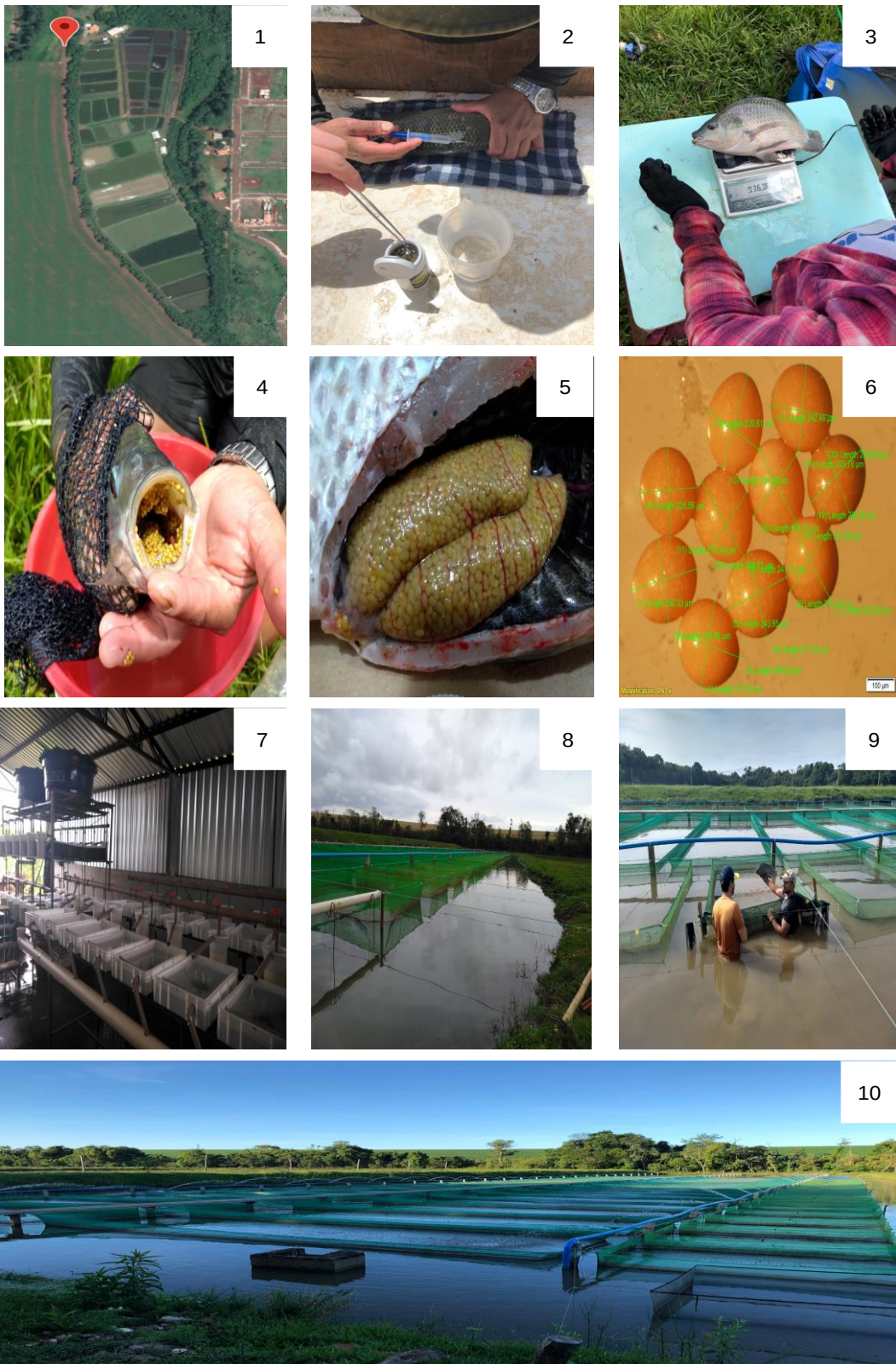
Tu, M., Cheng, S., Lu, W., & Du, M. (2018). Advancement and prospects of bioinformatics analysis for studying bioactive peptides from food-derived protein: Sequence, structure, and functions. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 105, 7-17. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.04.005>

Wayne Hou, J., Collins, D. C., & Schleicher, R. L. (1990). Sources of cholesterol for testosterone biosynthesis in murine Leydig cells. *Endocrinology*, 127(5), 2047-2055. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2019.110643>

Wilson-Leedy, J. G., & Ingermann, R. L. (2007). Development of a novel CASA system based on open source software for characterization of zebrafish sperm motility parameters. *Theriogenology*, 67, 661– 672. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.10.003>

Yogata, H., & Oku, H. (2000). The effects of swimming exercise on growth and wholebody protein and fat contents of fed and unfed fingerling yellowtail. *Fisheries science*, 66(6), 1100-1105. <https://doi.org/10.1046/j.1444-2906.2000.00175.x>

Anexo



1- Aquicultura Venites; 2- Identificação das fêmeas com microchips; 3- Biometria; 4- Coleta de ovos; 5- Ovários; 6- Ovos; 7- Sistema de incubação de ovos; 8- Disposição dos hapas; 9- Manejo dos reprodutores; 10- Visão panorâmica do viveiro destinado a reprodução.