

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 29/05/2024.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Câmpus de Botucatu

Influência da farinha de bagaço de uva e resveratrol na atividade de enzimas antioxidantes da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetida a estresse por calor/oxigênio dissolvido e estresse por classificação de tamanho

MATHEUS GARDIM GUIMARÃES

Zootecnista

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Zootecnia

BOTUCATU – SP

JUNHO - 2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Câmpus de Botucatu

Influência da farinha de bagaço de uva e resveratrol na atividade de enzimas antioxidantes da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetida a estresse por calor/oxigênio dissolvido e estresse por classificação de tamanho

MATHEUS GARDIM GUIMARÃES

Zootecnista

ORIENTADORA: Prof^a. Ass. Dra. Margarida Maria Barros

CO-ORIENTADOR: Dr Pedro Luiz Pucci Figueiredo de Carvalho

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Zootecnia

BOTUCATU – SP

JUNHO - 2020

G963i

Guimarães, Matheus Gardim

Influência da farinha de bagaço de uva e resveratrol na atividade de enzimas antioxidantes da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetida a estresse por calor/oxigênio dissolvido e estresse por classificação de tamanho / Matheus Gardim Guimarães. -- Botucatu, 2020

79 p. : tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu

Orientadora: Margarida Maria Barros

Coorientadora: Pedro Luiz Pucci Figueiredo de Carvalho

1. Bagaço de uva. 2. Aditivos. 3. *Oreochromis niloticus*. 4. Sistema antioxidante. 5. Estresse oxidativo. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

BIOGRAFIA

Matheus Gardim Guimarães, filho de Renato Ferreira Guimarães e Fabiana Gardim Guimarães, nasceu no município de Caieiras, São Paulo, no dia 31 de julho de 1995.

Ingressou no curso de graduação em Zootecnia no Universidade Estadual Paulista “*Júlio de Mesquita Filho*”, câmpus de Botucatu em março de 2013, concluindo-se em 01 de dezembro de 2017.

No ano seguinte, ingressou no Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Curso de Mestrado, na Universidade Estadual Paulista “*Júlio de Mesquita Filho*”, câmpus de Botucatu, concentrando seus estudos na área de Nutrição e Saúde de Peixes, sendo que a pesquisa desenvolvida avaliou a capacidade antioxidante e o desempenho produtivo de tilápia-do-Nilo alimentada com dietas suplementadas com farinha de bagaço de uva e resveratrol.

No dia 28 de fevereiro de 2020 submeteu-se à banca para Exame Geral de Qualificação.

*“Nada é permanente nesse
mundo cruel. Nem mesmo nossos
problemas.”*

Charles Chaplin

Aos

Meus pais, Renato Ferreira Guimarães e Fabiana Gardim Guimarães por tudo que fizeram e fazem por mim, por todos os ensinamentos e conselhos e, principalmente por serem meus melhores amigos, amo vocês mais que uma rua!

À

Minha noiva, Michele Alves de Sousa, meu amor, minha companheira, que sempre está lá para me levantar e deixar meu dia melhor. Te amo demais amore meu!!!

À

Toda minha família, que sempre está junto para o que der e vier, qualquer problema fica mais fácil de ser superado quando estamos juntos.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e Nossa Senhora Aparecida, sempre me dando forças e sabedoria para conseguir conquistar todos os meus objetivos.

Aos meus pais Renato Ferreira Guimarães e Fabiana Gardim Guimarães, que desde sempre fizeram de tudo para que eu conseguisse estudar em uma boa escola e principalmente, seguir em uma área que amo, a Zootecnia, sem eles nada disso seria possível, com certeza eu não estaria onde estou hoje sem a amizade que temos e, principalmente, o amor que nos une. Amo vocês demais! Muito mais que uma rua!!!

À minha noiva, Michele Alves de Sousa, ela que é o meu amor a mais de 10 anos, minha futura esposa e mãe dos meus filhos, praticamente metade da minha vida foi ao seu lado, nós crescemos juntos e vamos envelhecer juntos, se estou aqui hoje, você tem grande parte nessa conquista, com todo apoio e incentivo para correr atrás de nossos sonhos, que com certeza iremos alcançá-los. Te amo demais amore meu!!

À minha orientadora, Profa. Assist. Dra. Margarida Maria Barros, por desde o dia que fui pedir para dar uma palestra no grupo de estudos já me acolheu, me aceitou em seu laboratório como aluno de iniciação científica (CNPq – PIBIC), me deu a oportunidade de estudar e trabalhar no exterior (Auburn University, USA), e logo depois aceitou me orientar no mestrado. Não tenho palavras para agradecer tamanha generosidade e paciência ao longo desses 2 anos, muitíssimo obrigado professora!

Ao meu co-orientador, Dr Pedro Luiz Pucci Figueiredo de Carvalho, que nunca mediu esforços para ajudar, desde a época da minha graduação, durante a idealização e realização do experimento e, também, na escrita científica, acredito que está mais do que apto a ser orientador com seus próprios alunos, meu muitíssimo obrigado!

Ao Prof. Dr. Luiz Edivaldo Pezzato, por todo o ensinamento desde minha graduação até as últimas matérias ministradas durante meu mestrado, e principalmente por ser um exemplo do amor pela profissão e pela pesquisa.

Aos meus amigos e companheiros de laboratório, equipe AquaNutri, (Igor Simões, William Xavier, Pedro Pucci e Edgar Damasceno) e aos estagiários Rafael Colauto que é aluno de iniciação científica e Celso Murilo que acaba de ingressar no curso de mestrado.

Meu muito obrigado a todos vocês por toda ajuda e por todo esse tempo de laboratório que passei ao lado de vocês, sem vocês nada disso seria possível!!

Aos meus dois grandes amigos Igor Simões, meu irmão mais velho de outra mãe, por sempre me ajudar tanto dentro quanto fora da universidade, com certeza nossa amizade será para além da época de universidade, ao meu outro irmão mais velho de outro estado, William Xavier, sempre me auxiliando e sendo companheiro de estudo em algumas matérias, e também nas horas vagas com nossas versões de músicas hilárias. Meu muito obrigado a vocês dois, sem a ajuda de vocês eu não teria chegado até aqui!!

À equipe do LabAves (Cássio, Jessica, Priscila, Fernanda e Tatiane) por todo companheirismo entre os laboratórios, por toda ajuda nas matérias que fazíamos em conjunto, e por ser uma amizade tanto dentro quanto fora da universidade, muito obrigado!!

À Professora Giuseppina Pace Pereira Lima, por todo auxílio na elaboração do trabalho, por ter disponibilizado seu laboratório para a realização das análises e discussões sobre os resultados, muitíssimo obrigado!

À toda equipe do Laboratório Pós Colheita, por todo o auxílio nas análises, em especial ao aluno de doutorado Gean Charles Monteiro, que cedeu seu tempo para me ajudar na realização das mesmas.

À coordenação do Programa de Pós-graduação em Zootecnia – PPGZOO, pela minha formação, especificamente ao Prof. Dr. José Roberto Sartori coordenador da atual gestão.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

Por fim, meu muitíssimo obrigado a todos! Parte desta conquista é de vocês!!

SUMÁRIO

RESUMO.....	1
-------------	---

CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	2
-----------------------------	---

CAPÍTULO I

1. Uva (<i>Vitis spp.</i>).....	4
-----------------------------------	---

2. Bagaço de uva.....	7
-----------------------	---

3. Compostos fenólicos presentes no bagaço de uva.....	11
--	----

4. Uva e co-produtos na alimentação animal.....	15
---	----

5. Sistema antioxidante.....	19
------------------------------	----

6. Estresse em peixes.....	22
----------------------------	----

7. Referências.....	23
---------------------	----

CAPÍTULO II

ABSTRACT.....	36
---------------	----

1. Introduction.....	37
-----------------------------	-----------

2. Material and methods.....	40
-------------------------------------	-----------

<i>2.1. Experimental diets.....</i>	<i>40</i>
-------------------------------------	-----------

<i>2.1.1. Grape pomace flour (GPF) processing.....</i>	<i>40</i>
--	-----------

<i>2.1.2. Phenolic compounds analyses by UPLC in GPF and experimental diets.....</i>	<i>41</i>
--	-----------

<i>2.1.3. DPPH and FRAP in GPF and diets.....</i>	<i>42</i>
---	-----------

<i>2.1.4. Determination of total phenols (TP), total flavonoids (TF) and total anthocyanins (TA) in GPF and diets.....</i>	<i>42</i>
--	-----------

<i>2.2. Feeding trial (Phase I).....</i>	<i>43</i>
--	-----------

2.3. Stress and analysis (Phase II).....	44
2.3.1. Heat/dissolved oxygen-induced stress (HDOIS).....	44
2.3.2. Size-sorting-induced stress (SSIS).....	45
2.4. Hematological assay.....	45
2.5. Antioxidant enzyme activity (Phase I and II).....	46
2.6. Liver lipid peroxidation (Phase I and II).....	47
2.7. Statistical analysis.....	48
3. Results.....	48
3.1. Growth performance.....	48
3.2. Hematological parameters before and after HDOIS and SSIS.....	48
3.3. Liver antioxidant enzymes activity before and after HDOIS and SSIS.....	49
4. Discussion.....	50
5. Acknowledgments.....	56
6. References.....	56

CAPÍTULO III

Implicações.....	79
------------------	----

TABELAS

Table 1. Formulation and chemical composition of the experimental diets and GPF....	63
Table 2. Phenolic content and antioxidant analyses of the GPF and experimental diet.....	64
Table 3. Initial body weight (IBW), final body weight (FBW), weight gain (WG), feed intake (FI), feed conversion ratio (FRC), specific growth rate (SGR), Feed efficiency	

(FE), Protein efficiency ratio (PER), survival (SUR) of Nile tilapia fed diets containing levels of GPF for 75 days.....	65
--	----

Table 4. Hematological parameters of Nile tilapia fed diets containing levels of GPF for 30 days and subjected to heat/dissolved oxygen-induced stress.....	66
---	----

Table 5. Hematological parameters of Nile tilapia fed diets containing levels of GPF for 30 days and subjected to Size-sorting-induced stress.....	67
--	----

Table 6. Liver antioxidant enzymes activity of Nile tilapia fed diets containing levels of GPF for 30 days and subjected to heat/dissolved oxygen-induced stress.....	68
---	----

Table 7. Liver antioxidant enzymes activity of Nile tilapia fed diets containing levels of GPF for 30 days and subjected to Size-sorting-induced stress.....	69
--	----

FIGURAS

Figure 1. Anthocyanins content in diet supplemented with 0.0 GPF for Nile tilapia.....	70
--	----

Figure 2. Anthocyanins content in diet supplemented with 0.2 GPF for Nile tilapia.....	71
--	----

Figure 3. Anthocyanins content in diet supplemented with 0.4 GPF for Nile tilapia.....	72
--	----

Figure 4. Anthocyanins content in diet supplemented with 0.6 GPF for Nile tilapia.....	73
--	----

Figure 5. Anthocyanins content in diet supplemented with 0.8 GPF for Nile tilapia.....	74
--	----

Figure 6. Anthocyanins content in diet supplemented with 1.0 GPF for Nile tilapia.....	75
--	----

Figure 7. Anthocyanins content in diet supplemented with 1.5 GPF for Nile tilapia.....	76
--	----

Figure 8. Stilbene content in diet supplemented with RES for Nile
tilapia.....77

Resumo

Influência da farinha de bagaço de uva e resveratrol na atividade de enzimas antioxidantes da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetida a estresse por calor/oxigênio dissolvido e estresse por classificação de tamanho

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos da inclusão dietética da farinha de bagaço de uva sobre o desempenho produtivo, perfil hematológico e atividade das enzimas antioxidantes da tilápia-do-Nilo submetidas a desafio por estresse térmico e hipóxia, e desafio por classificação de tamanho. Um grupo de 600 tilápias invertidas sexualmente ($47.56 \text{ g} \pm 0.96$) foi distribuído aleatoriamente em 40 aquários de 250 L (15 peixes/aquário) e alimentados com sete dietas práticas contendo níveis de farinha de bagaço de uva 0,0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,5% e uma dieta contendo 0,02% de resveratrol, por 75 dias. As dietas foram formuladas para conter 29% de proteína digestível e 18 MJ de energia digestível kg^{-1} . Após 30 dias de alimentação foram avaliados parâmetros hematológicos e atividade das enzimas do sistema antioxidante. Dois diferentes grupos de peixes foram submetidos a dois tipos de estresse, um grupo foi submetido ao desafio térmico e hipóxia ($34^\circ\text{C}/0,87 \text{ mg/L}^{-1}$ de oxigênio dissolvido) por dois dias e, outro grupo a desafio por classificação de tamanho. Os mesmos parâmetros hematológicos e atividade das enzimas do sistema antioxidante foram determinados após os desafios. No presente estudo, o perfil hematológico da tilápia-do-Nilo se manteve dentro da faixa de normalidade preconizada para a espécie quando submetidos ao desafio térmico e hipóxia, enquanto no desafio por classificação os peixes apresentaram maiores porcentagens de hematócrito, hemoglobina e menores níveis de concentração de hemoglobina corpuscular média, demonstrando que tal estresse é mais prejudicial aos peixes. A farinha de bagaço de uva e o resveratrol foram capazes de eliminar substâncias geradas pelo estresse oxidativo, não necessitando da ação da enzima catalase frente a ambos os desafios, porém não houve efeito significativo no desempenho produtivo. Os resultados do presente estudo sugerem o nível de suplementação de 1,5% de farinha de bagaço de uva, devido a seu potencial antioxidante determinar resultados numericamente análogos ao resveratrol.

Palavras-chave: bagaço de uva, aditivos, *Oreochromis niloticus*, sistema antioxidante, estresse oxidativo.

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O **Capítulo I** aborda o uso de alimentos funcionais em dietas para peixes, os quais, nos últimos anos, após a restrição de antibióticos têm sido comumente estudados buscando minimizar os efeitos deletérios impostos nos sistemas de produção intensiva. Dentre as consequências fisiológicas descritas em função do sistema intensivo de produção, o estresse oxidativo tem demonstrado prejudicar o desempenho produtivo, deprimir o sistema imunológico e interferir no bem-estar dos animais. Desta maneira, os alimentos funcionais, na forma de aditivos, vêm sendo utilizados na tentativa de minimizar os efeitos causados por danos oxidativos e por uso de fármacos. Mecanismos de ação benéficos têm sido propostos para estes aditivos, os quais podem favorecer a absorção e digestão dos nutrientes, modular o sistema imunológico e apresentar ação antioxidante. Dentre os aditivos alternativos apresenta-se o resíduo de suco integral de uva, produto obtido a partir do processamento do suco integral de uva.

Com base nas informações apresentadas no Capítulo I, o estudo apresentado no **Capítulo II** avaliou os efeitos da inclusão do resíduo de suco integral de uva ou resveratrol na dieta da tilápia-do-Nilo, por meio de parâmetros de crescimento, hematológicos e atividade enzimática do sistema antioxidante dos peixes submetidos ao estresse térmico e por classificação. O artigo intitulado: “The influence of grape pomace flour and resveratrol on antioxidant enzymes activity of Nile tilapia subjected to heat/dissolved oxygen-induced stress and size sorting-induced stress” foi redigido de acordo com as normas do periódico Aquaculture (fator de impacto 3.022).

- Arslan, G., Sönmez, A. Y., & Yan, K. T., 2018. Effects of grape *Vitis vinifera* seed oil supplementation on growth, survival, fatty acid profiles, antioxidant contents and blood parameters in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Research*, 49(6), 2256-2266. <https://doi.org/10.1111/are.13686>
- Baba, E., Acar, Ü., Öntaş, C., Kesbiç, O. S., & Yılmaz, S., 2016. Evaluation of Citrus limon peels essential oil on growth performance, immune response of Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* challenged with *Edwardsiella tarda*. *Aquaculture*, 465, 13-18. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.08.023>
- Baldissera, M. D.; Souza, C. F.; Descovi, S. N.; Verdi, C. M.; Zeppenfeld, C. C.; Silva, L. L.; et al., 2019. Effects of dietary grape pomace flour on the purinergic signaling and inflammatory response of grass carp experimentally infected with *Pseudomonas aeruginosa*. *Aquaculture*, 503, 217–224. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.01.015>
- Baldissera, M. D.; Souza, C. F.; Descovi, S. N.; Verdi, C. M.; Zeppenfeld, C. C.; Silva, A. S.; et al., 2019. Grape pomace flour ameliorates *Pseudomonas aeruginosa*-induced bioenergetic dysfunction in gills of grass carp. *Aquaculture*, 506, 359–366. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.03.065>
- Barreto, R. E.; Carvalho, G. G. A.; Volpato, G. L., 2011. The aggressive behavior of Nile tilapia introduced into novel environments with variation in enrichment. *Zoology* 114: 53–57. <http://dx.doi.org/10.1016/j.zool.2010.09.001>
- Barros, M.M., Falcon, D.R., Orsi, R.O., Pezzato, L.E., Fernandes Jr., Guimarães, I.G., Fernandes Jr., A.; Padovani, C.R., Sartori, M.M.P., 2014. Non-specific immune parameters and physiological response of Nile tilapia fed β -glucan and vitamin C for different periods and submitted to stress and bacterial challenge. *Fish Shellfish Immunology*. 39, 188-195. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2014.05.004>
- Barros, M.M., Ranzani-Paiva, M.J.T., Pezzato, L.E., Falcon, D.R., Guimarães, I.G., 2009. Haematological response and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fed diets containing folic acid. *Aquaculture Research*. 40, 895-903. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02175.x>
- Barton, B.A., 2002. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology*. 42, 517-525. <https://doi.org/10.1093/icb/42.3.517>
- Beauchamp, C., Fridovich, I., 1971 Superoxide dismutase: improved assay and applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.* 44, 276-287
- Brahim, M., Gambier, F., & Brosse, N., 2014. Optimization of polyphenols extraction from grape residues in water medium. *Industrial Crops and Products*, 52, 18-22. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.10.030>
- Benzie, I. F., Strain, J. J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*. 239, 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. L. W. T., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science Technology*. 28, 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Bradford, M. M., 1976. A rapid method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein binding. *Analytical Biochemistry*. 72, 248–254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>
- Buege, J.A., Aust, S.D., 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*. 52, 302–310. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(78\)52032-6](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(78)52032-6)
- Caturla, N.; Vera-Samper, E.; Villalain, J.; Mateo, C. R.; Micol, V., 2003. The relationship between the antioxidant and the antibacterial properties of galloylated catechins and the structure of phospholipid model membranes. *Free Radical Biology & Medicine*, 34, 648–662. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)01366-7](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)01366-7)
- Chamorro S., Viveros A., Rebole A., Arija I., Romero C., Alvarez I., Rey A., Brenes A., 2017. Addition of exogenous enzymes to diets containing grape pomace: effects on intestinal utilization of catechins and antioxidant status of chickens. *Food Research International*, 96, 226–34. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.02.010>
- Chen, L., Yang, X., Jiao, H., Zhao, B., 2003. Tea catechins protect against lead-induced ROS formation, mitochondrial dysfunction, and calcium dysregulation in PC12 cells. *Chemical Research in Toxicology*. 16, 1155–1161. <https://doi.org/10.1021/tx0340605>
- Collier, H. B., 1944. The standardization of blood haemoglobin determination. *Canadian Medical Association Journal* 50, 550–552.
- Conte, F. S., 2004. Stress and welfare of culture fish. *Applied Animal Behavior Science*, Oxford, v. 86, p.205. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2004.02.003>
- Damasceno F. M.; Fleuri, L. F.; Sartori, M. M. P.; Amorim, R. L.; Pezzato, L. E.; Silva, R. L.; Carvalho, P. L. P. F.; Barros, M. M., 2016. Effect of dietary inorganic copper on growth performance and hematological profile of Nile tilapia subjected to heat-induced stress. *Aquaculture*. 454, 257–264. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.12.029>
- Falcon, D. R.; Barros, M. M.; Pezzato, L. E., 2007. Physiological responses of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* fed Fe vitamin C and lipid supplemented diets and submitted to low-temperature stress. *Journal of the World Aquaculture Society*, v.38, p.287–295. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-7345.2007.00098.x>
- Fernandes, A. C.; de Carvalho, P.L.P.F.; Pezzato, L. E.; Koch, J. F. A. J. F. A.; Teixeira, C. P.; Cintra, F. T. T.; Damasceno, F. M. F. M.; Amorin, R. L.; Padovani, C. R.; Barros, M. M., 2016. The effect of digestible protein to digestible energy ratio and choline supplementation on growth, hematological parameters, liver steatosis and

- size-sorting stress response in Nile tilapia underfield condition. *Aquaculture* 456, 83–93. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.02.001>
- Flohè, L.; Günzler, W.A., 1984. *Methods in Enzymology*. 105, 114. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05015-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05015-1)
- Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias. Toledo: GFM, p. 100
- Garrido, J.; Borges, F., 2013. Wine and grape polyphenols—A chemical perspective. *Food Research International*. 54, 1844–1858. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.08.002>
- Giusti, M. M. and Wrolstad, R. E., 2001. “Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy,” *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, vol. 1, pp. F1.2.1–F1.2.13. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00>
- Goldenfarb, P. B.; Bowyer, F. P.; Hall, E., Brosious, E., 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: The microhematocrit determination. *American Journal of Clinical Pathology*. 56, 35–39. <https://doi.org/10.1093/ajcp/56.1.35>
- Hrubec, T. C. & Smith, S. A., 2010. Hematology of fishes. In D. J. Weiss, K. J. Wardrop (Eds.), *Schalm’s veterinary Hematology*, 6th ed. (pp. 994-1003). Hoboken, NJ: Blackwell Publishing.
- Jain, N. C., 1986. *Schalm’s Veterinary Hematology*, 4th ed. Philadelphia, PA: Lea e Febiger.
- Jia R.; Du J.; Cao L.; Johnson O.; Gu Z.; Jeney G.; Xu P.; Yin G., 2019. Antioxidative, inflammatory and immune responses in hydrogen peroxide-induced liver injury of tilapia (GIFT, *Oreochromis niloticus*), *Fish Shellfish Immunology*, 84, 894–905. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.10.084>
- Jia, R.; Li, Y.; Cao, L.; Du, J.; Zheng, T.; Qian, H.; Gu, Z., Jeney, G., Xu, P., Yin, G., 2019. Antioxidative, anti-inflammatory and hepatoprotective effects of resveratrol on oxidative stress-induced liver damage in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 215, 56-66. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2018.10.002>
- Krikorian, R., Boespflug, E. L., Fleck, D. E., Stein, A. L., Wightman, J. D., Shidler, M.D., et al., 2012. Concord grape juice supplementation and neurocognitive function in human aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 5736-5742. <https://doi.org/10.1021/jf300277g>
- Lichovnikova, M.; Kalhotka L.; Vojtech A.; Borivoj K.; Vojtech An., 2015. The effects of red grape pomace inclusion in grower diet on amino acid digestibility, intestinal microflora, and sera and liver antioxidant activity in broilers. *Turkish Journal Veterinary Animal Sciences*, 39: 406-412, doi:10.3906/vet1403-64

- Lizárraga-Velázquez, C. E.; Hernández, C.; González-Aguilar, G. A.; Heredia, J. B., 2019. Effect of dietary intake of phenolic compounds from mango peel extract on growth, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in zebrafish (*Danio rerio*). *Latin content journal of aquatic research*, 47(4), 602-611. <http://dx.doi.org/10.3856/vol47-issue4-fulltext-3>
- Llobera, A.; Cañellas, J., 2007. Dietary Fibre Content and Antioxidant Activity of Manto Negro Red Grape (*Vitis vinifera*): Pomace and Stem. *Food Chemistry*. 101, 659–666. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.025>
- Mudnic, I., Modun, D., Rastija, V., Vukovic, J., Brizic, I., Katalinic, V., et al., 2010. Antioxidative and vasodilatory effects of phenolic acids in wine. *Food Chemistry*, 119, 1205–1210. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.08.038>
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. Nutrient Requirements of Fishes and Shrimp Washington: DC. National Academies Press, p. 376. 2011
- Natividade, M. M. P.; Corrêa, L. C.; Souza, S. V. C. de; Pereira, G. E.; & Lima, L. C. de O., 2013. Simultaneous analysis of 25 phenolic compounds in grape juice for HPLC: Method validation and characterization of São Francisco Valley samples. *Microchemical Journal*, 110, 665–674. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2013.08.010>
- OIV (International Organisation of Vine and Wine)., 2019. OIV Statistical Report on World Vitiviniculture. París.
- Peña, E., Badillo-Zapata, D.; Viana, M. T.; Correa-Reyes, G., 2019. Use of grape pomace in formulated feed for the rainbow trout fry, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). *Journal World Aquaculture Society*; 1–9. <https://doi.org/10.1111/jwas.12669>
- Popova, M., Bankova, V., Butovska, D., Petkov, V., Nikolova-Damyanova, B., Sabatini, A.G., Marcazzan, G.L., Bogdanov, S., 2004. Validated methods for quantification of biologically active constituents of “poplar type” propolis. *Phytochemical Analysis* 15, 235–240. <https://doi.org/10.1002/pca.777>
- Ranzani-Paiva, M.J.T.; Lombardi, J.V.; Corleto, F., 2014. Hematologia e histopatologia de tilápia-do-Nilo exposta a concentrações sub-letais de selenito de sódio ($\text{Na}_2\text{SeO}_3 \text{ Se}^{4+}$). *Boletim Instituto Pesca*, 40, 23–33
- Rossetto, M. R. M., Vianello, F., Rocha, S. D., Lima, G. P. P., 2009. Antioxidant substances and pesticide in parts of beet organic and conventional manure. *African Journal Plant Science*. 3, 245–253. Corpus ID: 85674032
- Salomão, R. A. S.; De Paula, T. G.; Zanella, B. T. T.; Carvalho, P. L. P. F.; da Silva Duran, B. O.; Valente, J. S.; ... & Carvalho, R. F., 2019. The combination of resveratrol and exercise enhances muscle growth characteristics in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 235, 46–55. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2019.05.002>
- Sautter, C. K., Denardin, S., Alves, A. O., Mallmann, C. A., Penna, N. G., & Hecktheuer, L. H., 2005. Determinação de resveratrol em sucos de uva no Brazil. *Ciência e*

- Tecnologia de Alimentos, 25, 437-442. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612005000300008>
- Singleton, V. L.; Rossi, J. A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal Enology Viticulture*. 16, 144–158
- Sinha, A.K., 1972. Colorimetric assay of catalase. *Analytical Biochemistry*. 47, 389–394. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(72\)90132-7](https://doi.org/10.1016/0003-2697(72)90132-7)
- Souza C.F.; Baldissera M.D.; Descovi S.N.; Zeppenfeld C.C.; Verdi C.M.; Santos R.C.V.; et al. Grape pomace flour alleviates *Pseudomonas aeruginosa*-induced hepatic oxidative stress in grass carp by improving antioxidant defense. *Microbial Pathogenesis*. 2019; 129:271-276. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.02.024>
- Teixeira, C.P.; Barros, M.M.; Pezzato, L.E.; Fernandes Júnior, A.C.; Koch, J.F.; Padovani, C. R., 2012. Growth performance of Nile tilapia, *Oreochromis Niloticus*, fed diets containing levels of pyridoxine and haematological response under heat stress. *Aquaculture Research*. 43, 1081-1088. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.02911.x>
- Vicente, I. S.; Fleuri, L. F.; Carvalho, P. L.; Guimarães, M. G.; Naliato, R. F.; Müller, H. D. C.; Sartori, M. M. P.; Pezzato, L. E.; Barros, M. M., 2019. Orange peel fragment improves antioxidant capacity and haematological profile of Nile tilapia subjected to heat/dissolved oxygen-induced stress. *Aquaculture Research*, v. 50, 80–92. <https://doi.org/10.1111/are.13870>
- Wilson, W. N.; Baumgarner, B. L.; Watanabe, W. O.; ALAM, M. S.; Kinsey, S. T., 2015. Effects of resveratrol on growth and skeletal muscle physiology of juvenile southern flounder. *Comparative Biochemistry Physiology - Part A Molecular Integrative Physiology*, 183, 27-35. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2014.12.014>
- Wintrobe, M.M., 1934. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. *Folia Haematologica* 51, 32-49
- Yilmaz E., 2019. Effects of dietary anthocyanin on innate immune parameters, gene expression responses, and ammonia resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish and Shellfish Immunology*, 93, 694–701. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.08.033>
- Yu, J., & Ahmedna, M., 2013. Functional components of grape pomace: their composition, biological properties and potential applications. *International Journal Food Science Technology*., 48(2), 221–237. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03197.x>
- Xia, E.-Q., Deng, G. F., Guo, Y.-J., & Li, H.-B., 2010. Biological activities of polyphenols from grapes. *International Journal of Molecular Sciences*, 11, 622–646. <https://doi.org/10.3390/ijms11020622>
- Zhai S. W., Lu J. J., Chen X. H., 2014. Effects of dietary grape seed proanthocyanidins on growth performance, some serum biochemical parameters and body composition

of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. Italian Journal Animal Science., 13, 536–540. <https://doi.org/10.4081/ijas.2014.3357>

Zhang, D. D.; Yan, Y. A.; Tian, H. Y.; Jiang, G. Z.; Li, X. F.; and Liu, W. B., 2018. Resveratrol supplementation improves lipid and glucose metabolism in high-fat diet-fed blunt snout bream. Fish Physiology Biochemistry. 44, 163–173. <https://doi.org/10.1007/s10695-017-0421-9>