

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP)
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
CAMPUS DE DRACENA**

Nathália Gabrielle Aranibar Passos
Graduanda em Zootecnia

**AVALIAÇÃO DOS INDICADORES DO SISTEMA
ANTIOXIDANTE EM TILÁPIAS-DO-NILO (OREOCHROMIS
NILOTICUS) ALIMENTADAS COM B-GLUCANO E
SUBMETIDAS AO ESTRESSE DE MANEJO**

Dracena

2024

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP)
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
CAMPUS DE DRACENA**

Nathália Gabrielle Aranibar Passos
Graduanda em Zootecnia

**AVALIAÇÃO DOS INDICADORES DO SISTEMA
ANTIOXIDANTE EM TILÁPIAS-DO-NILO (OREOCHROMIS
NILOTICUS) ALIMENTADAS COM B-GLUCANO E
SUBMETIDAS AO ESTRESSE DE MANEJO**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas – Unesp, Câmpus de Dracena como parte das exigências para obtenção do título de Zootecnista.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Jaqueline Dalbello Biller
Co-orientadora: Prof.^a Me. Flaviane Wanessa Lopes Fernandes

Dracena
2024

Certificado de Aprovação



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Dracena



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
UNESP – CÂMPUS DE DRACENA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: AVALIAÇÃO DOS INDICADORES DO SISTEMA ANTIOXIDANTE EM TILÁPIAS-DO-NILO (*OREOCHROMIS NILOTICUS*) ALIMENTADAS COM B-GLUCANO E SUBMETIDAS AO ESTRESSE DE MANEJO

Modalidade: Trabalho de pesquisa

Autor: Nathália Gabrielle Aranibar Passos

Orientador (a): Prof.^a Dr.^a Jaqueline Dalbello Biller

Co-orientador(es): Prof.^a Me. Flaviane Wanessa Lopes Fernandes

Número de Créditos: 15

Data da aprovação e correção de acordo com as sugestões da Banca: 21, 11, 24

Jaqueline Dalbello Biller

Jéssica Antonini Troiano

gov.br

Documento assinado digitalmente

BASIA SCHLICHTING MOROMIZATO

Data: 21/11/2024 09:20:48-0300

Verifique em <https://validar.br.gov.br>

Basia Schlichting Moromizato

DEDICATÓRIA

À minha mãe Gladis Aranibar que lutou para que eu e meus irmãos pudéssemos nos dedicar aos estudos, realizando nossos sonhos e me ensinou sobre minhas raízes. Ao meu pai Antonio Passos que sempre acreditou em mim, sempre me apoiou e acolheu meus sentimentos.

AGRADECIMENTOS

À Deus e todos meus guias por sempre estarem muito presente na minha vida, por sempre me dar força e coragem para que eu pudesse continuar sem medo.

Minha mãe Gladis por ser um exemplo de força e determinação, por sempre lutar para que eu e meus irmãos possamos ter oportunidades e sempre me ensinar a ser uma pessoa correta. Obrigada por cuidar de mim, principalmente, na minha época de cursinho, levando minha comida na cama quando eu chegava cansada. Sua força é uma inspiração pra mim e para todos seus filhos.

Meu pai Antônio por ser a pessoa mais carinhosa que eu conheço, por sempre cuidar de mim, sempre me incentivar a ser uma pessoa melhor, por acolher meus sentimentos e me fortalecer dia após dia. Obrigada por sempre acreditar em mim, independente de qualquer coisa.

Meu padraсто Felipe por toda paciência que tinha para ficar estudando comigo ainda na época de escola, por cuidar de mim e por vibrar pelas minhas conquistas.

Meus irmãos e minha irmã por serem minha base. Mesmo o Victor, a Alice e o Leonardo sendo mais novos, eles não sabem o quanto são importantes para eu ter coragem de continuar, para que um dia eu consiga ser um exemplo para eles. Em especial, meu irmão mais velho, Gustavo, por ser esse exemplo para mim, por todo suporte e amor que me deu desde quando nasci, por todos os ensinamentos, todos nossos momentos vividos e por ser meu melhor amigo.

Minha vó Nena, por sempre cuidar de mim, me apoiando e sempre se importar comigo e com meus irmãos. Obrigada por ter um coração tão lindo.

Meus irmãos de alma e vida, Lais e Murilo, por todos os anos de amizade, por todo amor, por todas as brincadeiras, conversas sérias e companheirismo. Eles sempre fizeram parte da minha história, sempre acompanhando, para me ajudar nessa trajetória e sem eles, mesmo a quilômetros de distância, isso tudo seria muito mais difícil. Obrigada por vocês serem vocês.

A República Apartadas, por ser a família que eu escolhi conviver todos esses anos da faculdade, por sempre me acolher, sempre me ajudar quando eu mais precisa, sempre ter esse sentimento inexplicável para muita gente, mas para nós é algo comum e isso é lindo. Obrigada pelas companhias, pelas histórias e momentos, sempre levarei no meu coração cada uma de vocês, minha família.

Agradeço a Roberta por todo apoio, todas risadas e todas nossas trocas, conversas, sempre de extrema importância para essa minha jornada. Obrigada por independente de qualquer coisa estar ao meu lado.

Agradeço as minhas irmãs de república, as Gabrielas, que foram fundamentais para minha permanência e deixaram as coisas muito mais leves no dia a dia da faculdade.

Agradeço o meu namorado Pedro por sempre estar comigo, me ajudar, ter toda paciência e que permitiu que essa reta final fosse mais leve, por estar ao meu lado quando eu mais precisava.

Agradeço ao Laboratório de Imunologia Animal – LIA e a minha orientadora Jaqueline Biller por todos os ensinamentos, pela oportunidade desde o meu primeiro ano de faculdade e pelo desenvolvimento deste projeto.

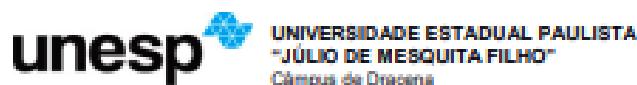
Agradeço ao Grupo PET que me ajudou muito no meu desenvolvimento profissional e pessoal. Agradeço a tutora Carolina Bonini por confiar no nosso grupo, nos ensinando e sempre auxiliar a fazer projetos de extrema importância para unidade, para os alunos e sociedade.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) - Processo n. 2012/22016-3.

Agradeço a todos que de alguma maneira contribuíram para que eu pudesse estar realizando esse trabalho.

“Todos os sonhos estão dentro de alcance. Tudo que você tem de fazer é continuar se movendo em direção deles.” “O final feliz vem depois que você fez o seu trabalho.” - Viola Davis.

Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais



Comissão de Ética no Uso de Animais

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada "Efeito do B-glucano administrado antes e após estresse de manejo, sobre a imunidade de tilápias, *Oreochromis niloticus*" (Effect of B-glucan administered before and after management stress, on the immunity of tilapia, *Oreochromis niloticus*), registrada com o nº 07/2020.R2 – CEUA, sob a responsabilidade do(a) Prof(a). Dr(a). **Jaqueline Dalbello Biller** – que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de **pesquisa científica** – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas da UNESP - Câmpus de Dracena, em **25/11/2020**.

Dracena, 25 de novembro de 2020.

Prof. Dr. Danilo Domingues Millen
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais

RESUMO

Com a expansão da produção de tilápias no Brasil e no mundo, tem-se a necessidade de estudos sobre todo o funcionamento do sistema para que seja cada vez mais produtivo. Para isso, pesquisas sobre o sistema imunológico dos peixes é de grande importância, uma vez que visa tratar possíveis doenças, diminuir a mortalidade e, conseqüentemente, melhorar a qualidade e produção. Este trabalho, teve como objetivo investigar o potencial do β -glucano, já que é considerado como imunomodulador, auxiliando no mecanismo de defesa, sobre os indicadores do sistema antioxidante, incluindo a atividade hepática das enzimas da catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) e superóxido dismutase (SOD) em amostras de fígado em tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidas ao estresse de manejo. Um total de 408 tilápias foram divididas em 8 tratamentos (1: Controle 15 dias; 2: Controle 15 dias desafiado; 3: β -glucano 15 dias; 4: β -glucano 15 dias desafiado; 5: Controle 30 dias; 6: Controle 30 dias desafiado; 7: β -glucano 30 dias; 8: β -glucano 30 dias desafiado). Aos 14 dias, os tratamentos 2 e 4 foram desafiados através de estresse e infecção de *S. agalactiae*. Aos 15 dias, foi coletado o fígado para análises. Aos 29 dias de experimento, os animais dos tratamentos 6 e 8 foram desafiados igualmente os anteriores e, então, aos 30 dias de experimento, realizou-se a coleta do fígado dos peixes dos tratamentos 5, 6, 7 e 8. Os resultados mostraram respostas variáveis nos parâmetros enzimáticos, dependendo do período de alimentação e da exposição a desafios. O β -glucano também se mostrou variável, pois em relação ao GPx, não mostrou a proteção esperada contra o aumento dos radicais livres, porém na SOD o β -glucano realizou o seu papel como imunoestimulante, auxiliando na resposta imune. Já na CAT, conclui-se que a diferença entre os tratamentos está mais relacionada à adaptação dos animais ao ambiente.

Palavras-chave: Tilápia. Sistema Antioxidante. Estresse oxidativo. Enzimas. β -glucano.

ABSTRACT

With the expansion of tilapia production in Brazil and around the world, there is a need to study the entire functioning of the system so that it is increasingly productive. To this end, research into the immune system of fish is of great importance, as it aims to treat possible diseases, reduce mortality and, consequently, improve quality and production. The aim of this study was to investigate the potential of β -glucan, since it is considered an immunomodulator, helping in the defense mechanism, on indicators of the antioxidant system, including the hepatic activity of the enzymes catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) and superoxide dismutase (SOD) in liver samples of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) subjected to handling stress. A total of 408 tilapia were divided into 8 treatments (1: Control 15 days; 2: Control 15 days challenged; 3: β -glucan 15 days; 4: β -glucan 15 days challenged; 5: Control 30 days; 6: Control 30 days challenged; 7: β -glucan 30 days; 8: β -glucan 30 days challenged). At 14 days, treatments 2 and 4 were challenged with stress and *S. agalactiae* infection. At 15 days, the liver was collected for analysis. At 29 days, the animals in treatments 6 and 8 were challenged in the same way as the previous treatments and then, at 30 days, the livers of the fish in treatments 5, 6, 7 and 8 were collected. The results showed variable responses in the enzymatic parameters, depending on the feeding period and exposure to challenges. The β -glucan also proved to be variable, since in relation to GPx, it didn't show the expected protection against the increase in free radicals, but in SOD the β -glucan played its role as an immunostimulant, helping with the immune response. As for CAT, it can be concluded that the difference between the treatments is more related to the animals' adaptation to the environment.

Keywords: Tilapia. Antioxidant system. Oxidative stress. Enzymes. β -glucan.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Exemplar de tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	18
Figura 2 - Diluições do meio de cultura de bactérias para a contagem de células.....	27
Figura 3 - Atividade da catalase (CAT) em fígado de tilápias com β -glucano associado ao estresse de manejo	30
Figura 4 - Atividade da glutathiona peroxidase (GPx) em fígado de tilápias alimentadas com β -glucano associado ao estresse de manejo	31
Figura 5 - Atividade da superóxido oxidase (SOD) em fígado de tilápias alimentadas com β -glucano associado ao estresse de manejo	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Formulação da ração da dieta controle e com β -glucano	24
---	----

LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
β 15	Dieta beta-glucano por 15 dias
β 30	Dieta beta-glucano por 30 dias
β D15	Dieta beta-glucano com desafio por estresse de manejo aos 15 dias
β D30	Dieta beta-glucano com desafio por estresse de manejo aos 30 dias
C	Dieta controle
C15	Dieta controle por 15 dias
C30	Dieta controle por 30 dias
CD15	Dieta controle com desafio por estresse de manejo aos 15 dias
CD30	Dieta controle com desafio por estresse de manejo aos 30 dias
CAT	Catalase
D	Desafio por estresse de manejo
DIC	Delineamento inteiramente casualizado
ERN	Espécies reativas de nitrogênio
ERO	Espécies reativas de oxigênio
GPx	Glutathione peroxidase
H ₂ O	Água
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
L	Litros
LIA	Laboratório de imunologia animal
mL	Mililitros
nm	Nanômetros
O ₂	Oxigênio
O ₂ ⁻	Superóxido
PAMPs	Padrões moleculares associados a patógenos
PRRs	Padrões de moléculas reconhecidas por receptores de reconhecimento de
padrões	
RL	Radicais livres
SOD	Superóxido dismutase
UFC	Unidade formadora de colônia

LISTA DE SÍMBOLOS

β	Beta
μl	Microlitro
®	Registro de marca
°C	Graus celsius
±	Mais ou menos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 OBJETIVOS.....	16
2.1. Objetivo Geral.....	16
2.2. Objetivo Específico.....	16
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	17
3.1 Espécie Estudada: Tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	17
3.2 Sistema Imune.....	18
3.3 β -glucano.....	19
3.4 Radicais Livres.....	20
3.5 Sistema Antioxidante em Peixes.....	21
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	22
4.1 Instalação.....	22
4.2 Animais.....	23
4.3 Dieta.....	23
4.4 Delineamento Experimental.....	24
4.5 Desafio de estresse e infecção experimental <i>S. agalactiae</i> inativada (bacterina).....	25
4.6 Descrição das Análises.....	28
4.7 Análise Estatística.....	29
5 RESULTADO E DISCUSSÃO.....	30
5.1. Resultado - defesa antioxidante enzimática.....	30
5.2. Discussão - defesa antioxidante enzimática.....	32
6. CONCLUSÃO.....	37
7. REFERÊNCIAS.....	38

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, entre os anos de 2013 e 2020, houve um aumento de produção de tilápia de 103%, tornando-se a principal espécie de peixe cultivada no país, e isso deve-se ao melhoramento genético, produção de ração e aditivos, equipamentos, produção e processamento (ROCHA, H. S. *et al.*, 2024). Hoje, o Brasil é o quarto maior produtor mundial de tilápia, o qual atingiu, em 2023, 579.020 toneladas apenas dessa espécie e 887.029 toneladas de peixes de cultivo no geral, com uma receita de cerca de R\$9 bilhões, gerando, aproximadamente, 3 milhões de empregos diretos e indiretos (PEIXE BR, 2024), mostrando seu contínuo crescimento e importância na questão socioeconômica do país.

Atualmente, o consumo do brasileiro de tilápia é de 2,84 quilos por ano, tendo o estado do Paraná liderando a produção com 209,5 mil toneladas, seguido de São Paulo, com 75,7 mil toneladas, Minas Gerais com 58,2 mil toneladas, Santa Catarina com 44,6 mil toneladas e Mato Grosso do Sul e Pernambuco com 32 mil toneladas (PEIXE BR, 2024).

A tilapicultura é responsável por 62% da produção piscícola brasileira (ROCHA, H. S. *et al.*, 2024), conseqüentemente, a expansão da aquicultura no Brasil coloca-se num lugar de importante estudo para compreensão de todos os processos que envolvem essa área, desde a criação até seu produto final, baseando-se nos processos fisiológicos do animal, como o sistema imune, a fim de elevar a produção deste.

O sistema imunológico é um conjunto de mecanismos de defesa que tem como objetivo preservar a homeostase e proteger os animais contra agentes patogênicos prejudiciais. Nos peixes, esse sistema pode ser afetado quando são submetidos a intensificação da produção, causando estresse, seja pela alta densidade de animais, manejos excessivos, variações de temperatura, entre outros fatores que possam contribuir para desafio imunológico, prejudicando a piscicultura; ou seja, é crucial cuidar da saúde do animal, com objetivo de assegurar seu funcionamento fisiológico e, conseqüentemente, a produção (CAMPOS, C. M. *et al.*, 2023). A fim de melhorar a resistência do animal, a utilização de imunoestimulantes na piscicultura tem grande importância nos manejos, podendo ser substâncias sintéticas, químicas ou biológicas, as quais induzem ou aumentam qualquer componente do sistema imune, atuando nos mecanismos de defesa, contra doenças, como vírus, fungos, bactérias e parasitas, podendo servir como tratamento preventivo (PAULA, F. G. *et al.*, 2020).

O sistema imune e o antioxidante estão intimamente interligados, uma vez que a atividade antioxidante aumenta a resposta imune, inibindo a ação de radicais livres e

aumentando a resistência às doenças (CAMPOS, C. M. *et al.*, 2023). Sendo esse último sistema composto por antioxidantes, os quais são responsáveis por neutralizar o estresse oxidativo causado por um desequilíbrio de espécies reativas de oxigênio (ERO), podendo ser enzimáticos ou não enzimáticos (MARTÍNEZ, W. Z. *et al.*, 2021), para eliminação dessas substâncias; Os enzimáticos são o superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase e glutathione reductase e os não enzimáticos é a glutathione na forma reduzida ou oxidada (QUEIROZ, J. P. M. *et al.*, 2022).

Dessa forma, nesse trabalho, avaliamos os antioxidantes enzimáticos em amostras de fígados em tilápias-do-Nilo submetidas ao estresse de manejo.

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Explicitar se o imunestimulante β -glucano provoca efeito sob o sistema antioxidante quando os animais são submetidos ao estresse de manejo.

2.2. Objetivo Específico

Este estudo teve como objetivo investigar o potencial do β -glucano sobre os indicadores do sistema antioxidante, incluindo a atividade hepática das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx), em amostras de fígado em tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidas ao estresse de manejo.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Espécie Estudada: Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)

A tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma espécie de peixe onívora, bastante versátil. É natural do continente africano, Israel e Jordânia, encontrada nas bacias dos rios Nilo, Níger, Tchade e lagos do Centro-Oeste africano, apresentando muitas características favoráveis à piscicultura como a rusticidade, resistência a diferentes sistemas de manejo, à doença, à alta densidade e é de rápido crescimento (VICENTE, I. S. T. *et al.*, 2019). Essa espécie também se adapta bem sob baixos níveis de oxigênio dissolvido, altas concentrações de amônia, quando comparada as espécies nativas, tolerando um amplo limite de temperatura e podendo ser aclimatada a altas concentrações de salinidade. (Revista JRG, 2023).

A tilapicultura foi introduzida na década de 1970 e foi na década de 1990 que a produção nacional avançou significativamente e posicionou o Brasil entre os maiores produtores de tilápia do mundo, fazendo com que aumentasse o consumo dessa carne em relação ao mercado interno e, por outro lado, aproveitou-se a inserção no comércio internacional (SCHULTER & VIEIRA FILHO, 2018).

Essa cultura é, atualmente, de crescente importância na aquicultura tropical e subtropical, sendo o segundo peixe mais cultivado em todo o mundo, com sua produção quadruplicando na última década, devido à sua aptidão, sua comercialização e seus preços de mercado estáveis. (PRABU *et al.*, 2019). Do ponto de vista nutricional, a tilápia se destaca pelo alto teor de proteína, apresentando certas características químicas importantes na dieta de qualquer pessoa. (ESTRADA *et al.*, 2021). Segundo Carolina Antonio Estrada *et al.* (2021), alguns dos motivos de comprarem a carne de tilápia é por conta da facilidade de preparação, sabor, rapidez, praticidade e o preço mais baixo. Devido às condições de boa adaptação a diferentes ambientes, a produção brasileira vem se especializando na criação e na exploração da tilápia, transformando-a na principal espécie aquícola (SCHULTER & VIEIRA FILHO, 2018).

Figura 1 - Exemplar de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)



Fonte: Arquivo pessoal.

Com o crescente desenvolvimento da aquicultura, o aumento de doenças nos sistemas de produção, principalmente os mais intensivos, fez com que os estudos sobre a imunologia dos peixes começassem a ser priorizados, por conta da necessidade de combater agentes patógenos e doenças no ambiente de cultivo. (SOUZA, *et al.*, 2021).

3.2 Sistema Imune

O sistema imune é um conjunto de células, tecidos e moléculas, tendo como sua principal função fisiológica de prevenir e eliminar tudo o que é prejudicial ao organismo, como infecções e patógenos (FERREIRA, J. S., 2018), entretanto, mesmo substâncias estranhas não infecciosas e produtos de células danificadas podem elicitar respostas imunes (ABBAS *et al.*, 2019).

Para que esse sistema proteja o indivíduo com mais eficácia, realiza-se quatro tarefas principais: o reconhecimento imune, ativação das funções efetoras, regulação imune e, por fim, produção da memória imunológica; A primeira, é quando a presença de uma infecção é detectada; A segunda função é para conter essa infecção e, se possível, eliminá-la por completo; A terceira está relacionada com a capacidade que o sistema imune tem para autorregulação; Por

fim, a quarta, é para proteger o indivíduo contra a recorrência de uma doença devida a um mesmo patógeno, ou seja, o indivíduo terá imunidade protetora contra um agente infeccioso, do qual já teve contato (MURPHY, K., 2014).

As barreiras capazes de proteger os animais de microrganismos invasores é a imunidade inata e a adaptativa (QUEIROGA, M. A. 2020). Segundo Abul K. Abbas (2021), a imunidade inata existe em organismos saudáveis, impedindo a entrada de microrganismos e eliminando rapidamente aqueles que conseguem invadir os tecidos, tendo a primeira linha de defesa fornecida pela barreira epitelial da pele e dos tecidos mucosos e pelas proteínas celulares e naturais presentes nas células epiteliais, as quais atuam impedindo a entrada de microrganismos e, além de fornecer essa proteção inicial contra infecções, a resposta imune inata é necessária para iniciar respostas imunes adaptativas contra agentes infecciosos.

Já a imunidade adaptativa, ela age mais lentamente em um contato com antígeno inicial, porém ela desenvolverá uma memória imunológica, com uma rápida e vigorosa resposta em um próximo contato (JÚNIOR *et al.*, 2010).

Para um efeito de melhora tanto na imunidade inata, quanto na adaptativa, o β -glucano que é um imunomodulador, servindo para modular a resposta imunológica, prepara melhor os animais frente aos desafios sanitários, fazendo com que reduza a mortalidade por infecções patogênicas, melhorando a resistência do animal, entre outros (GIMENES, *et al.*, 2020).

3.3 β -glucano

O β -glucano é um polissacarídeo estrutural, fazendo parte dos constituintes estruturais da parede celular de leveduras, fungos filamentosos e comestíveis e alguns cereais, porém ele pode ser sintetizado por microrganismos e secretado para o meio extracelular, sendo denominado exopolissacarídeo; pode ser utilizado na indústria alimentícia, farmacêutica, química e na medicina veterinária, possuindo propriedade de ação prebiótica e de atividade imunomoduladora (SOUZA, H. M., 2021).

Os β -glucanos são compostos por unidades de glicose ligadas entre si por vários tipos diferentes de ligações beta-glicosídicas e podem ser divididos em dois subgrupos, sendo eles os cereais e não cereais; os primeiros têm ligações glicosídicas 1,3 e 1,4, incluem aveia, cevada, trigo e arroz, variando seu conteúdo devido sua fonte e possuem, principalmente, atividades metabólicas; já os não cereais, são encontrados em leveduras, fungos, bactérias e algas, com ligações 1,3 e 1,6 e possuem funções imunomoduladoras (MURPHY, E. J., 2020).

Esse efeito imunomodulador é por estar envolvido com a imunidade celular e humoral, atuando contra infecções bacterianas, parasitária e fúngica, sendo bem conhecido em peixes e sua administração oral apresenta vantagens na resposta imune do hospedeiro (LOPES, L. M. F., 2018). O mais utilizado como imunoestimulante, principalmente na aquicultura, tem sido o β -glucano proveniente da parede celular de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*), por conta de suas propriedades antihumoral, imunomodulatória, antiviral, antimicrobiana e antiparasitária (MELLO, M. M. M., 2016).

Devido a esses efeitos benéficos à saúde, tem sido utilizado como aditivo alimentar, promovendo um aumento na resistência a patógenos bacterianos em diversas espécies de peixes; sendo atuantes como padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), ou seja, são padrões de moléculas reconhecidas por receptores de reconhecimento de padrões (PRRs), presentes na membrana das células imunológicas como macrófagos, neutrófilos, células dendríticas e linfócitos (QUISPE, C. H. C., 2022).

O β -glucano tem efeitos na ativação do sistema imunológico, bem como antimicrobiano, antiviral, antitumoral e antioxidante (OZCAN & ERTAN, 2018). Esse último possui a função de inibir danos causados pela ação deletéria dos radicais livres (BARBOSA, K. B. F. *et al.*, 2010).

3.4 Radicais Livres

Os radicais livres (RL) são átomos ou moléculas que possuem um ou mais elétrons livres não pareados, ou seja, possui instabilidade, devido sua incompleta orbital externa e isso permite que haja transferências de elétrons com moléculas vizinhas, participando de vários processos fisiológicos do ser vivo, sendo, normalmente, produzidos pelo metabolismo (PREVEDELLO e COMACHIO, 2021).

Eles podem ser gerados no citoplasma, na membrana (VASCONCELOS *et al.*, 2014), e nas mitocôndrias, onde se encontra a maior parte gerada, por conta da cadeia transportadora de elétrons, oriundo da glicose e oxigênio durante a produção de energia e, por conta de seus elétrons desemparelhados, tornam-se moléculas instáveis, fazendo com que sejam altamente reativos, sendo associados a algumas patologias (SORRETE, T. L. S., 2023).

O termo radical livre não é ideal para grupos de agentes reativos nocivos, uma vez que alguns não possuem elétrons desemparelhados em sua última camada e, portanto, os termos Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) e Espécies Reativas de Nitrogênio (ERN) são

considerados mais corretos, porque caracterizam melhor esses agentes químicos (PREVEDELLO e COMACHIO, 2021).

O oxigênio é o principal fornecedor de RL, tendo seus efeitos de prejuízos variando de acordo com o organismo estudado, idade, estado fisiológico e dieta, e sua contínua produção durante os processos metabólicos levou ao desenvolvimento de muitos mecanismos de defesa antioxidante; e quando há desequilíbrio entre moléculas oxidante e antioxidante, o organismo é submetido ao estresse oxidativo (VASCONCELOS *et al.*, 2014), o qual sobrepõe a proteção antioxidante do organismo, causando danos às células (MENDES *et al.*, 2020).

3.5 Sistema Antioxidante em Peixes

O sistema antioxidante é importante para manter a homeostase do organismo e possui a função de inativar produtos resultantes de processos metabólicos aeróbicos, os quais geram as EROs (SILVA, J. C., 2024). Para o equilíbrio do potencial danoso de RL e ERO, conta-se com o sistema antioxidante (VELLOSA *et al.*, 2021).

Tendo os antioxidantes como substâncias que atrasam ou evitam a oxidação, classifica-se em sistema enzimático e não enzimático; o primeiro age de forma preventiva, inibindo ou retardando a geração de ERO ou, então, impedindo a proximidade dessas com alvos celulares e são enzimas encontradas abundantemente nos tecidos da mucosa do trato gastrointestinal, brônquias e pele; já a segunda, repara as lesões causadas pelas EROs (MELLO, M. M. M., 2020).

Os antioxidantes são responsáveis de impedir a quebra celular gerada pela formação de radicais livres, formando compostos menos reativos, e as enzimas que o organismo possui são: catalase, glutathiona peroxidase e superóxido dismutase (XAVIER, W. S., 2019). Essas enzimas são capazes de remover os agentes antioxidantes antes que causem alguma lesão (SANTOS *et al.*, 2018).

3.5.1 Catalase

A enzima catalase (CAT) é encontrada, principalmente, nos hepatócitos e eritrócitos (MENDES *et al.*, 2020), facilitando a remoção do H_2O_2 , metabolizado em O_2 e água (BATALHÃO, I. G. 2018).

A deficiência dessa enzima pode causar o mal funcionamento do organismo, sendo associado a diversas doenças e tem um papel primordial na regulação do nível celular de peróxido de hidrogênio, o qual é de grande importância para proteger as células do ataque oxidativo (NANDI *et al.*, 2019).

3.5.2 Glutationa Peroxidase

A enzima glutathione peroxidase (GPx) decompõe os H_2O_2 em água, e os peróxidos lipídicos nos seus correspondentes álcoois, principalmente nas mitocôndrias e, por vezes, no citosol, desempenhando um papel crucial na inibição do processo de peroxidação lipídica e, consequentemente, protegendo as células do estresse oxidativo (IGHODARO e AKINLOYE, 2019).

3.5.3 Superóxido Dismutase

A enzima superóxido dismutase (SOD) catalisa a conversão de superóxido em O_2 e H_2O_2 monitorando seu potencial citotóxico, desempenhando papel fundamental na inibição do processo de formação de peroxinitrito e disfunções endotelial e mitocondrial (VELLOSA *et al.*, 2020).

Como primeira linha de defesa contra danos mediados por ROS, espera-se que desempenhem um papel importante no tratamento de doenças relacionadas ao estresse oxidativo (ZHAO *et al.*, 2021), como parasitos e bactérias oportunistas (CASSETTA *et al.*, 2023) e doenças relacionadas ao estresse ambiental (térmico, osmótico, radiação, entre outros) (MARIANO *et al.*, 2009).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Instalação

O experimento foi realizado na Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, Campus de Dracena, no biotério do Laboratório de Imunologia Animal (LIA). Foram utilizadas 24 caixas de polietileno

com capacidade de 130 L de água que estavam armazenadas no biotério tampadas com telas, a fim de reduzir o estresse, como também evitando que haja saltos das tilápias de uma caixa para outra, ou até mesmo, que caíssem no chão, levando a óbito. A cada semana, a matéria orgânica depositada no fundo das caixas foi removida através de sifonamento com uma mangueira de borracha.

O sistema de abastecimento era aberto, com renovação constante da água, e monitorado regularmente; a temperatura era mantida à $26 \pm 1^\circ\text{C}$. Devido as disposições das caixas, foi preciso cobrir as janelas e fazer a instalação de luminárias para que todas as caixas tivessem acesso a 12 horas no período diurno e noturno.

A instalação possui um aerador elétrico acoplado às mangueiras de silicone com pedras porosas para promover adequada concentração de oxigênio dissolvido a água das caixas de polietileno.

4.2 Animais

Foram utilizadas 408 tilápias juvenis (*Oreochromis niloticus*), revertidas sexualmente, provenientes de piscicultura da região de Santa Fé do Sul – SP, com o peso inicial média de 80g. Os peixes foram distribuídos em 24 caixas, contendo 17 peixes em cada caixa e alimentados durante 3 semanas com dieta comercial para o período de aclimatação, somente após esse período houve o início do experimento.

Os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais, no dia 25/11/2020, registrada com o n°: **07/2020.R2 - CEUA**.

4.3 Dieta

No presente experimento, foram confeccionadas duas dietas: uma dieta controle (livre de β -glucano) e uma dieta experimental (0,1% de β -glucano) preparadas no Instituto de Pesca de São José do Rio Preto – SP e foram formuladas de acordo com as exigências da espécie, pela Tabela Brasileira para a Nutrição de Tilápias de Furuya, 2010.

As dietas foram feitas com alimentos pesados, pré-misturados e moídos em triturador tipo martelo com peneira de 0,8 mm, e incluídos os suplementos minerais. Em seguida, incorporada na dieta experimental, o suplemento de 0,1% de β -glucano. A mistura foi umedecida com água a 50°C e submetida ao processo de extrusão com matrizes de 2,5 mm e,

posteriormente, seca em estufa de ventilação forçada por 12 horas a 55°C, resultando em um produto com cerca de 10% de umidade.

As dietas foram armazenadas em potes plásticos etiquetados de acordo com a caixa e o tratamento; e conservados em geladeira durante todo o experimento.

Tabela 1 - Formulação da ração da dieta controle e com β -glucano

Matérias Primas	Ração Basal	
	(%) Controle	(%) Teste B-Glucano
Farelo de Soja	34,218	34,218
Farinha de Vísceras	18,000	18,000
Milho	17,511	17,511
Farelo de Trigo	9,000	9,000
Quirera de Arroz	8,000	8,000
Farinha de Carne e Ossos	6,686	6,686
Protenose	3,446	3,446
Fosfato Bicálcico	0,755	0,755
Óleo de Soja	1,000	1,000
Premix*	0,500	0,500
Antifúngico	0,200	0,200
Sal	0,300	0,300
DL-Metionina	0,168	0,168
Antioxidante	0,050	0,050
Calcário	0,167	
Betaglucano		0,167
Total	100.000	100.000

Fonte: Elaborado pela Autora.

4.4 Delineamento Experimental

A fim de testar o protocolo atual de imunomodulação preconizado para tilápia, e verificar se o β -glucano pode apresentar potencial imunossupressor e sua capacidade de amenizar os efeitos do estresse oxidativo após episódios estressantes de manejo, 408 tilápias foram distribuídas em 24 caixas de polietileno de 130 L, com 17 peixes cada, e divididas em 8 tratamentos, com 3 repetições cada.

- **Tratamento 1 (C15):** Tilápias receberam dieta controle (livre de β -glucano) por 15 dias e foram amostradas após 15 dias de experimento;
- **Tratamento 2 (C15D):** Tilápias receberam dieta controle (livre de β -glucano) por 15 dias, foram desafiadas aos 14 dias, e amostradas após 15 dias de experimento;
- **Tratamento 3 (β 15):** Tilápias receberam dieta experimentais (1g/kg de β -glucano) por 15 dias e foram amostradas após 15 dias de experimento;
- **Tratamento 4 (β 15D):** Tilápias receberam dieta experimentais (1g/kg de β -glucano) por 15 dias, foram desafiadas aos 14 dias, e amostradas após 15 dias de experimento.
- **Tratamento 5 (C30):** Tilápias receberam dieta controle (livre de β -glucano) por 30 dias e foram amostradas após 30 dias de experimento.
- **Tratamento 6 (C30D):** Tilápias receberam dieta controle (livre de β -glucano) por 30 dias e foram desafiadas aos 29 dias, e amostradas após 30 dias de experimento.
- **Tratamento 7 (β 30):** Tilápias receberam dieta experimental (1g/kg de β -glucano) por 30 dias e foram amostradas após 30 dias de experimento.
- **Tratamento 8 (β 30D):** Tilápias receberam dieta experimental (1g/kg de β -glucano) por 30 dias e foram desafiados aos 29 dias, e amostradas após 30 dias de experimento.

Aos 14 dias, os grupos 02 e 04 foram desafiados com manejos estressantes (estresse e infecção com $1,0 \times 10^8$ UFC de *S. agalactiae*/peixe inativada). Após 24h, aos 15 dias de experimento, peixes dos tratamentos 01, 02, 03 e 04 foram amostrados, anestesiados em solução de óleo de cravo ($1 \text{ g} \cdot 10 \text{ L}^{-1}$ de água), foi coletado o fígado para avaliação das respostas enzimática antioxidante no fígado (CAT, GPx e SOD).

Em seguida, individualmente pesados em balança digital semi-analítica com precisão de 0,01 g, e medidos em ictiômetro. Aos 29 dias de experimento, peixes dos tratamentos 06 e 08 foram desafiados com manejos estressantes, sendo 04 peixes de cada caixa ($n=12$), e após 24h, aos 30 dias de experimento, peixes dos tratamentos 05, 06, 07 e 08 foram amostrados, e passaram pela coleta de fígado para avaliação das análises citadas.

4.5 Desafio de estresse e infecção experimental *S. agalactiae* inativada (bacterina)

Na fase final do experimento os animais foram submetidos a um desafio de estresse, que simula alguns manejos comuns no cultivo de tilápias. Onde passaram por 12 horas de adensamento, e ao decorrer deste período, sofreram perseguição durante 10 minutos e exposição

aérea por 3 minutos manejos estes realizados no período da manhã e repetidos a tarde, logo em seguida passaram pela infecção experimental.

Em relação a infecção experimental, foi desenvolvido um protocolo de desafio microbiológico com *S. agalactiae* pelo Laboratório de Imunologia Animal (LIA) - UNESP Dracena, SP.

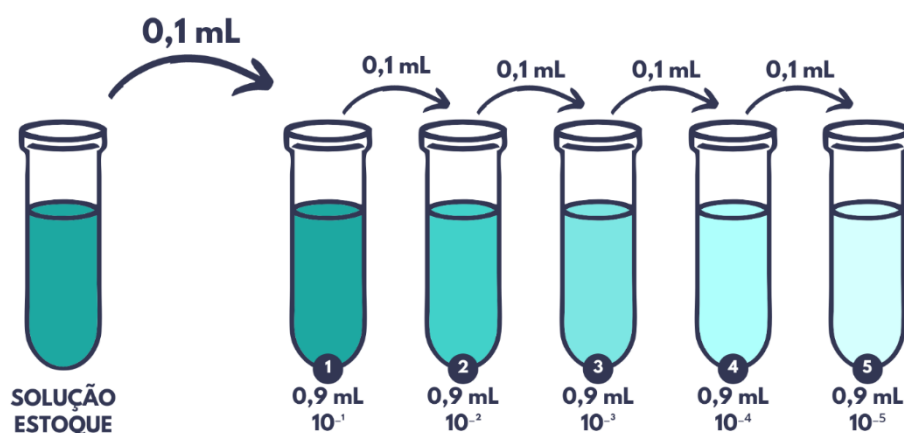
As bactérias foram adquiridas do Laboratório de Microbiologia e Parasitologia de Organismos Aquáticos do Centro de Aquicultura da UNESP (LAPOA - CAUNESP), cujas cepas foram isoladas e identificadas em peixes a partir de sinais clínicos do animal doente. O peixe moribundo passou por assepsia com álcool 70% para coletar os órgãos.

Os tecidos foram incubados por 24 - 48h à 28°C e semeados em placas de cultura contendo ágar BHI apropriado para isolar a bactéria e caracterizado morfológicamente com coloração gram. Foi realizada análise molecular para identificação da espécie e o teste de sensibilidade microbiana para achar a concentração mínima inibitória e mínima bactericida.

Na Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas (FCAT), campus de Dracena - SP, o crescimento das bactérias foi realizado em garrafas com meio de cultivo BHI. A bactéria foi inoculada 3 vezes com alça de sementeamento e deixadas em estufa à 28°C entre 24 e 48h; Em seguida, foi medida a densidade ótica do meio de cultivo à 625nm. Alíquotas desse meio de cultivo foram conservadas por congelamento, nas quais foram adicionados 1:1 500µL de glicerol estéril e 500µL de meio de cultivo com bactérias em alta DO e foram congelados a -20°C por 30 minutos antes de armazenar a -80°C. Essas cepas estão na FCAT e poderão ser utilizadas em futuros estudos.

Para a realização do desafio, utilizou-se as bactérias que cresceram em meio de cultivo BHI, em densidade ótica alta, em torno de 2 (Leitura em 625nm) que passaram por inativação. A inativação das bactérias foi feita por aquecimento em garrafa em banho maria à 50°C por 30 min e em seguida, lavadas com PBS 1x e ajustada a OD para 0,37, que representa a DL50 em uma concentração de $1,3 \times 10^8$ UFC/mL⁻¹, determinado previamente por estudo realizados pelo LAPOA. Entretanto, para verificação da concentração utilizada, foi realizado plaqueamento do meio de cultivo para contagem das UFC's utilizadas. Para isso, o meio de cultivo utilizado passou por diluição seriada e foi semeado em placa com meio sólido PCA (Figura 02).

Figura 2 - Diluições do meio de cultura de bactérias para a contagem de células



Fonte: Elaborado pela autora.

Após a diluição, foram semeadas as diluições entre 10^{-6} a 10^{-10} por triplicata. No fundo da placa foi colocado 1 mL da diluição, adicionado o meio PCA (por cima das bactérias) e misturados por agitação em várias direções. Por fim, foi deixado o meio solidificar, fechando as placas, que foram colocadas em estufa para incubação a 28°C para que fosse possível contar as bactérias.

Por último, foi feita a injeção intraperitoneal individualmente de $100\mu\text{L}$ por 10g de peso vivo de suspensão de *S. agalactiae* inativada (aquecimento a 50°C por 30 min) na concentração de $1,3 \times 10^8 \text{ UFC/mL}^{-1}$ na cavidade pélvica dos peixes dos tratamentos 02 e 04 aos 14 dias de confinamento, e tratamentos 06 e 08 aos 29 dias de confinamento. Diversos estudos apresentam desafios com a bactéria atenuada ou viva, mas apresentam alta mortalidade. Neste caso, foi realizado com a bactéria inativada para avaliar se houve a potencialização da resposta imunológica dos peixes através de uma terceira coleta.

4.6 Descrição das Análises

4.6.1 Análise de defesa antioxidante enzimática

As amostras de fígado foram inicialmente descongeladas para confecção de um homogenato na proporção de 1g de tecido para 4 mL de tampão de homogeneização (Tris HCL 100mM, EDTA 0,1mM e triton X-100 a 0,1%, pH 7,8). O homogenato foi preparado em um homogeneizador tipo Potter (Modelo NT 136 - Novatecnica®) a 600 rpm por aproximadamente 3 minutos cada amostra. Após a homogeneização, as amostras foram transferidas para microtubos de 2 mL e centrifugados a 5000 rpm, por 30 minutos em centrífuga refrigerada (4°C) Allegra X-30R Centrifuge – Beckman Coulter®. Após centrifugação, os sobrenadantes foram separados em alíquotas para análise da atividade das enzimas do estresse oxidativo. No mesmo dia de preparo dos homogenatos, foi quantificada a concentração de proteína de cada amostra pelo método de Biureto em espectrofotômetro a 540nm.

4.6.1.1 Catalase (CAT)

A atividade hepática da catalase (CAT) foi determinada medindo a diminuição da concentração de peróxido de hidrogênio pela absorbância a 240nm de acordo com Aebi (1984). O coquetel de reação consistiu em H₂O₂ 10,6 mM preparado no momento da utilização. Foram utilizados 10 µL de amostra e 190 µL de H₂O₂ para realização da leitura da atividade enzimática. Uma unidade de atividade foi definida como a quantidade de enzima necessária para transformar um substrato por minuto sob as condições analíticas descritas. A atividade da CAT foi determinada pela absorbância de 240 nm, à 26°C, em leitor de microplacas tipo ELISA (Thermo Scientific™ Multiskan GO Microplate Spectrophotometer).

4.6.1.2 Superóxido Dismutase (SOD)

A atividade hepática da SOD foi medida pelo método do ferricitocromo C usando xantina / xantina oxidase como fonte de radicais superóxido. O coquetel de reação consistiu em tampão de fosfato de potássio a 50 mM (pH 7,8), EDTA a 0,1 mM, xantina a 0,1 mM, citocromo C a 0,013 mM e xantina oxidase a 0,024 UI mL⁻¹. Foram utilizados 180 µL de coquetel de

reação, 10 µL de amostra e 10 µL de xantina oxidase para a realização da leitura da atividade enzimática. A atividade foi expressa em unidades de SOD por miligrama de proteína. Uma unidade de atividade foi definida como a quantidade de enzima necessária para produzir uma inibição de 50% da taxa de redução do ferricitocromo C (PÉREZ-JIMÉNEZ *et al.*, 2009). A atividade da SOD foi determinada pela absorbância de 550nm, à 25°C, em leitor de microplacas tipo ELISA (Thermo Scientific™ Multiskan GO Microplate Spectrophotometer).

4.6.1.3 Glutathione Peroxidase (GPx)

A atividade hepática da GPx foi medida seguindo o método de Pérez-Jiménez *et al.* (2009). A glutathione na forma oxidada (GSSG) gerada pela GPx foi reduzida pela glutathione redutase (GR) e a oxidação de NADPH foi monitorada pela absorbância a 340nm. O coquetel de reação consistiu em tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,1), 3,6 mM de glutathione reduzida (GSH), 3,6 mM de azida sódica, 1 UI/mL de glutathione redutase, 0,2 mM de NADPH e 1,2 mM de H₂O₂. Uma unidade de atividade foi definida como a quantidade de enzima necessária para transformar um substrato µmol por minuto, nas condições analíticas descritas. A atividade da GPx foi determinada pela absorbância de 340 nm, à 25°C, em leitor de microplacas tipo ELISA (Thermo Scientific™ Multiskan GO Microplate Spectrophotometer).

4.7 Análise Estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC) e os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de Kruskal-Wallis, com nível de significância de 5%. As médias foram comparadas pelo Teste de Duncan (5%), através do programa estatístico SAS, versão 9.4 M7.

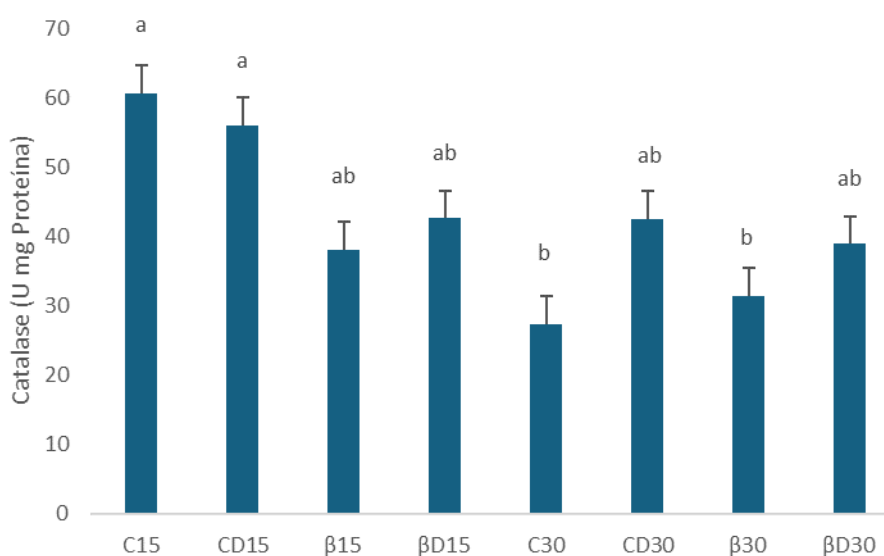
5 RESULTADO E DISCUSSÃO

5.1. Resultado - defesa antioxidante enzimática

5.1.1. Catalase (CAT)

Houve diferença significativa entre os tratamentos para atividade da catalase (CAT). Nos tratamentos controle aos 30 dias (C30) e β -glucano por 30 dias (β 30), a concentração da CAT foi menor quando comparado ao tratamento controle aos 15 dias (C15) e ao controle desafiado aos 15 dias (CD15). Não diferindo dos demais tratamentos. Como mostra a figura 3.

Figura 3 - Atividade da catalase (CAT) em fígado de tilápias com β -glucano associado ao estresse de manejo



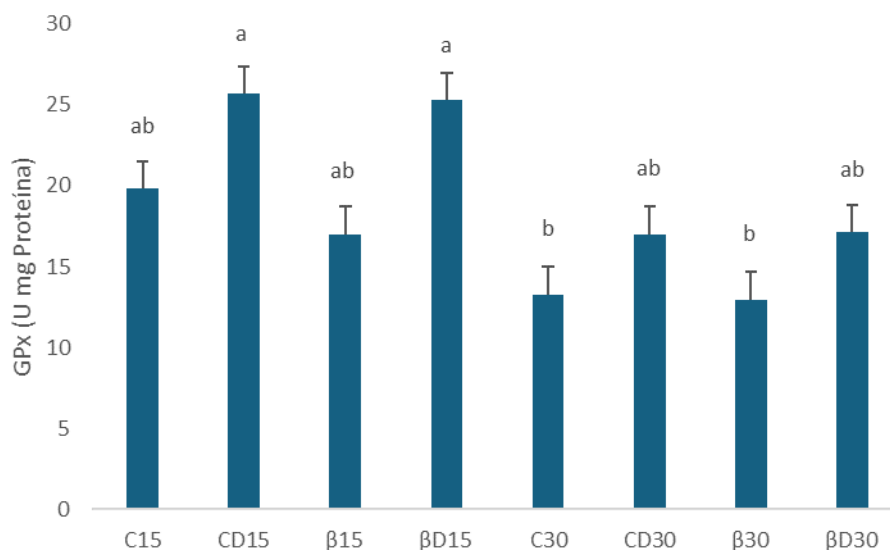
Valores são médias \pm desvio padrão em duplicata. Diferentes letras indicam diferença estatística ($P < 0.05$). C=dieta controle, D=desafio por estresse de manejo, β = β -glucano.

5.1.2. Glutathione peroxidase (GPx)

Houve diferença significativa entre os tratamentos para atividade da glutathione peroxidase (GPx). Nos tratamentos controle 30 dias (C30) e β -glucano aos 30 dias (β 30), a

concentração de GPx foi menor quando comparado ao tratamento controle 15 dias (C15) e β -glucano aos 15 dias (β 15). Como mostra a figura 4.

Figura 4 - Atividade da glutathiona peroxidase (GPx) em fígado de tilápias alimentadas com β -glucano associado ao estresse de manejo

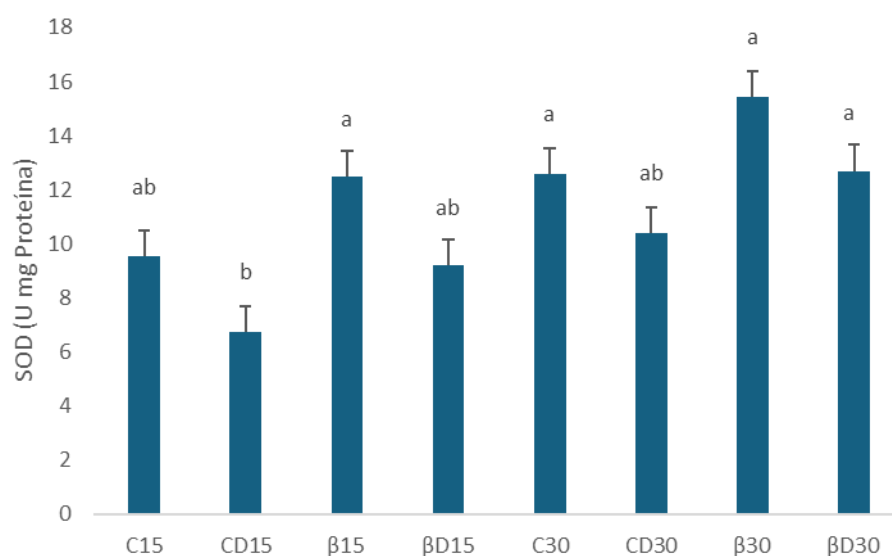


Valores são médias \pm desvio padrão em duplicata. Diferentes letras indicam diferença estatística ($P < 0.05$). C=dieta controle, D=desafio por estresse de manejo, β = β -glucano.

5.1.3. Superóxido dismutase (SOD)

Houve diferença significativa interação dieta x tempo na atividade do superóxido dismutase (SOD). Nos tratamentos controle aos 15 dias (C15), controle aos 30 dias (C30), β -glucano aos 30 dias (β 30) e o β -glucano desafiado aos 30 dias (β D30), a concentração da SOD foi maior em comparação ao tratamento controle desafio aos 15 dias (CD15), sem diferença para os demais tratamentos. Como mostra a figura 5.

Figura 5 - Atividade da superóxido oxidase (SOD) em fígado de tilápias alimentadas com β -glucano associado ao estresse de manejo



Valores são médias \pm desvio padrão em duplicata. Diferentes letras indicam diferença estatística ($P < 0.05$). C=dieta controle, D=desafio por estresse de manejo, β = β -glucano.

5.2. Discussão - defesa antioxidante enzimática

Organismos aeróbios enfrentam a constante necessidade de lidar com espécies reativas de oxigênio (ROS), moléculas quimicamente reativas que contêm oxigênio e são subprodutos naturais do metabolismo celular. Embora as ROS desempenhem papéis cruciais na sinalização celular e na homeostase, sua produção excessiva em situações de estresse ambiental ou de manejos podem levar ao estresse oxidativo. Esse estado ocorre quando o acúmulo de ROS supera a capacidade antioxidante do organismo, resultando em danos a lipídios, proteínas e ao DNA. Um dos mecanismos mais prevalentes de lesão celular é a peroxidação lipídica, o que compromete a integridade celular. Para contrabalançar esses efeitos, os organismos possuem sistemas antioxidantes, como as enzimas superóxido dismutase, catalase e peroxidases, que regulam a produção de ROS (VINAGRE *et al.*, 2012).

Nos últimos anos, os aditivos alimentares têm se destacado como uma abordagem promissora para mitigar os efeitos adversos dos praguicidas e melhorar a saúde dos peixes. Esses apresentam propriedades antioxidantes, reduzindo o estresse oxidativo ao neutralizar radicais livres. Além disso, possuem efeitos anti-inflamatórios, que ajudam a minimizar inflamações causadas por praguicidas, fortalecendo o sistema imunológico dos peixes. Dentre

eles, o β -glucano tem mostrado resultados significativos na aquicultura, especialmente em tilápias, que são amplamente cultivadas devido ao seu rápido crescimento e popularidade. Estudos indicam que o β -glucano melhora a taxa de crescimento, o estado antioxidante e a imunidade, além de aumentar a resistência contra patógenos como *Aeromonas hydrophila* e *Streptococcus agalactiae*. Dessa forma, a pesquisa contínua sobre o uso de aditivos como o β -glucano como alternativas aos antibióticos representa uma estratégia sustentável para enfrentar desafios sanitários e ambientais na aquicultura (DOU *et al.*, 2023; TAHIR *et al.*, 2024). O presente estudo avaliou o efeito da administração do β -glucano em tilápia expostas a estresse de manejo. Foram avaliadas variáveis de defesa antioxidante enzimática.

5.2.1. Catalase (CAT)

A catalase (CAT) é uma enzima que tem como objetivo proteger a célula de espécies reativas de oxigênio, subproduto de algumas reações metabólicas e responsáveis pelo estresse oxidativo (BELO & SOUZA, 2016). Ela transforma a água oxigenada (H_2O_2), o qual é tóxica para os seres vivos, em água (H_2O) e oxigênio (O_2), produtos não nocivos (GONÇALVES, T. M., 2022). Sendo fundamental para a homeostase do organismo do animal, uma vez que previne o acúmulo de H_2O_2 , que leva à formação de radicais livres altamente reativos, causando danos às moléculas celulares (GONÇALVES & YAMAGUCHI, 2023).

Os animais alimentados com a ração controle por 30 dias (C30) e β -glucano por 30 dias (β 30) apresentaram redução na concentração da catalase (CAT) em relação aos animais que foram alimentados com ração controle por 15 dias (C15) independente do desafio. Demonstrando que, os animais que permaneceram no sistema por 30 dias apresentaram diminuição significativa da produção dessa enzima, tanto a dieta controle (C), quanto a dieta β -glucano (β).

Na situação C15, podemos analisar que a concentração da CAT está elevada, e, segundo Antônio JD Cogo *et al.* (2024), a atividade da catalase se apresenta elevada quando o organismo se encontra em estresse oxidativo. Logo, esse aumento da concentração pode ser justificado com a possibilidade dos animais não estarem bem adaptado ao sistema, apesar de ter sido realizada uma ambientação desse animal por um tempo, ele ainda estava com metabolismo acelerado, em estresse oxidativo, diferente do C30, onde essa concentração abaixou, deixando claro que já estavam adaptados ao ambiente, não produzindo tanto radicais livres.

A ausência de diferença entre os tratamentos CD30 e β D30 demonstram que o desafio realizado não foi o suficiente para alterar o metabolismo animal, sem aumentos significativos de radicais livres e, conseqüentemente, sem aumento da concentração de CAT, em relação a C30 e β 30. Entretanto, outras pesquisas observaram aumento da CAT associado a administração de β -glucano (DAWOOD *et al.*, 2020a, DAWOOD *et al.*, 2020b; DOU *et al.*, 2023; Lu *et al.*, 2019). Vale ressaltar que pode haver variação sazonal na atividade da catalase, como observado por Kopecka e Pempkowiak (2008), e por isso é fundamental que sejam feitas pesquisas adicionais para entender como os manejos estressantes e desafios microbiológicos influenciam os níveis de biomarcadores antioxidantes.

5.2.2. Glutathione peroxidase (GPx)

A glutathione peroxidase (GPx) é uma enzima presente no sistema antioxidante, responsável pela eliminação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (BORTOLATTO *et al.*, 2020). Ela age, especificamente, no controle dessa substância, pela quebra deste radical livre na cadeia transportadora, portanto, o aumento da GPx pode significar uma adaptação ao estresse oxidativo gerado pela exposição no fígado, na tentativa de desintoxicar o organismo, uma vez que essa enzima atua diretamente no sistema de defesa. (OLIVEIRA *et al.*, 2024).

Os animais alimentados com a ração controle por 30 dias (C30) e a com β -glucano por 30 dias (β 30) apresentaram uma redução na concentração da glutathione peroxidase (GPx) em relação aos animais que foram desafiados aos 15 dias, independente do tratamento.

Podemos analisar que, como o esperado, todas os tratamentos desafiados tiveram uma maior concentração da GPx, mesmo não sendo uma diferença significativa.

Ao contrário da hipótese inicial, a qual era baseado em que o β -glucano poderia melhorar a homeostase dos animais e quando enfrentasse desafios, ele produzisse menos radicais livres, aos 15 e 30 dias, o desafio proposto, promoveu o aumento da glutathione peroxidase (GPx), mostrando que o β -glucano não está protegendo os animais contra as respostas antioxidantes, ou então, contra o aumento dos radicais livres produzidos pelo estresse, pois está na mesma concentração de GPx da dieta controle desafiada. Isso pode ser explicado segundo Magnani & Gómez (2008), uma vez que o β -glucano irá estimular o sistema imune do animal, estimulando os macrófagos, ou seja, a função de fagocitar, eliminar células ou partículas estranhas ao organismo.

Entretanto, outras pesquisas observaram aumento da GPx associado a administração de β -glucano quando desafiados com microrganismos (DAWOOD *et al.*, 2020a; DAWOOD *et al.*, 2020b; DOU *et al.*, 2023; LU *et al.*, 2019).

5.2.3. Superóxido dismutase (SOD)

A superóxido dismutase (SOD) é uma importante enzima, uma vez que atua na linha de frente da defesa antioxidante do organismo, eliminando o superóxido (O_2^-), obtido a partir do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), liberando o oxigênio molecular (O_2). (SANCHES *et al.*, 2024).

Com base no gráfico apresentado, nota-se que os tratamentos de 15 dias, mesmo que não houve diferença significativa, quando desafiados, apresentaram valores de concentração de superóxido dismutase menor. Em relação ao β -glucano, pode-se dizer que está estimulando a produção de radicais livres, principalmente no sistema de defesa, por isso o aumento da concentração de SOD. Ou seja, está realizando sua função de imunoestimulante, aumentando resposta de defesa e, conseqüentemente, aumentando os radicais livres.

Segundo Zaine *et al.* (2014), o β -glucano age por conta do estímulo do sistema imune, como um imunomodulador, desencadeando ações para proteger o organismo. Outras pesquisas observaram aumento da SOD associado a administração de β -glucano (DAWOOD *et al.*, 2020a, DAWOOD *et al.*, 2020b; DOU *et al.*, 2023; Lu *et al.*, 2019). Entretanto, além da dosagem, a duração do fornecimento e o modo de administração, entre outros fatores, podem influenciar a eficácia do β -glucano. Por isso, são necessários estudos adicionais para identificar os fatores determinantes e os mecanismos envolvidos na ação do imunoestimulante sobre o sistema antioxidante de tilápias (DALMO & BØGWALD, 2008).

As células possuem mecanismos antioxidantes que incluem as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathiona peroxidase (GPx), fundamentais para combater o estresse oxidativo e manter o equilíbrio dos radicais livres. O malondialdeído (MDA), produto final da peroxidação lipídica, é amplamente utilizado como indicador de danos oxidativos, juntamente com índices como SOD, CAT, GSH-Px e capacidade antioxidante total (T-AOC). Estudos demonstraram que a suplementação com β -1,3-glucano, especialmente em concentrações de 0,1% a 0,15%, aumenta a atividade da SOD e reduz significativamente os níveis de MDA em organismos aquáticos, como a tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) e camarões, incluindo *Macrobrachium rosenbergii*. Além disso, o β -1,3-glucano mostrou-se mais eficaz do que outros compostos, como o curdlano, na melhora da capacidade antioxidante

dos tecidos, protegendo contra danos oxidativos por meio da eliminação de radicais livres e inibição da peroxidação lipídica. Assim, sua aplicação em dietas de organismos aquáticos representa uma estratégia promissora para melhorar a saúde e o desempenho produtivo em condições de estresse ambiental (DAWOOD *et al.*, 2020; HAN *et al.*, 2021; TIAN *et al.*, 2023).

6. CONCLUSÃO

Conclui-se que as enzimas antioxidantes catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) e superóxido dismutase (SOD) desempenham papéis fundamentais na manutenção da homeostase e na resposta ao estresse oxidativo em peixes. A análise das diferentes dietas, incluindo a suplementação com β -glucano, revelou respostas variáveis nos parâmetros enzimáticos, dependendo do período de alimentação e da exposição a desafios. O β -glucano, reconhecido por sua capacidade imunoestimulante, não mostrou a proteção esperada contra o aumento de radicais livres em situações de estresse, evidenciado pela similaridade na concentração de GPx em relação à dieta controle desafiada. No caso da CAT, os animais em tratamentos de 30 dias exibiram menor produção enzimática, sugerindo adaptação ao ambiente, enquanto o aumento da SOD nos tratamentos com β -glucano confirmou sua atuação como imunoestimulante, intensificando a resposta de defesa antioxidante. Assim, os resultados destacam a complexidade das respostas antioxidantes e a necessidade de estudos adicionais para compreender a eficácia e o papel modulador do β -glucano em sistemas de produção animal.

7. REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia Celular e Molecular: 9ª edição**, 2019.
- ACUNHA, R. M. G.; SANCHES, D. S.; ALMEIDA, R. G. S.; OLIVEIRA, F. C.; SOARES, M. P.; DAVALO, M. R. S.; SILVA, M. E. V. M.; OLIVEIRA, K. K. C.; CAMPOS, C. M. **The use of immunomodulators in fish feed: A review**. Research, Society and Development, v. 12, n. 4, p. e11312440964, 2023.
- BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. **Estresse Oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios**. Revista de Nutrição, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1415-52732010000400013>. Acesso em: 18 nov. 2024.
- BATALHÃO, I. G. **Efeitos do metilfenidato sobre o sistema dopaminérgico, comportamento e estresse oxidativo em *Oreochromis niloticus***. 2018.
- BELO, M. F. R. F.; SOUZA, A. L. F. **Estudo cinético da enzima catalase (E.C. 1.11.1.6) de extrato bruto de batata doce (*Ipomoea batatas*)**. Scientia Plena, v. 12, n. 7, 2016.
- BORTOLATTO, G. P.; MEDEIROS, H. C. D.; GUELFI, M.; TAVARES, M. A.; MAZZO, M.; MINGATTO, F. E. **Carnosine avoids the oxidative damage caused by intense exercise on rat soleus muscle**. Revista Brasileira de Medicina do Esporte, v. 26, p. 11-15, 2020.
- CASSETTA, J.; REFUNDINI, G.; SILVA, C.; LALA, B.; RAMOS, B.; PEREIRA, L. B. P.; SILVA, S. C. **Potencial antioxidante em tilápias submetidas a desafio sanitário e nutricional simultâneo**. Ciência e Tecnologia do Pescado: tópicos atuais em pesquisa, v. 1, 2023.
- COGO, A. J. D.; SIQUEIRA, A. F.; RAMOS, A. C.; CRUZ, Z. M. A.; SILVA, A. G. **Utilização de enzimas do estresse oxidativo como biomarcadoras de impactos ambientais**. Natureza on line, v. 7, n. 1, p. 37-42, 2009. Disponível em: <https://naturezaonline.com.br/revista/article/view/401/381>. Acesso em: 18 nov. 2024
- DALMO, R. A.; BOGWALD, J. **β -glucans as conductors of immune symphonies**. Fish & Shellfish Immunology, v. 25, p. 384-396, 2008.
- DAWOOD, M. A. O.; ABDO, S. E.; GEWAILY, M. S.; MOUSTAFA, E. M.; SAADALLAH, M. S.; EL-KADER, M. F. A.; HAMOUDA, A. H.; OMAR, A. A.; ALWAKEEL, R. **The influence of dietary β -glucan on immune, transcriptomic, inflammatory and histopathology disorders caused by deltamethrin toxicity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)**. Fish & Shellfish Immunology, v. 98, p. 301-311, 2020.
- DAWOOD, M. A. O.; EWEEDAH, N. M.; MOUSTAFA, E. M.; SHAHIN, M. G. **Synergetic effects of *Aspergillus oryzae* and β -glucan on growth and oxidative and immune responses of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus***. Probiotics and Antimicrobial Proteins, v. 12, p. 172-183, 2020.

DOU, X.; HUANG, H.; YING, L.; DENG, J.; TAN, B. **Effects of dietary β -glucan on growth rate, antioxidant status, immune response, and resistance against *Aeromonas hydrophila* in genetic improvement of farmed tilapia (GIFT, *Oreochromis niloticus*).** Aquaculture Reports, v. 29, p. 101480, 2023.

ESTRADA, A. C.; CRUZ, M. T. K.; ENRÍQUEZ, O. A. B.; VÁZQUEZ, J. P. A. **Disposición a pagar del consumidor de derivados de tilapia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) en el estado de Oaxaca.** Revista de Alimentación Contemporánea y Desarrollo Regional, v. 31, n. 58, 2021.

FERREIRA, J. S.; MESQUITA, H. L.; ARAGÃO, D. M. O.; BASTOS, C. A. **O sistema imunológico e a autoimunidade.** Revista Científica UBM, ano XXIII, v. 20, n. 39, p. 41-59, 2018.

FURUYA, W. M. **Tabelas Brasileiras para a Nutrição de Tilápias.** 2010.

GIMENES, G. C.; DIAS, E. H.; DIAS, S. H. F.; BASTOS, G. L.; GERBASI, A.R.; ALMADA, A. F. B.; BORGES, J. L.; GONÇALVES, D. D.; SIMÕES, J. V. M.; JÚNIOR, R. P. **Eficácia da suplementação oral com 1,3-1,6 betaglucano proveniente de *Saccharomyces cerevisiae* no controle da mastite bovina.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 72, n. 4, p. 1441-1448, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-4162-10556>. Acesso em: 18 nov. 2024.

GONÇALVEZ, T. M. **Um laboratório de biologia caseiro: simulando a ação da enzima catalase na batata (*Solanum tuberosum* L.).** Open Science Research V, v. 5, p. 238-250, 2022.

GONÇALVEZ, T. M.; YAMAGUCHI, K. K. L. **Sequência didática investigativa em Biologia Celular: a ação da enzima catalase nos vegetais.** Revista Acervo Educacional, v. 5, p. 1-8, 2023.

HAN B.; ZHANG, X.; CHANG, E.; WAN, W.; XU, J.; ZHAO, C.; MIAO, S. **Effects of dietary *Saccharomyces cerevisiae* and β -glucan on the growth performance, antioxidant capacity and immunity response in *Macrobrachium rosenbergii*.** Aquaculture Nutrition, v. 27, p. 20-28, 2021).

IGHODARO, O. M.; AKINLOYE, O. A. **First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid.** Alexandria Journal of Medicine, v. 54, n. 4, p. 287-293, 2018.

JÚNIOR, D. M.; ARAÚJO, J. A. P.; CATELAN, T. T. T.; SOUZA, A. W. S. S.; CRUVINEL, W. M.; ANDRADE, L. E. C.; SILVA, N. P. **Sistema Imunitário - Parte II: Fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B.** Revista Brasileira de Reumatologia 50(5): 552-580, 2010.

KOPECKA, J.; PEMPKOWIAK, J. **Temporal and spatial variations of select biomarker activities in flounder (*Platichthys flesus*) collected in Baltic proper.** Ecotoxicology and Environmental Safety, v. 70, p. 379-391, 2008

LOPES, L. M. F. **β -glucana em respostas de estresse, imunidade e do metabolismo energético do Pacu (*Piaractus mesopotamicus*)**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2018.

LU, D. L.; LIMBU, S. M.; LV, H. B.; MA, Q.; CHEN, L. Q.; ZHANG, M. L. .; DU, Z. Y. **The comparisons in protective mechanisms and efficiencies among dietary α -lipoic acid, β -glucan and L-carnitine on Nile tilapia infected by *Aeromonas hydrophila***. Fish & Shellfish Immunology, v. 86, p. 785-793, 2019.

MAGNANI, M.; GÓMEZ, R. J. H. C. **β -glucana de *Saccharomyces cerevisiae*: constituição, bioatividade e obtenção**. Semina: Ciências Agrárias, v. 29, n. 3, p. 631-650, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2008v29n3p631>. Acesso em: 18 nov. 2024.

MARIANO, W. S.; OBA, E. T.; ASSIS, H. C. S. **Biomarcadores de estresse oxidativo em peixes**. Tópicos Especiais em Saúde e Criação Animal, 2009.

MARTÍNEZ, W. Z.; MORALES, S. G.; GODINA, F. R.; OLIVO, A. R.; MALDONADO, A. J. **Efecto de los ácidos fenólicos en el sistema antioxidante de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* Mill)**. Agronomía Mesoamericana, v. 32, n. 3, p. 854-868, 2021.

MELLO, M. M. M. **Estresse, imunidade, sistema antioxidante e metabolismo em peixes em condições simuladas comuns da criação**. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2020.

MELLO, M. M. M. **Uso do β -glucano e avaliação de indicadores de estresse e do sistema imune inato de Pacu após manejo de transporte**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2016.

MENDES, A. P. A.; PEREIRA, R. C.; ANGELIS-PEREIRA, M. C. **Estresse oxidativo e sistemas antioxidantes: Conceitos fundamentais sob os aspectos da nutrição e da ciência dos alimentos**. Tecnologia de Alimentos: Tópicos Físicos, Químicos e Biológicos, v. 2, p. 296-312, 2020.

MURPHY, E. J.; REZOAGLI, E.; MAIOR, I.; ROWAN, N. J.; LAFFEY, J. G. **β -glucan Metabolic and Immunomodulatory Properties and Potential for Clinical Application**. Journal of Fungi, 6, n. 4: 356, 2020.

MURPHY, K. **Imunobiologia de Janeway: 8ª edição**. Artmed Editora, 2014

NANDI, A.; YAN, L. J.; JANA, C. K.; DAS, N. **Role of Catalase in Oxidative Stress and Age-Associated Degenerative Disease**. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, v. 2019, n. 1, p. 9613090, 2019.

OLIVEIRA, L. P.; MARI, R. B.; MARINSEK, G. P. **Avaliação histopatológica e bioquímica do fígado de *Poecilia reticulata* expostos ao antibiótico azitromicina**. Anais do Congresso Brasileiro de Iniciação Científica, v. 1, n. 1, p. 476-482, 2024.

ÖZCAN, Ö.; ERTAN, F. **Beta-glucan Content, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Some Edible Mushroom Species**. Food Science and Technology, v. 6, n. 2, p. 47-55, 2018.

PEIXE BR. Anuário Peixe BR da Piscicultura. 2024. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario-2024/>. Acesso em: 18 nov. 2024.

PRABU, E.; RAJAGOPALSAMY, C. B. T.; AHILAN, B.; JEEVAGAN, I. J. M. A.; RENUHADEVI, M. **Tilapia – An Excellent Candidate Species for World Aquaculture: A Review.** Annual Research & Review in Biology, v. 31, n.3, p. 1-14, 2019.

PREVEDELLO, M. T.; COMACHIO, G. **Antioxidants and their relationship with free radicals, and Chronic Non communicable Diseases: a literature review.** Brazilian Journal of Development, v. 7, n. 6, p. 55244-55285, 2021.

QUEIROGA, M. C. **Imunidade Natural.** Microbiologia Médica e Imunologia II: 1ª Edição, 2020.

QUISPE, C. H. C. **Beta-glucano influencia a sobrevivência de tilápia-do-nilo após infecção por *Francisella orientalis*.** Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2022.

RIBEIRO, V. S.; FILHO, M. X. P.; ROCHA, H. S.; RIBEIRO, J. B. **Tilapicultura no Brasil: Uma análise regional a partir de indicadores de upgrading.** Informe GEPEC, v. 28, n. 1, p. 366-383, 2024.

RODRIGUES, F. S.; CHAGAS, S. R.; ROCHA, M. C. V.; NASCENTE, E. P.; PAULA, F. G.; PASCOAL, L. M. **Innate immune system and the use of garlic as an immunostimulant: literature review.** Research, Society and Development, v. 9, n. 4, p. e152943014, 2020.

ROMANZINI, G. B.; COSTA, C. P. **Cultivo da tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) em tanque-rede: uma revisão de literatura.** Revista JRG de Estudos Acadêmicos, ano 6, v. VI, n. 13, 2023.

SANCHES, A. G.; SILVA, M. B.; TEIXEIRA, G. H. A. **Superóxido dismutase: determinando a atividade enzimática em produtos hortifrutícolas.** Editora Científica Digital, v. 1, p. 82-102, 2024.

SANTOS, E. A. A.; SOUSA, P. C.; SILVA, A. M.; PAIVA, A. L. C.; LAGO, A. E. A.; PAULA, V. V. P.; PEREIRA, A. F.; MOURA, A. A. A. N.; SILVA, A. R. **Atividade da superóxido dismutase e catalase no plasma seminal de catetos (*Pecari tajacu*) e sua relação com a qualidade espermática.** Semina: Ciências Agrárias, v. 39, n. 2, p. 787-796, 2018.

SCHULTER, E. P.; FILHO, J. E. R. V. **Desenvolvimento e Potencial da Tilapicultura no Brasil.** Revista de Economia e Agronegócio - REA, vol. 16, n. 2, 2018.

SILVA, J. C. **Respostas metabólicas e dos sistemas imune inato e antioxidante em Pacus (*Piaractus mesopotamicus*) alimentados com dieta suplementada com *Aloe vera* em protocolo de alimentação contínua e pulsada.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, 2024.

SOUZA, H. M.; TRUITE, C. V. R.; DELANI, T. C. O.; MATIOLI, G. **β -glucanas e seus benefícios para a saúde intestinal.** Compostos Bioativos e suas aplicações. Capítulo 4, 2021.

SOUZA, M. C. M.; SOUSA, R. L.; CHAGAS, E. C.; SANTOS, M. C. **Imunologia dos peixes amazônicos: o quanto conhecemos?** Aquicultura na Amazônia: Estudos Técnico-Científicos e Difusão de Tecnologias, p. 277-293, 2021.

TAHIR, R.; AFZAL, F.; LIANG, J.; YANG, S. **Novel protective aspects of dietary polyphenols against pesticidal toxicity and its prospective application in rice-fish mode: A Review.** Fish & Shellfish Immunology, v. 146, p. 109418, 2024.

TIAN, J.; YANG, Y.; DU, X.; XU, W.; ZHU, B.; HUANG, Y.; YE, Y.; ZHAO, Y.; LI, Y. **Effects of dietary soluble β -1,3-glucan on the growth performance, antioxidant status, and immune response of the river prawn (*Macrobrachium nipponense*).** Fish & Shellfish Immunology, v.3, p. 108848, 2023.

VASCONCELOS, T. B.; CARDOSO, A. R. N. R.; JOSINO, J. B.; MACENA, R. H. M.; BASTOS, V. P. D. **Radicais Livres e Antioxidantes: Proteção ou Perigo?** UNOPAR Cient Ciên Biol Saúde, v. 16, n. 3, 2014.

VELLOSA, J. C. R.; BIAVATTI, M.; FRANÇÓIA, P. C. O.; MELLO, B. J. **Estresse oxidativo: uma introdução ao estado da arte.** Brazilian Journal of Developmente, vol. 7, n. 1, p. 10152-10168, 2021.

VICENTE, I. S. T.; ELIAS, F.; FOSENCA-ALVES, C. E. **Perspectivas da produção de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) no Brasil.** Revista de Ciências Agrárias, v. 37, n. 4, 2014.

VINAGRE, C.; MADEIRA, D.; NARCISO, L.; CABRAL, H. N.; DINIS, M. **Effect of temperatura on oxidative stress in fish: Lipid peroxidation and catalase activity in the muscle of juvenile seabass, *Dicentrarchus labrax*.** Ecological Indicators, v. 23, p. 274-279, 2012.

XAVIER, W. S. **Avaliação da capacidade antioxidante e do desempenho produtivo da tilápia-do-Nilo alimentada com concentrado de melão.** 2019.

ZAINE, L.; MONTI, M.; VASCONCELLOS, R. S.; CARCIOFI, A. C. **Nutracêuticos imunomoduladores com potencial uso clínico para cães e gatos.** Semina: Ciências Agrárias, v. 35, n. 4, p. 2513-2530, 2014.

ZHAO, H.; ZHANG, R.; YAN, X.; FAN, K. **Nanozimas de superóxido dismutase: uma estrela emergente para a antioxição.** Revista de Química de Materiais B: Edição 35, v. 9, p. 6921-7280, 2021.