

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 27/02/2022.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Influência do metabolismo de aminoácidos
no sistema imunológico e defesa
antioxidante de tilápias do Nilo
(*Oreochromis niloticus*)**

Luana Camargo Sousa

Dracena, SP
2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Influência do metabolismo de aminoácidos
no sistema imunológico e defesa
antioxidante de tilápias do Nilo
(*Oreochromis niloticus*)**

Luana Camargo Sousa

Orientador: Dr. Leonardo Susumu Takahashi

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

Dracena, SP.
2020

S725i Sousa, Luana Camargo
Influência do metabolismo de aminoácidos no sistema
imunológico e defesa antioxidante de tilápias do Nilo
(*Oreochromis niloticus*) / Luana Camargo Sousa. – – Jaboticabal, 2020
96 p. : il.; tabs.; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de
Aquicultura, 2020
Orientador: Dr. Leonardo Susumu Takahashi
Banca examinadora: Dr. Leonardo S. Takahashi; Dra. Amália Pérez-
Jímenez; Dr. Fabio E. Mingatto; Dr. Paulo R. M. Lopes; Dr. Leonardo
Zanetti.

Bibliografia

1. Nutrição. 2. Imunidade. 3. Sêmen. 4. Estresse Oxidativo. 5. Enzimas
Antioxidantes. I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 636.3.043

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

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Influência do metabolismo de aminoácidos no sistema imunológico e defesa antioxidante de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

AUTORA: LUANA CAMARGO SOUSA

ORIENTADOR: LEONARDO SUSUMU TAKAHASHI

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

Prof. Dr. LEONARDO SUSUMU TAKAHASHI

Departamento de Produção Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena

Prof. Assoc. FÁBIO ERMINIO MINGATTO

Curso de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena

Profa. Dra. AMÁLIA PÉREZ JIMÉNEZ

Depto de Zoologia / Universidad de Granada, Granada, Espanha

Prof. Dr. LEONARDO HENRIQUE ZANETTI

Depto de Ciências Agrárias / Universidade do Oeste Paulista, UNOESTE

Prof. Dr. PAULO RENATO MATOS LOPES

FCAT / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena - UNESP

Jaboticabal, 27 de fevereiro de 2020

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE TABELAS	9
LISTA DE ABREVIACÕES	10
DEDICATÓRIA	1
AGRADECIMENTOS	2
APOIO FINANCEIRO	4
RESUMO GERAL.....	5
ABSTRACT	6
INTRODUÇÃO GERAL	7
CAPÍTULO I - REVISÃO DE LITERATURA.....	9
1. Importância dos aminoácidos em dietas para peixes.....	9
2. Sistema imune e lipopolissacarídeo em peixes.....	16
3. Aminoácidos e imunidade em peixes.....	17
3. Sistema antioxidante em peixes	19
4. Aminoácidos e sistema antioxidantes em peixes.....	22
REFERÊNCIAS	25
CAPÍTULO II: Deficiência de aminoácidos essenciais em tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>): modulação do sistema imune e sistema antioxidante enzimático.....	32
RESUMO	32
ABSTRACT	33
INTRODUÇÃO	34
MATERIAL E MÉTODOS.....	36
1. Instalações e manejo.....	36
2. Delineamento e dietas experimentais	36
3. Coleta de material biológico.....	40
4. Variáveis analisadas.....	40
4.1 Indicadores do sistema imune não específico	40
4.1.1 Atividade respiratória de leucócitos.....	40
4.1.2 Atividade de lisozima	41
4.1.3 Atividade hemolítica do complemento - via alternativa	41
4.2 Enzimas do sistema antioxidante.....	42
4.2.1 Processamento das amostras	42

4.2.2 Superóxido dismutase (SOD)	43
4.2.3 Catalase (CAT)	43
4.2.3 Glutathione peroxidase (GPx)	43
5. Análises estatísticas.....	44
RESULTADOS.....	44
1. Indicadores do sistema imune não específico	44
2. Enzimas antioxidantes.....	46
DISCUSSÃO	47
CONCLUSÃO	52
REFERÊNCIAS	53
CAPÍTULO III: Efeito dos níveis dietéticos de histidina nas defesas inata antioxidante em juvenis de tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) desafiados com lipopolissacarídeo.....	57
RESUMO	57
ABSTRACT	58
INTRODUÇÃO.....	59
MATERIAL E MÉTODOS.....	61
1. Instalações e manejo	61
2. Delineamento e dietas experimentais	61
3. Desafio com Lipopolissacarídeo (LPS).....	64
4. Coleta de material biológico.....	64
5. Variáveis analisadas	64
5.1 Indicadores do Sistema Imune não específico	64
5.1.1 Atividade respiratória de leucócitos.....	64
5.1.2 Atividade de lisozima	65
5.1.3 Atividade hemolítica do complemento - via alternativa	66
5.2 Estresse Oxidativo.....	66
5.2.1 Processamento das amostras	66
5.2.2 Superóxido Dismutase (SOD)	67
5.2.3 Catalase (CAT)	67
5.2.4 Glutathione Peroxidase (GPx)	67
5.2.5 Glutathione reduzida (GSH) e oxidada (GSSG)	67
5.2.6 Estado oxidativo dos nucleotídeos de piridina (NAD(P)H)	68
5.2.7 Avaliação da concentração de malondialdeído (MDA).....	68
6. Análises Estatísticas	69

RESULTADOS.....	69
DISCUSSÃO	77
CONCLUSÃO	81
REFERÊNCIAS	82

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fórmula estrutural de um alfa-aminoácido.	11
Figura 2. Importância dos aminoácidos no metabolismo de teleósteos.	18
Figura 3. Atividade respiratória de leucócitos (média $\pm$ EP, n=6) de tilápias do Nilo (<i>O. niloticus</i>) alimentadas com dietas deficientes em aminoácidos essenciais. Letras maiúsculas indicam diferença significativa entre as dietas experimentais.	44
Figura 4. Atividade da lisozima (média $\pm$ EP, n=6) de tilápias do Nilo (<i>O. niloticus</i>) alimentadas com dietas deficientes em aminoácidos essenciais. Letras maiúsculas indicam diferença significativa entre as dietas experimentais.	45
Figura 5. Atividade hemolítica do complemento (média $\pm$ EP, n=6) de tilápias do Nilo (<i>O. niloticus</i>) alimentadas com dietas deficientes em aminoácidos essenciais. Letras maiúsculas indicam diferença significativa entre as dietas experimentais.	46
Figura 6. Atividade hepática da enzima catalase (média $\pm$ EP, n=6) de tilápias do Nilo (<i>O. niloticus</i>) alimentadas com dietas deficientes em aminoácidos essenciais.	46
Figura 7. Atividade hepática da enzima glutathione peroxidase (média $\pm$ EP, n=6) de tilápias do Nilo (<i>O. niloticus</i>) alimentadas com dietas deficientes em aminoácidos essenciais. Letras maiúsculas indicam diferença significativa entre as dietas experimentais.	47
Figura 8. Atividade hepática da enzima superóxido dismutase (média $\pm$ EP, n=6) de tilápias do Nilo (<i>O. niloticus</i>) alimentadas com dietas deficientes em aminoácidos essenciais. Letras maiúsculas indicam diferença significativa entre as dietas experimentais.	47
Figura 9. Atividade da lisozima sérica dos juvenis de tilápia (<i>O. niloticus</i>) alimentados com diferentes níveis de inclusão de histidina na dieta. Letras minúsculas indicam diferença significativa entre desafio e maiúsculas entre tratamentos pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$)	73
Figura 10. Atividade hepática da enzima superóxido dismutase dos juvenis de tilápia (<i>O. niloticus</i>) alimentados com diferentes níveis de inclusão de histidina na dieta. Letras minúsculas indicam diferença significativa entre desafio e maiúsculas entre tratamentos pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$)	73
Figura 11. Atividade hepática da enzima catalase dos juvenis de tilápia (<i>O. niloticus</i>) alimentados com diferentes níveis de inclusão de histidina na dieta. Letras minúsculas indicam diferença significativa entre desafio e maiúsculas entre tratamentos pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$)	74
Figura 12. Atividade hepática da enzima glutathione peroxidase dos juvenis de tilápia (<i>O. niloticus</i>) alimentados com diferentes níveis de inclusão de histidina na dieta. Letras minúsculas indicam diferença significativa entre desafio e maiúsculas entre tratamentos pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$)	74
Figura 13. Atividade da lipoperoxidação (MDA) dos juvenis de tilápia (<i>O. niloticus</i>) alimentados com diferentes níveis de inclusão de histidina na dieta. Letras minúsculas indicam diferença significativa entre desafio e maiúsculas entre tratamentos pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$)	75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estimativa das exigências de proteína e aminoácidos essenciais para tilápias do Nilo (<i>O. niloticus</i>) em diferentes fases de desenvolvimento com base na matéria natural.....	10
Tabela 2. Aminoácidos essenciais e não essenciais para peixes e suas respectivas abreviações.	12
Tabela 3. Principais espécies reativas de oxigênio e suas atividades	20
Tabela 4. Enzimas do sistema antioxidante, sua ação biológica e seus principais locais de ação.....	20
Tabela 5. Formulação (g/kg) das dietas experimentais com base na matéria natural. 38	
Tabela 6. Composição química calculada (g/kg) com base na matéria seca das onze dietas experimentais.	39
Tabela 7. Formulação e composição química das dietas experimentais.....	63
Tabela 8. Valores médios e valores de P dos parâmetros biométricos, imunológicos e atividades de enzimas antioxidantes dos juvenis de tilápia (<i>O. niloticus</i>) após 60 dias de alimentação com diferentes inclusões de histidina na dieta e desafio com LPS.....	72
Tabela 9. Valores médios e valores de P dos indicadores de estresse oxidativo dos juvenis de tilápia (<i>O. niloticus</i>) após 60 dias de alimentação com diferentes inclusões de histidina na dieta e desafio com LPS.	76

LISTA DE ABREVIações

AA	Aminoácidos
AAE	Aminoácidos essenciais
ALA	Alanina
ANOVA	Análise de variância
ASN	Asparagina
ARG	Arginina
ASP	Aspartato
BURST	Atividade respiratória de leucócitos
C	Carbono
CAT	Catalase
CYS	Cisteína
DMF	Dimetilformamida
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DO	Densidade óptica
EDTA	Ácido etilenodiamino tetracético
EGTA	Ácido etilenoglicol tetracético
EP	Erro padrão
ERO	Espécies reativas de oxigênio
ERN	Espécies reativas de nitrogênio
GLY	Glicina
GLN	Glutamina
GLU	Glutamato
GPx	Glutathione peroxidase
GSH	Glutathione reduzida
GSH-Rd	Glutathione redutase
H	Hidrogênio
HIS	Histidina
ILE	Isoleucina
LEU	Leucina
LPS	Lipopolissacarídeo
LYS	Lisina
MET	Metionina

N	Nitrogênio
NADPH	nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
NAH	N-acetil histidina
NBT	Nitroblue tetrazolium
O	Oxigênio
PB	Proteína bruta
PD	Proteína digestível
PHE	Fenilalanina
PRO	Prolina
R	Cadeia lateral do aminoácido
SAS	Statistical analysis system
SER	Serina
SOD	Superóxido dismutase
THR	Treonina
TRP	Triptofano
TYR	Tirosina
VAL	Valina

DEDICATÓRIA

Dedico a minha avó materna, Ramona Camargo de Aguiar, *in memoriam*. A ela todo meu amor e gratidão.

“Eu abri mão de muitos momentos com minha avó pelo objetivo de estudar e aprender nesses longos dez anos de caminhada até aqui. E a maior incentivadora do meu sonho sempre foi ela.

O braço direito dos meus objetivos, a mulher que sempre viveu a minha causa. Eu tenho certeza que não teria chego até aqui sem o apoio e o amor incondicional da minha avó por mim. Eu serei eternamente grata por cada abraço consolador que ela me deu, cada palavra de incentivo, cada momento de descontração e toda ajuda emocional e financeira que ela me forneceu. Se hoje tenho amor, princípios, honestidade, caráter, simplicidade, compaixão e objetivos na vida foi porque ela sempre foi a melhor escola que eu tive na vida. Você é meu motivo de orgulho vovó, e eu dedico essa singela lembrança por tudo que me proporcionou em vida. Tenho certeza que te orgulharei muito ainda. Um dia nos encontraremos.

Com amor.”

Sua neta.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, por guiar meus passos, e pelas graças concedidas todos os momentos da minha vida.

Aos meus pais, por me proporcionarem sempre o melhor incentivo, apoio, conselho e guiarem meus passos, nunca permitindo que me sentisse só.

A minha avó (in memoriam) que sempre esteve ao meu lado nos momentos mais difíceis e que tenho absoluta certeza que me abençoa e protege onde estiver.

A minha irmã por sempre disponibilizar seus ouvidos, sua paciência e seus grandes conselhos a mim, sendo meu maior exemplo de vida e de amor.

Ao meu namorado pela paciência, companheirismo e amor todos esses anos, principalmente nos momentos mais difíceis que passamos. Você sempre esteve do meu lado e isso é muito importante para mim, me fortalece a continuar cada dia mais.

A todos os meus amigos Beatriz Gabardo, Danielle Floriano Fachioli, Patricia Luz, Leonardo Zanetti, Viviane Nascimento Santana de Almeida, Adriane Federici Bido, Márcio Kazuaki Kishimoto, Sandie Barbosa, Gabriela Carli e André Nascimento por sempre serem compreensivos com a minha personalidade, e mesmo assim continuarem me apoiando e me incentivando, e principalmente por todos os conselhos levados a mim, todas as palavras de incentivo e todos os momentos de descontração que sempre foram importantíssimos para mim.

Aos grandes amigos e colegas do GAUD, Grupo de Aquicultura da UNESP de Dracena, que mais que companheiros de trabalho, se tornaram grandes amigos pessoais e grandes incentivadores do meu trabalho, estando sempre ali com uma palavra amiga para confortar nos momentos de dificuldade e por me proporcionarem muitos momentos divertidos que lembrarei com muito carinho sempre.

A turma do LANUMA, laboratório de Nutrição e Metabolismo Animal. Obrigada por sermos mais que uma equipe. Obrigada pela amizade e parceria todos esses anos. Vocês serão eternamente importantes para mim.

Ao Professor Dr. Leonardo Susumu Takahashi por toda orientação durante esses seis anos de parceria, e mais do que toda orientação acadêmica, agradeço pela amizade e pelo carinho comigo todos esses anos. Professor: aprendi muito sobre como ser uma pessoa melhor com você! Obrigada por isso. Espero ser no futuro para alguém um pouquinho do que você representa pra mim hoje! OBRIGADA de todo meu coração.

À Professora Amalia Pérez-Jímenez por todo auxílio durante o período de análises laboratoriais, sendo sempre muito atenciosa e amorosa! O meu maior agradecimento é a ela por toda ajuda prestada a mim mesmo estando longe fisicamente.

Ao Professor Fábio Erminio Mingatto pela disponibilidade em me acompanhar e me ensinar alguns procedimentos para novas análises referentes ao meu projeto, que só

engrandeceram e contribuíram de forma positiva com a minha formação acadêmica, além de toda contribuição com as sugestões na banca examinadora de qualificação, sempre muito pertinentes e muito carinhosas.

Ao Professor Paulo Lopes por me acompanhar desde o Mestrado, e sempre ser tão atencioso e solícito comigo. A todas as suas considerações na qualificação e todos esses anos de parceria que pude conviver junto dele.

Ao Professor Dr. João Batista Kochenborger Fernandes por me permitir participar dos seus projetos, e as suas alunas Andressa e Thaís por terem desenvolvido os experimentos no CAUNESP.

A todos os Professores Doutores da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas do Campus de Dracena e da Faculdade de Engenharia do Campus de Ilha Solteira, por todo auxílio científico à minha pesquisa, e principalmente todo carinho, conselhos, respeito e compreensão de “pais e mães” durante todos esses anos.

Aos membros da banca pela disponibilidade de estarem presentes na defesa, e principalmente por cada contribuição, sugestão e dicas valiosas ao engrandecimento do nosso trabalho.

A Tarsilaine, secretária da coordenação do curso de Zootecnia da FCAT, por todo apoio e carinho, e por ter se tornado uma grande amiga e uma grande incentivadora todos esses anos.

Aos técnicos de laboratório Wanderson, Edson, Andréia, Ariane, Heloísa, Miriam, Seu João e Lucas da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas do Campus de Dracena, por toda ajuda na realização das minhas análises e por serem sempre fiéis conselheiros de vida.

Ao CNPq pela bolsa de Doutorado, que sem o qual nada disso poderia ter sido feito.

MUITÍSSIMO OBRIGADA.

APOIO FINANCEIRO

FAPESP, recurso proveniente do Projeto Temático ao qual este trabalho está vinculado (Processo nº 2013/25761-4).



CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.
Bolsa de Doutorado.



RESUMO GERAL

Os aminoácidos e seus metabólitos são importantes reguladores das principais vias metabólicas dos peixes, essenciais para manutenção, crescimento, reprodução, comportamento, imunidade e resistência a diversos agentes estressores. Nesse sentido, os objetivos dos trabalhos foram avaliar a influência que uma dieta deficiente em aminoácidos essenciais exerce na capacidade imune e oxidativa de tilápias do Nilo (*O. niloticus*) em fase de terminação, e averiguar a reposta imunológica e oxidativa de juvenis de tilápia alimentados com dieta contendo níveis crescentes de inclusão do aminoácido histidina desafiados com lipopolissacarídeo. Ao todo foram utilizadas 774 tilápias (264 em fase de terminação e 510 juvenis) em dois experimentos distintos com delineamentos inteiramente ao acaso. No primeiro ensaio foram avaliadas 11 dietas experimentais (controle e dietas deficientes em cada um dos dez aminoácidos essenciais) em variáveis do sistema imune não específico e atividade hepática de enzimas do sistema antioxidante de tilápias, e o segundo, os níveis de inclusão de histidina na dieta sobre as mesmas variáveis, em juvenis de tilápias desafiados com lipopolissacarídeo. Os resultados mostraram que dietas deficientes em aminoácidos essenciais influenciam na capacidade imunomodulatória e oxidativa de tilápias em terminação, e o nível ideal de inclusão de histidina na dieta pode potencializar essas capacidades frente a um desafio. Investigar o efeito do metabolismo de aminoácidos no potencial imunológico e oxidativo de tilápias pode ser uma ferramenta no auxílio de formulação de dietas nutricionalmente balanceadas que possibilitem melhor estado de saúde aos peixes.

Palavras-chave: nutrição, imunidade, estresse oxidativo, enzimas.

ABSTRACT

Amino acids and their metabolites are important regulators of the main metabolic pathways of fish, essential for maintenance, growth, reproduction, behavior, immunity and resistance to various stressors. In this sense, the objectives of the works were to evaluate the influence that a diet deficient in essential amino acids has on the immune and oxidative capacity of Nile tilapia (*O. niloticus*) in the process of termination, and also to investigate the immune and oxidative response of juvenile tilapia fed a diet containing increasing levels of inclusion of the amino acid histidine challenged with lipopolysaccharide. In total, 774 tilapia (264 in the finishing phase and 510 juveniles) were used in two different experiments with completely randomized designs. In the first trial, 11 test diets (control and diets deficient in each of the ten essential amino acids) were evaluated on non-specific immune system variables and liver activity of tilapia antioxidant system enzymes, and the second, the levels of inclusion of histidine in the diet on the same variables, in tilapia juveniles challenged with lipopolysaccharide. The results show that diets deficient in essential amino acids influence the immunomodulatory and oxidative capacity of finishing tilapia, and the ideal level of histidine inclusion in the diet can enhance these capacities in the face of a challenge. Investigating the effect of amino acid metabolism on the immune and oxidative potential of tilapia can be a tool in helping to formulate nutritionally balanced diets that enable better health for fish.

Keywords: nutrition, immunity, oxidative stress, enzymes.

INTRODUÇÃO GERAL

A piscicultura brasileira é uma atividade em constante crescimento e com elevado potencial de cultivo devido à disponibilidade dos recursos hídricos do país, às dimensões continentais, ao clima tropical, à diversidade de espécies e ao empreendedorismo dos produtores. O desempenho produtivo do Brasil no ano de 2018 foi bastante positivo, principalmente quando comparado às outras proteínas de origem animal, atingindo a marca de 722.560 toneladas, representando um crescimento de 4,5% comparado ao ano anterior (PEIXE BR, 2019).

Diretamente relacionadas ao nível de produtividade e eficiência econômica dos sistemas de cultivo, tanto no Brasil como nos demais países, a nutrição e a alimentação exercem um papel fundamental na manutenção da saúde dos peixes, influenciando diretamente no desempenho produtivo e na qualidade nutricional da carne (LUNDSTEDT, RODRIGUES e MORO, 2016).

Estudos referentes à nutrição dos peixes são desafiadores uma vez que existe uma diversidade de espécies, cada qual com suas particularidades morfofisiológicas e comportamentais, além dos inúmeros fatores que influenciam suas necessidades nutricionais, como fase de crescimento, sexo, linhagem, estado fisiológico, regime de produção e condições ambientais (FRACALOSSO et al., 2012)

Diante da diversidade de peixes criados comercialmente, as principais espécies cultivadas no Brasil se destacam pelas altas taxas de crescimento, principalmente na piscicultura continental, sendo a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) a espécie predominante na produção aquícola nacional. No ano de 2018, a tilápia (*O. niloticus*) alcançou um total de produção de 400.280 toneladas, representando um crescimento de 11,9% (357.639 t em 2017). Com esse desempenho, a espécie representa 55,4% da produção total de peixes de cultivo no Brasil (PEIXE BR, 2019).

A espécie *O. niloticus* necessita de diversos nutrientes adequados para seu crescimento, reprodução e saúde, bem como: energia para crescimento e manutenção do metabolismo basal; aminoácidos essenciais para formação de tecidos e proteínas; ácidos graxos para suporte energético e composição de membrana; minerais para formação óssea e vitaminas, para ativação enzimática em diversos processos metabólicos (KUBITZA, 1999).

O sucesso da produção de peixes dependerá da quantidade e da qualidade de alimento fornecido através da dieta para suprir essas demandas metabólicas da espécie que se deseja cultivar. Sendo a proteína um dos nutrientes de maior custo na

alimentação dos peixes, conhecer a exigência nutricional e principalmente o balanço de aminoácidos para cada espécie, favorece um maior crescimento e uma melhor condição de saúde aos peixes cultivados (PEZZATO, BARROS e FURUYA, 2009).

Embora as doenças sejam consideradas parte dos processos biológicos normais, elas podem se tornar um problema sério na aquicultura. Portanto, como a piscicultura é uma indústria de rápido crescimento, há uma necessidade urgente de investigar e controlar doenças, além de entender profundamente a imunidade dos peixes. Atualmente, é amplamente aceito que abordagens nutricionais são essenciais para aliviar doenças entre animais aquáticos de criação. Em particular, estratégias imunonutricionais têm sido estudadas para destacar a importância de aminoácidos individuais como nutracêuticos para os peixes de cultivo. Ainda, conhecer as respostas hematológicas e imunológicas para diferentes dietas fornecidas às tilápias pode ser uma ferramenta favorável à formulação de dietas nutricionalmente balanceadas, uma vez que muitas dietas comerciais possuem níveis proteicos subestimados (AZEREDO et al., 2017).

Diante do exposto, o objetivo geral do trabalho foi avaliar o efeito do metabolismo de aminoácidos essenciais no sistema imunológico e nas defesas antioxidantes em tilápia do Nilo (*O. niloticus*); e os objetivos específicos foram determinar a relação dos principais aminoácidos limitantes na dieta nas defesas antioxidantes enzimáticas e imunes em tilápias do Nilo (*O. niloticus*) em fase de terminação (Capítulo II), e analisar a influência dos níveis de histidina na dieta na resposta imune e defesas antioxidantes de juvenis de tilápia do Nilo (*O. niloticus*) desafiados com lipopolissacarídeos (LPS) (Capítulo III).

CONCLUSÃO

A suplementação de 0,74% histidina na dieta contribuiu para a melhora da atividade da lisozima, além das enzimas superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase, principalmente após as tilápias serem submetidas ao desafio com lipopolissacarídeo. A histidina exerce influência positiva sobre o sistema imune e defesas oxidativas de juvenis de tilápia. Entretanto, a inclusão de níveis muito acima da exigência da espécie podem comprometer as capacidades de defesa inata e oxidativa.

REFERÊNCIAS

- AEBI, H. (1984) Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**, v. 105, p. 121–126.
- AFONSO, A.; LOUSADA, S.; SILVA, J.; ELLIS, A. E.; SILVA, M. T. (1998). Neutrophil and macrophage responses to inflammation in the peritoneal cavity of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. A light and electron microscopic cytochemical study. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 34, p. 27–37.
- AKIYAMA, T., ARAI, S., MURAI, T., & NOSE, T. (1985). Threonine, histidine and lysine requirements of chum salmon fry. **Nippon Suisan Gakkaishi**, v. 51, p. 635–639.
- BAI, S. C.; GATLIN, D. M. (1994). Effects of L-lysine supplementation of diets with different protein levels and sources on channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). **Aquaculture and Fisheries Management**, v.25, p.465-474.
- BARTON, G. M. (2008). A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 118, p. 413-420.
- BILLER-TAKAHASHI, J. D.; TAKAHASHI L. S.; MARZOCCHI-MACHADO, C. M.; ZANUZZO, F. S.; URBINATI, E. C. (2012). Hemolytic activity of alternative complement system as an indicator of innate immunity in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 2, p. 237-241.
- BILLER-TAKAHASHI, J. D., TAKAHASHI, L. S., SAITA, M. V., GIMBO, R. Y.; URBINATI, E. C., (2013). Leukocytes respiratory burst activity as indicator of innate immunity of pacu *Piaractus mesopotamicus*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 73, n. 2.
- BILLER-TAKAHASHI, J. D., TAKAHASHI, L.S., MINGATTO, F. E., URBINATI, E.C. (2015). The immune system is limited by oxidative stress: Dietary selenium promotes optimal antioxidative status and greatest immune defense in pacu *Piaractus mesopotamicus*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 47, p. 360-367.
- BLAZER, V. (1992). Nutrition and disease resistance in fish. **Annual Review of Fish Diseases**, v. 2, p. 309-323.
- BUEGE, J. A.; AUST, S. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. **Methods Enzymology**, v. 52, p. 302-310, 1978
- CHEVION, M. (1988). A site-specific mechanism for free radical induced biological damage: the essential role of redox active transition metals. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 5, p. 27–37.
- CONCEICAO, L. E. C.; ARAGAO, C.; DIAS, J.; COSTAS, B.; TEROVA, G.; MARTINS, C.; TORT, L. (2012). Dietary nitrogen and fish welfare. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 38, p. 119-141.
- DAVIES, S.J.; MORRIS, P.C.; BAKER, R.T. (1997). Partial substitution of fish meal and full-fat soya bean meal with wheat gluten and influence of lysine supplementation in diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Aquaculture Research**, v.28, p. 317-328.
- DIÓGENES, A. F., FERNANDES, J. B. K., DORIGAM, J.C.P., SAKOMURA, N. K., RODRIGUES, F. H. F., LIMA, AND B. T. M., GONÇALVES, F. H. (2016): Establishing the optimal essential amino acid ratios in juveniles of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by the deletion method, **Aquaculture Nutrition**, v. 22, p. 435-443.
- DO VALE, A.; AFONSO, A.; SILVA, M. T. (2002). The professional phagocytes of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): cytochemical characterisation of neutrophils and macrophages in the normal and inflamed peritoneal cavity. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 13, p. 183-198.
- ELLIS, A. E. (1999). Immunity to bacteria to fish. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 9, p. 291-308.
- ELLIS, A. E. (2001). Innate host defense mechanisms of fish against viruses and bacteria. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 25, p. 827-839.

- ERICKSON, M. C.; HULTIN, H. O. (1988) A unique role of histidine in Fe-catalyzed lipid oxidation by fish sarcoplasmic reticulum. **Oxygen Radicals in Biology and Medicine**, v. 49, p. 307–312.
- ERICKSON, M. C.; HULTIN, H. O. (1992) Influence of histidine on lipid peroxidation in sarcoplasmic reticulum. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 292, p. 427–432.
- FARHAT, M. A. K. (2013) Effects of varying levels os dietary L-histidine on growth, feed conversion, protein gain, histidine retention, hematological and body composition in fingerling stinging catfish *Heteropneustes fossilis* (Block). **Aquaculture**, v. 404-405, p. 130-138.
- FENG, L.; ZHAO, B.; CHEND, G.; JIANG, W.; LIU, Y.; JIANG, J.; HU, K.; LI, S.; ZHOU, X. (2013) Effects of dietary histidine on antioxidant capacity in juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 39, p. 559-571.
- FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. (1997). Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação de Medicina do Brasil**, v. 43, p. 61-68.
- FURUYA, W. M.; PEZZATO, L. E.; BARROS, M. M.; PEZZATO, A. C. (2004). Use of ideal protein concept for precision formulation of amino acid levels in fish-meal-free diets for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **Aquaculture Research**, v.35, p.1110-1116.
- FURUYA, W. M. (2010). **Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias**. Toledo: GFM. 100p.
- HABTE-TSION, H. M., REN, M., LIU, B., GE, X., XIE, J., & CHEN, R. (2016). Threonine modulates immune response, antioxidant status and gene expressions of antioxidant enzymes and antioxidant-immunecytokine-related signaling molecules in juvenile blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 51, p. 189–199.
- HAN, Y.; KOSHIO, S.; ISHIKAWA, M.; YOKOYAMA, S. (2013). Interactive effects of dietary arginine and histidine on the performances of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* juveniles. **Aquaculture**, v. 414-415, p. 173-182.
- HISSIN, P.J.; HILF, R. (1976). A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. **Analytical Biochemistry**, v. 74, p. 214-226.
- JONES, A. L.; HULETT, M. D.; PARISH, C. R. (2005) Histidine-rich glycoproteins: a novel adaptor protein in plasma that modulates the immune, vascular and coagulation systems. **Immunology and Cell Biology**, v. 83, p. 106–118.
- KLEIN, J. (1990) **Immunology**. Massachusetts: Blackwell Scientific Publications Inc. p.311 -334.
- KONASHI, S.; TAKAHASHI, K.; AKIBA, Y. (2000) Effects of dietary essential amino acid deficiencies on immunological variables in broiler chickens. **The British Journal of Nutrition**, v. 83, p. 449–456.
- LI, P., YIN, Y.-L., LI, D., WOO KIM, S., WU, G., 2007. Amino acids and immune function. **The British Journal of Nutrition**. v. 98, p. 237–252.
- LI, P.; MAI, K.; TRUSHENSKI, J.; WU, G. (2009). New developments in fish amino acid nutrition: towards functional and environmentally oriented aquafeeds. **Amino Acids**. v. 37, p. 43-53.
- LIN, F., BO, Z., CHEN, G., JIANG, W., YANG, L., JIANG, J.; ZHOU, X. (2013). Effects of dietary histidine on antioxidant capacity in juvenile jian carp (*Cyprinus carpio*, var. Jian). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 39, p. 559-571.
- LIU, W. H.; LIU, T. C.; YIN, M. C. (2008). Beneficial effects of histidine and carnosine on ethanol-induced chronic liver injury. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 1503–1509.
- MICHELATO, M., ZAMINHAN, M., BOSCOLO, W. R., NOGAROTO, V., VICARI, M., ARTONI, R. F., FURUYA, V. R. B., AND FURUYA, W. M. (2017): Dietary histidine requirement of Nile tilapia juveniles

based on growth performance, expression of muscle-growth-related genes and haematological responses, **Aquaculture**, v. 467, p. 63-70.

MOURENTE, G.; BELL, J. G.; TOCHER, D. R. (2007) Does dietary tocopherol level affect fatty acid metabolism in fish? **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 33, p. 269–280.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC) (1993). *Nutrient Requirements of Fish*. Washington, DC: National Academy Press.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC) (2011). *Nutrient Requirements of Fish and Shrimp*, Committee on the Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. Washington DC, USA: The National Academies Press.

PARRY, Jr. R. M.; CHANDAN, C. R.; SHAHANI, M. K. (1965). A rapid and sensitive assay of muramidase. **Experimental Biology and Medicine**.

PAULSEN, S. M.; LUNDE, H.; ENGSTAD, R. E.; ROBERTSEN, B. (2003). In vivo effects of Bglucan and LPS on regulation of lysozyme activity and mRNA expression in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 14, p. 39- 54.

PÉREZ-JIMÉNEZ, A., HIDALGO, M.C., MORALES, A.E., ARIZCUN, M., ABELLÁN, E., CARDENETE, G. (2009). Antioxidant enzymatic defenses and oxidative damage in *Dentex dentex* fed on different dietary macronutrient levels. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, 150, 537-545.

RAHMAN I, MACNEE W (2000) Oxidative stress and regulation of glutathione in lung inflammation. **The European Respiratory Journal**, v. 16, p. 534–554.

RIEGER, A. M.; BARREDA, D. R. (2011). Antimicrobial mechanisms of fish leukocytes. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 35, p. 1238-1245.

SANTIAGO, C. B.; LOVELL, R. T. (1988). Amino acid requirements for growth of Nile tilapia. **Journal of Nutrition**, v. 118, p. 1540-1546.

SAURABH, S.; SAHOO, P. K. (2008). Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system. **Aquaculture Research**, v. 39, p. 223–239.

SECOMBES, C. J. (1996). The nonspecific immune system: cellular defense. In: IWAMA G, NAKANISHI T, editors. *The fish immune system*. San Diego, USA: **Academic Press** Inc; 1-378.

SMOLELIS, A. N.; HARTSELL, S. E. (1949). The determination of lysozyme. **Journal of Bacteriology**, v.58, p.731-736.

TANAKA S & ICHIKAWA A (2006) Recent advances in molecular pharmacology of the histamine systems: immune regulatory roles of histamine produced by leukocytes. **Journal of Pharmacological Sciences**, v. 101, p. 19–23.

UCHIDA, K. (2003) Histidine and lysine as targets of oxidative modification. **Amino Acids**, v. 25, p. 249–257.

WANG, B., FENG, L., CHEN, G. F., JIANG, W. D., LIU, Y., KUANG, S. Y. ZHOU, Z. Q. (2016). Jian carp (*Cyprinus carpio* var. jian) intestinal immune responses, antioxidant status and tight junction protein mRNA expression are modulated via nrf2 and pkc in response to dietary arginine deficiency. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 51, p. 116–124.

WON, K. M.; KIM, S. M.; PARK, S. I. (2004). The effects of b-1, 3/1,6-linked glucan in the diet on immune responses of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* by oral administration. **Journal of Fish Pathology**, v. 17, p. 29–38.

YANG, Q.; LIANG, H.; MOKRANI, A.; JI, K.; YU, H.; GE, X.; REN, X.; XIE, J.; PAN, L.; SUN, A. (2018). Dietary histidine affects intestinal antioxidant enzyme activities, antioxidant gene expressions and

inflammatory factors in juvenile blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*). **Aquaculture Nutrition**, v. 25, p. 249-259.

ZHAO, B., FENG, L., LIU, Y., KUANG, S.-Y., TANG, L., JIANG, J., ... ZHOU, X.-Q. (2012). Effects of dietary histidine levels on growth performance, body composition and intestinal enzymes activities of juvenile jian carp (*cyprinus carpio* var. jian). **Aquaculture Nutrition**, v. 18, p. 220–232.

ZHOU, Q., JIN, M., ELMADA, Z. C., LIANG, X., & MAI, K. (2015). Growth, immune response and resistance to aeromonas hydrophila, of juvenile yellow catfish, *pelteobagrus fulvidraco*, fed diets with different arginine levels. **Aquaculture**, v. 437, p. 84–91.