

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Efeito da colina de extrato herbal no  
metabolismo lipídico, sistema antioxidante,  
imunidade e resistência a *Streptococcus  
agalactiae* em tilápias do Nilo alimentadas com  
dietas ricas em amido**

**Thaise Mota Sátiro**

Zootecnista

Jaboticabal, SP

2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Efeito da colina de extrato herbal no metabolismo lipídico, sistema antioxidante, imunidade e resistência a *Streptococcus agalactiae* em tilápias do Nilo alimentadas com dietas ricas em amido**

**Thaise Mota Sátiro**

**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 Doutora em Ciências, área de Aquicultura.

Jaboticabal, SP

2025

S253e Sático, Thaise Mota  
Efeito da colina de extrato herbal no metabolismo lipídico, sistema antioxidante, imunidade e resistência a *Streptococcus agalactiae* em tilápias do Nilo alimentadas com dietas ricas em amido / Thaise Mota Sático. -- Jaboticabal, 2025  
89 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Centro de Aquicultura da Unesp, Jaboticabal  
Orientador: Leonardo Susumu Takahashi

1. Carboidratos na nutrição animal. 2. Colina. 3. Tilápia. 4. Animais doenças. 5. Antioxidante. I. Título.


**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO DA TESE: Efeito da colina de extrato herbal no metabolismo lipídico, sistema antioxidante, imunidade e resistência a *Streptococcus agalactiae* em tilápias do Nilo alimentadas com dietas ricas em amido**


**AUTORA: THAISE MOTA SATIRO**

**ORIENTADOR: LEONARDO SUSUMU TAKAHASHI**


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

Documento assinado digitalmente  
 **LEONARDO SUSUMU TAKAHASHI**  
Data: 24/07/2025 09:44:58-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Prof. Assoc. LEONARDO SUSUMU TAKAHASHI (Participação Presencial) Departamento de Produção Animal / FCAT - UNESP, Dracena/SP

Documento assinado digitalmente  
 **LEONARDO TACHIBANA**  
Data: 24/07/2025 15:04:07-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. LEONARDO TACHIBANA (Participação Presencial) Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Peixes Ornamentais / Instituto de Pesca, IP, São Paulo-SP

Documento assinado digitalmente  
 **WARLEY JUNIOR ALVES**  
Data: 30/07/2025 17:49:00-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. WARLEY JÚNIOR ALVES (Participação Presencial) .Vidara do Brasil

Documento assinado digitalmente  
 **AULUS CAVALIERI CARCIOFI**  
Data: 11/08/2025 16:35:55-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Titular AULUS CAVALIERI CARCIOFI (Participação Presencial) Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, / FCAV-UNESP, Jaboticabal/SP



Documento assinado digitalmente

RAFAEL DE SOUZA ROMANELI

Data: 12/08/2025 16:01:57-0300

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

Dr. RAFAEL DE SOUZA ROMANELI (Participação  
Presencial) Centro de Aquicultura da Unesp, /  
Jaboticabal/SP

Jaboticabal, 23 de julho de 2025

Centro de Aquicultura - Unidade  
Complementar - Jaboticabal - Via  
de Acesso Prof. Paulo Donato  
Castellani, s/nº, 14870000  
<http://www.caunesp.unesp.br/#/pos-graduacao/>

*“Believe in yourself and in all that you are. Know that there is something inside you that is greater than any obstacle”.*

**Christian D. Larson**

**Dedico...**

A Deus e minha família!

Aos meus orientadores por todo apoio e ensinamentos!  
As grandes e preciosas amizades construídas ao longo dessa trajetória foram  
essenciais...

...a vocês **ofereço!**

## AGRADECIMENTOS

A vida sempre nos surpreende. Acredito que, embora cada um faça suas próprias escolhas e essas decisões nos direcionem a determinados caminhos, nada acontece por acaso. Tudo faz parte dos planos de Deus. Muitas vezes, enfrentamos situações que, no momento, parecem difíceis de entender, mas que, com o tempo, fazem total sentido. No fundo, é a fé e a esperança agindo.

Por isso, sou imensamente grata a Deus por cada experiência vivida, pois todas me trouxeram até aqui. Com esforço e dedicação, alcancei este momento, e nada disso seria possível sem saúde, pela qual também agradeço profundamente.

Aos meus pais, Zely Mota e José Carlos, minha eterna gratidão por sempre confiarem em mim e por me transmitirem valores inestimáveis. Obrigado pelo incentivo incondicional aos estudos e pelo apoio, mesmo quando a distância tornava tudo mais difícil. Sei que para vocês também não foi fácil, mas sua firmeza me inspirou e fortaleceu.

Expresso minha profunda gratidão ao professor Leonardo Takahashi, cuja orientação foi fundamental ao longo desses seis anos de trajetória, desde o início do mestrado em 2019. Durante esse período, consolidamos uma relação profissional baseada no respeito, marcada por aprendizado, desafios e enriquecedoras trocas de conhecimento. Sua dedicação, incentivo e suporte constante foram essenciais para meu desenvolvimento acadêmico e pessoal. Sou imensamente grata por todas as oportunidades e ensinamentos compartilhados. Levo comigo essa parceria e admiração para além dos muros da universidade, com sincera gratidão e respeito.

Não posso deixar de citar minha imensa gratidão à minha parceira Gabriela Carli, que esteve ao meu lado em todos os momentos, tanto no campo profissional quanto no pessoal. Sua parceria e amizade foram fundamentais, e espero que essa conexão perdure por toda a vida.

Minha sincera gratidão também ao técnico de campo Luiz Fernando, que se tornou um grande amigo ao longo dessa jornada, assim como aos técnicos Valdecir e Márcio, por todas as conversas, conselhos e apoio ao longo do caminho.

Aos amigos que fiz em Jaboticabal, vocês tornaram meus dias mais leves, alegres e cheios de bons momentos. Não citarei nomes, mas saibam que são parte fundamental dessa caminhada e que levo cada um de vocês comigo.

Ao Grupo de Aquicultura da UNESP de Dracena e Jaboticabal - GAUD e aos demais laboratórios parceiros, minha gratidão por toda colaboração e suporte que tornaram este trabalho possível.

Agradeço também ao Programa de Pós-Graduação do Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (CAUNESP) pelo suporte e estrutura que possibilitaram a realização deste trabalho.

Às empresas Natural Remedies e Vidara, por acreditarem e confiarem neste projeto.

Por fim, agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio fundamental por meio da bolsa concedida, que foi essencial para a realização e conclusão deste doutorado.

Salmo 23: "O Senhor é o meu pastor, nada me faltará.

Deitar-me faz em verdes pastos, guia-me mansamente a águas tranquilas.

Refrigera a minha alma; guia-me pelas veredas da justiça, por amor do seu nome.

Ainda que eu andasse pelo vale da sombra da morte, não temeria mal algum, porque tu estás comigo; a tua vara e o teu cajado me consolam.

Preparas uma mesa perante mim na presença dos meus inimigos, unges a minha cabeça com óleo, o meu cálice transborda.

Certamente que a bondade e a misericórdia me seguirão todos os dias da minha vida; e habitarei na casa do Senhor por longos dias".

## **APOIO FINANCEIRO**

Este estudo foi viabilizado pelo apoio financeiro da Natural Remedies, Bengaluru, Índia. E foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001.

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

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	1
<b>ABSTRACT</b> .....	2
<b>CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS</b> .....	3
<b>1. introdução</b> .....	3
<b>1.1. Colina: estrutura e papel no metabolismo animal</b> .....	4
<b>1.2. Fontes de colina</b> .....	8
<b>1.3. Colina na alimentação de peixes</b> .....	11
<b>1.4. Carboidratos na alimentação de peixes</b> .....	14
<b>2. Hipóteses</b> .....	17
<b>3. Referências</b> .....	17
<b>CAPÍTULO 2 - A colina de extrato herbal atenua os efeitos deletérios de dieta rica em amido em tilápias do Nilo</b> .....	29
<b>Resumo</b> .....	29
<b>Abstract</b> .....	30
<b>1. Introdução</b> .....	31
<b>2. Material e Métodos</b> .....	32
2.1. Declaração de ética .....	32
2.2. Manejo dos animais e condições experimentais.....	32
2.3. Desenho experimental e dietas .....	33
2.4. Coleta de amostras.....	36
2.5. Desempenho de crescimento .....	37
2.6. Metabolitos do sangue.....	37
2.7. Índices somáticos e reservas energéticas .....	38
2.8. Atividade hepática de enzimas das vias metabólicas (glicose-6-fosfato desidrogenase, ácido graxo sintetase e enzima málica) .....	39
2.9. Atividade hepática de enzimas do sistema antioxidante (glutaciona peroxidase, superóxido dismutase e catalase).....	40
3.0. Análise estatística.....	41
<b>4.0. Resultados</b> .....	42
4.1. Desempenho produtivo.....	42
4.2. Metabolitos sanguíneos.....	43
4.3. Índices somáticos e reservas energéticas .....	44
4.4. Atividade hepática de enzimas do sistema antioxidante (glutaciona peroxidase, superóxido dismutase e catalase) .....	47
<b>5. Discussão</b> .....	48
<b>6. Conclusão</b> .....	52
<b>7. Referências</b> .....	52
<b>CAPÍTULO 3 – A colina de extrato herbal modula as respostas fisiológicas e aumenta a resistência da tilápia do Nilo a desafio bacteriano</b> .....	60

<b>Resumo</b> .....	60
<b>Abstract</b> .....	61
<b>1. Introdução</b> .....	62
<b>2. Material e métodos</b> .....	63
2.1. Aprovação ética para uso animal.....	63
2.2. Formulação e preparação das dietas .....	63
2.3. Animais e ambiente experimental.....	66
2.4. Coleta de amostras.....	67
2.5. Análises do sistema antioxidante.....	68
2.6. Análises imunológicas inata.....	69
2.7. Índices bioquímicos e hematológicos .....	70
2.8. Determinação da dose letal-50 (DL <sub>50</sub> ) com <i>S. agalactiae</i> .....	71
2.9. Desafio com <i>S. agalactiae</i> .....	71
2.10. Análise estatística.....	72
<b>3.0. Resultados</b> .....	73
3.1. Sistema antioxidante .....	73
3.2. Análises imunológicas inata .....	75
3.3. Índices bioquímicos e hematológicos .....	76
3.4. Desafio com <i>S. agalactiae</i> .....	78
<b>4.0. Discussão</b> .....	79
<b>5.0. Conclusão</b> .....	82
<b>6.0. Referências</b> .....	83

## CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

### CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "Efeitos da substituição do cloreto de colina pela colina vegetal Kolin Plus™ na alimentação de juvenis da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)", protocolo n.º 7512/23, sob a responsabilidade do Prof. Dr. LEONARDO SUSUMU TAKAHASHI, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei n.º 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 20 de setembro 2023.

Vigência do Projeto	10/10/2023 a 10/10/2024
Espécie / Linhagem	<i>Oreochromis niloticus</i>
Nº de animais	336
Peso / Idade	20g / 90 dias
Sexo	Macho
Origem	Laboratório tilapicultura (Caunesp)

Jaboticabal, 20 de setembro de 2023.



**Profa. Dra. Paola Castro Moraes**  
Vice-coordenadora em exercício – CEUA FCAV

## RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da suplementação de colina de extrato herbal em dieta rica em amido sobre o metabolismo, o sistema antioxidante, a imunidade e a resistência a *Streptococcus agalactiae* em tilápias do Nilo. Foram utilizados 336 peixes ( $23,43 \pm 0,36$  g; média  $\pm$  DP), alimentados por oito semanas no primeiro ensaio e doze semanas no segundo. O experimento incluiu seis tratamentos: uma dieta basal contendo  $846 \text{ mg kg}^{-1}$  de colina proveniente dos ingredientes, e cinco dietas suplementadas com colina em diferentes níveis: 400, 600, 800 e  $1200 \text{ mg kg}^{-1}$  na forma vegetal, além de  $1200 \text{ mg kg}^{-1}$  via cloreto de colina. Peixes alimentados com a dieta basal, sem suplementação, apresentaram pior desempenho de crescimento e distúrbios metabólicos, com aumento da lipogênese e estresse oxidativo. Também demonstraram resposta imunológica enfraquecida antes e após o desafio com *S. agalactiae*, resultando em menor taxa de sobrevivência. Em contraste, a suplementação com colina de extrato herbal promoveu melhora significativa no crescimento, na deposição lipídica, na modulação dos sistemas antioxidante e imunológico, e na resistência à infecção bacteriana. Os resultados ressaltam o potencial da colina vegetal como aditivo funcional para melhorar o desempenho e a saúde de tilápias do Nilo em dieta rica em amido.

## PALAVRAS-CHAVE

amido, biocolina, tilapicultura, metabolismo, saúde.

## ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effects of choline supplementation from a herbal extract in a starch-rich diet on metabolism, antioxidant system, immunity, and resistance to *Streptococcus agalactiae* in Nile tilapia. A total of 336 fish ( $23.43 \pm 0.36$  g; mean  $\pm$  SD) were fed for eight weeks in the first trial and twelve weeks in the second. The experiment included six treatments: a basal diet containing  $846 \text{ mg kg}^{-1}$  of choline from the ingredients, and five diets supplemented with additional choline at different levels: 400, 600, 800, and  $1200 \text{ mg kg}^{-1}$  from a plant source, plus  $1200 \text{ mg kg}^{-1}$  as choline chloride. Fish fed the basal diet without supplementation showed impaired growth performance and metabolic disorders, including increased lipogenesis and oxidative stress. They also exhibited a weakened immune response before and after the *S. agalactiae* challenge, resulting in lower survival rates. In contrast, supplementation with choline from the herbal extract significantly improved growth, lipid deposition, modulation of antioxidant and immune systems, and resistance to bacterial infection. These findings highlight the potential of plant-derived choline as a functional additive to enhance performance and health in Nile tilapia fed starch-rich diets.

## KEY-WORDS

starch, biocholine, tilapia farming, metabolism, health.

## CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

### 1. introdução

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma das espécies mais cultivadas na aquicultura mundial, destacando-se por sua adaptabilidade a diferentes sistemas de produção e tolerância a variações ambientais (Mugwanya et al., 2022; Tesfaye et al., 2021). Embora a espécie apresente um pacote tecnológico desenvolvido, ainda há desafios na nutrição de precisão, especialmente na inclusão eficiente de micronutrientes, cuja necessidade varia conforme o tamanho, a idade, o ambiente, as interações entre nutrientes e o tempo de suplementação.

Por exemplo, a colina, frequentemente classificada como uma vitamina, é indispensável para a formação da lecitina, fundamental para a integridade das membranas celulares e o metabolismo lipídico. Além disso, participa da síntese da acetilcolina, um neurotransmissor crucial para o sistema nervoso, e atua como precursora da betaína, essencial para reações de metilação no organismo (Goh et al., 2021). Apesar de sua importância, a exigência desse nutriente na dieta de peixes ainda gera controvérsias, conforme apontado por Ren et al. (2025).

Além disso, o nível de suplementação representa outro desafio, principalmente devido à variação na quantidade de colina presente nos ingredientes, o que dificulta a padronização das formulações. Para compensar as perdas durante o processamento, muitos formuladores optam por incluir grandes quantidades de colina. No entanto, o cloreto de colina é altamente higroscópico, o que compromete sua estabilidade e disponibilidade (Mai et al., 2022). Adicionalmente, interações negativas com vitaminas e minerais podem acelerar a degradação de nutrientes essenciais (Wang et al., 2021), reduzindo a eficiência nutricional das dietas

Diante dessas limitações, fontes alternativas, como a colina vegetal, vêm sendo investigadas na nutrição animal. Estudos indicam que compostos de *Acacia nilotica* e *Curcuma longa* podem melhorar o metabolismo lipídico hepático, estimulando a oxidação de ácidos graxos e reduzindo a síntese de gordura por meio da regulação de vias metabólicas (Marimuthu et al., 2022). Além disso, a suplementação de colina vegetal demonstrou benefícios no crescimento muscular e no desempenho produtivo de frangos (D'Souza et al., 2019), bem como potencial imunomodulador (Zahid et al., 2023) e antioxidante (Alba et al., 2021).

Embora a colina seja reconhecida por sua capacidade de prevenir a esteatose hepática, especialmente em dietas ricas em lipídios (Zheng et al., 2022; Siciliani et al., 2023; Jin et al., 2019), seus efeitos em dietas com alto teor de carboidratos ainda não são completamente compreendidos. Estudos recentes indicam que a tilápia metaboliza melhor dietas ricas em lipídios do que carboidratos após doze semanas de alimentação (Ning et al., 2023). Isso sugere que dietas ricas em carboidratos podem representar um desafio metabólico adicional, aumentando a necessidade de estratégias nutricionais específicas para minimizar impactos negativos no desempenho e na saúde dos peixes.

Além dos desafios metabólicos, a nutrição pode influenciar diretamente a saúde imunológica dos peixes (Karadas et al., 2023). *Streptococcus agalactiae* é um dos principais patógenos da piscicultura, causando meningoencefalite e septicemia em tilápias (Abdallah et al., 2024; Ferrari et al., 2024). Considerando que a colina é precursora da acetilcolina, neurotransmissor capaz de modular a atividade de macrófagos e neutrófilos através da ativação de receptores nicotínicos  $\alpha 7$  (Kansakar et al., 2023; Malin et al., 2020), sua suplementação pode atenuar a liberação de citocinas pró-inflamatórias por essas células, reduzindo a intensidade da resposta inflamatória durante infecções bacterianas (Malin et al., 2020). No entanto, ainda não há evidências diretas que comprovem um efeito protetor da suplementação de colina contra essa bactéria.

Portanto, este estudo teve como objetivo geral avaliar os efeitos da suplementação de colina vegetal em tilápias do Nilo alimentadas com dieta rica em carboidratos. No capítulo I, investigamos os efeitos da colina vegetal sobre o metabolismo intermediário, o estado hepático e o sistema antioxidante dos peixes. No capítulo II, o objetivo foi avaliar a modulação da resposta imunológica e a resistência dos peixes a desafio bacteriano com *S. agalactiae*.

## **5.0. Conclusão**

Nossos resultados mostram que, embora alguns parâmetros da imunidade inata não tenham apresentado diferenças significativas, os achados indicam que a colina vegetal é capaz de fortalecer as defesas antioxidantes e imunológicas da tilápia do Nilo, especialmente sob condições de estresse metabólico e infeccioso. Nesse contexto, a inclusão de  $1200 \text{ mg kg}^{-1}$  demonstrou ser eficaz ao promover maior atividade enzimática antioxidante, uma resposta leucocitária mais eficiente e

uma resistência ampliada à infecção por *S. agalactiae*, refletida em uma taxa de sobrevivência de 70%.

## 6.0. Referências

- Abd El-Hack, M. E. et al. Effect of environmental factors on growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). International Journal of Biometeorology, v. 66, n. 11, p. 2183-2194, 2022. 10.1007/s00484-022-02347-6
- Abdallah, E. S. H. et al. *Streptococcus agalactiae* Infection in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*): A Review. Biology, v. 13, n. 11, p. 914, 2024. 10.3390/biology13110914
- Abdel Rahman, A. N. et al. Impact of *Streptococcus agalactiae* challenge on immune response, antioxidant status and hepatorenal indices of Nile tilapia: the palliative role of chitosan white poplar nanocapsule. Fishes, v. 8, n. 4, p. 199, 2023. 10.3390/fishes8040199
- Aoac. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. 18th, 2016.
- Azaza, M.S. et al. Growth performance, nutrient digestibility, hematological parameters, and hepatic oxidative stress response in juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fed carbohydrates of different complexities. Animals, v. 10, n. 10, p. 1913, 2020. 10.3390/ani10101913
- Baldissera, M. D. et al. Vegetable choline improves growth performance, energetic metabolism, and antioxidant capacity of fingerling Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture, v. 501, p. 224-229, 2019. 10.1016/j.aquaculture.2018.11.021
- Banuelos-Vargas, I. et al. Antioxidant and immune response of juvenile red tilapia (*Oreochromis sp*) cultured at different densities in sea water with biofloc plus probiotics. Aquaculture, v. 544, p. 737112, 2021. 10.1016/j.aquaculture.2021.737112
- Beutler, H. O.; Bergmeyer, H. U. Methods of Enzymatic Analysis. In Starch Biosynthesis, Vol. 6, 2–10. London: Academic Press, 1984 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-091304-6.X5001-0>.
- Biller, J. D. et al. Lysozyme activity as an indicator of innate immunity of tilapia (*Oreochromis niloticus*) when challenged with LPS and *Streptococcus*

- agalactiae*. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 50, p. e20210053, 2021. 10.37496/rbz5020210053
- Biller-Takahashi, J. D. et al. Leukocytes respiratory burst activity as indicator of innate immunity of pacu *Piaractus mesopotamicus*. Brazilian Journal of Biology, v. 73, n. 2, p. 425-429, 2013. 10.1590/S1519-69842013000200026
- Campbell, T. W.; Ellis, C. K. Avian and exotic animal hematology and cytology. John Wiley & Sons, 2013.
- Caro-Gómez, Erika et al. Green coffee extract improves cardiometabolic parameters and modulates gut microbiota in high-fat-diet-fed ApoE<sup>-/-</sup>-mice. Nutrients, v. 11, n. 3, p. 497, 2019. 10.3390/nu11030497
- Chen, F. et al. High-carbohydrate diet alleviates the oxidative stress, inflammation and apoptosis of *Megalobrama amblycephala* following dietary exposure to silver nanoparticles. Antioxidants, v. 10, n. 9, p. 1343, 2021. 10.3390/antiox10091343
- D'Souza, P.; Selvam, R. Evaluation of polyherbal formulation in broilers fed high energy diet: Implications on zootechnical parameters, fat accretion, and serum L-carnitine levels. Journal of Advanced Veterinary and Animal Research, v. 9, n. 1, p. 166, 2022. 10.5455/javar.2022.i581
- Dawood, M. A. Et al. The antioxidant responses of gills, intestines and livers and blood immunity of common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to salinity and temperature stressors. Fish Physiology and Biochemistry, v. 48, n. 2, p. 397-408, 2022. 10.1007/s10695-022-01052-w
- Demers, N. E.; Bayne, C. J. The immediate effects of stress on hormones and plasma lysozyme in rainbow trout. Developmental & Comparative Immunology, v. 21, n. 4, p. 363-373, 1997. 10.1016/S0145-305X(97)00009-8
- El Gamal, S. A. et al. Host–pathogen interaction unveiled by immune, oxidative stress, and cytokine expression analysis to experimental *Saprolegnia parasitica* infection in Nile tilapia. Scientific Reports, v. 13, n. 1, p. 9888, 2023. 10.1038/s41598-023-36892-w
- Eto, S. F. et al. Meningitis caused by *Streptococcus agalactiae* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): Infection and inflammatory response. Animals, v. 10, n. 11, p. 2166, 2020. 10.3390/ani10112166
- Faria, C. F. P. et al. Modulation of the innate immune response, antioxidant system and oxidative stress during acute and chronic stress in pacu (*Piaractus*

- mesopotamicus*). Fish physiology and biochemistry, v. 47, p. 895-905, 2021. 10.1007/s10695-021-00940-x
- Ferreira et al.. E. B. Ferreira, P. P. Cavalcanti, D. A. Nogueira. ExpDes: Experimental Designs, 2018. <https://cran.r-project.org/web/packages/ExpDes/index.html>
- Furuya, W. M. et al., 2010. Exigência para tilápia do Nilo. W. M. Furuya, L. E. Pezzato, M. M. Barros, W. R. Boscolo, J. E. P. Cyrino, V. R. B. Furuya, A. Feiden. Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias. (2010).
- Ge, Y. et al. Resveratrol modulates the redox response and bile acid metabolism to maintain the cholesterol homeostasis in fish *megalobrama amblycephala* offered a high-carbohydrate diet. Antioxidants, v. 12, n. 1, p. 121, 2023. 10.3390/antiox12010121
- Gewaily, M. S. et al. Dietary *Lactobacillus plantarum* relieves Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juvenile from oxidative stress, immunosuppression, and inflammation induced by deltamethrin and *Aeromonas hydrophila*. Frontiers in Marine Science, v. 8, p. 621558, 2021.
- Gupta, M. et al. Bio choline. An Alternative to Synthetic Choline in Broiler Production. International Journal of Livestock Research, v. 9, p. 1-9, 2019.10.5455/ijlr.20181015063058
- Hafeman, D. G. et al. Effect of dietary selenium on erythrocyte and liver glutathione peroxidase in the rat. The Journal of nutrition, v. 104, n. 5, p. 580-587, 1974. 10.1093/jn/104.5.580
- Han, H. et al. Impact of high dietary cornstarch level on growth, antioxidant response, and immune status in GIFT tilapia *Oreochromis niloticus*. Scientific reports, v. 11, n. 1, p. 6678, 2021. 10.1038/s41598-021-86172-8
- Hoseinifar, S. H. et al. Oxidative stress and antioxidant defense in fish: the implications of probiotic, prebiotic, and synbiotics. Reviews in Fisheries Science & Aquaculture, v. 29, n. 2, p. 198-217, 2020. 10.1080/23308249.2020.1795616
- Huang, X. et al. High glucose affected respiratory burst activity of peripheral leukocyte via G6PD and NOX inhibition in *Megalobrama amblycephala*. Fish & Shellfish Immunology, v. 83, p. 243-248, 2018. 10.1016/j.fsi.2018.09.029
- Hussein, W. et al. Toxicity of Low-Level Multiple-Mycotoxin Mixture in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Is Prevented with Organically Modified Clinoptilolite Feed Additive. Fishes, v. 9, n. 11, p. 449, 2024. 10.3390/fishes9110449

- Jonge, W. J.; Ulloa, L. The  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor as a pharmacological target for inflammation. *British journal of pharmacology*, v. 151, n. 7, p. 915-929, 2007. 10.1038/sj.bjp.0707264
- Junior, A. C. Fernandes et al. Desempenho produtivo de tilápia do Nilo alimentada com níveis de colina na dieta. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, v. 32, n. 2, p. 163-167, 2010. 10.4025/actascianimsci.v32i2.8862
- Kansakar, U. et al. Choline supplements: An update. *Frontiers in endocrinology*, v. 14, p. 1148166, 2023. 10.3389/fendo.2023.1148166
- Khan, M. Z. et al. Overview of the effect of rumen-protected limiting amino acids (methionine and lysine) and choline on the immunity, antioxidative, and inflammatory status of periparturient ruminants. *Frontiers in Immunology*, v. 13, p. 1042895, 2023. 10.3389/fimmu.2022.1042895
- Khatun, M. et al. Assessment of the anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-bacterial activities of different types of turmeric (*Curcuma longa*) powder in Bangladesh. *Journal of Agriculture and Food Research*, v. 6, p. 100201, 2021. 10.1016/j.jafr.2021.100201
- Li, T. et al. Effects of choline supplementation on growth performance, liver histology, nonspecific immunity and related genes expression of hybrid grouper (♀ *Epinephelus fuscoguttatus* × ♂ *E. lanceolatus*) fed with high-lipid diets. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 138, p. 108815, 2023. 10.1016/j.fsi.2023.108815
- Liu, H. et al. High starch diets attenuate the immune function of *Micropterus salmoides* immune organs by modulating Keap1/Nrf2 and MAPK signaling pathways. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 142, p. 109079, 2023. 10.1016/j.fsi.2023.109079
- Lu, J. et al. Dietary choline promotes growth, antioxidant capacity and immune response by modulating p38MAPK/p53 signaling pathways of juvenile Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Fish & Shellfish Immunology*, v. 131, p. 827-837, 2022. 10.1016/j.fsi.2022.10.062
- Malin, S. G. et al. Functions of acetylcholine-producing lymphocytes in immunobiology. *Current Opinion in Neurobiology*, v. 62, p. 115-121, 2020. 10.1016/j.conb.2020.01.017
- Memarzia, A. et al. Experimental and clinical reports on anti-inflammatory, antioxidant, and immunomodulatory effects of *Curcuma longa* and curcumin, an

- updated and comprehensive review. *BioFactors*, v. 47, n. 3, p. 311-350, 2021. 10.1002/biof.1716
- Monier, M. N. et al. Growth performance, antioxidant, and immune responses of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed on low-fishmeal diets enriched with sodium chloride and its adaptability to different salinity levels. *Fish Physiology and Biochemistry*, v. 51, n. 1, p. 6, 2025. 10.1007/s10695-024-01426-2
- Neyrão, I. M. et al. Modulation of immunity and hepatic antioxidant defense by corticosteroids in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, v. 260, p. 111025, 2021. 10.1016/j.cbpa.2021.111025
- Nguyen, T. M. et al. Feed efficiency, hematological parameters, and resistance against *Streptococcus agalactiae* of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) as improved by dietary supplementation of *Lactobacillus plantarum* L03. *Journal of Applied Aquaculture*, v. 36, n. 3, p. 593-611, 2024. 10.1080/10454438.2023.2291190
- Ning, L. et al. A comparative study on the tolerance of tilapia (*Oreochromis niloticus*) to high carbohydrate and high lipid diets. *Animal Nutrition*, v. 13, p. 160-172, 2023. 10.1016/j.aninu.2023.01.007
- Reinhold, J. G. Total protein, albumin and globulin. *Standard methods of clinical chemistry*, v. 1, p. 88, 1953.
- Saleh, A. A. et al. Expression and Immune Response Profiles in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) and European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) During Pathogen Challenge and Infection. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, n. 23, p. 12829, 2024. 10.3390/ijms252312829
- Sanchez-Lopez, E. et al. Choline uptake and metabolism modulate macrophage IL-1 $\beta$  and IL-18 production. *Cell Metabolism*, v. 29, n. 6, p. 1350-1362.e7, 2019. 10.1016/j.cmet.2019.03.011
- Satiro, T. M. et al. Dietary  $\beta$ -glucan ameliorates metabolic stress caused by a high dietary carbohydrate level in Nile tilapia. *Aquaculture*, v. 579, p. 740186, 2024. 10.1016/j.aquaculture.2023.740186
- Sherif, A. H. et al. Temperature fluctuation alters immuno-antioxidant response and enhances the susceptibility of *Oreochromis niloticus* to *Aeromonas hydrophila* challenge. *Aquaculture International*, v. 32, n. 2, p. 2171-2184, 2024. 10.1007/s10499-023-01263-9

- Shiau, S. Y.; Lo, P. S. Dietary choline requirements of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. *The Journal of nutrition*, v. 130, n. 1, p. 100-103, 2000. 10.1093/jn/130.1.100
- Shiu, Y.-L. et al. Plasma immune protein analysis in the orange-spotted grouper *Epinephelus coioides*: evidence for altered expressions of immune factors associated with a choline-supplemented diet. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 65, p. 235-243, 2017. 10.1016/j.fsi.2017.04.022
- Siwicki, A. K. et al. Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. *Veterinary immunology and immunopathology*, v. 41, n. 1-2, p. 125-139, 1994. 10.1016/0165-2427(94)90062-0
- Sousa, A. A. et al. Vegetable choline in feed for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) raised in a biofloc technology system (BFT): Biofloc composition, chemical composition, and fatty acid profiles in meat. *Aquaculture*, v. 545, p. 737174, 2021a. 10.1016/j.aquaculture.2021.737174
- Sousa, E. L. et al. Haematological, biochemical and immunological biomarkers, antibacterial activity, and survival in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* after treatment using antimicrobial peptide LL-37 against *Streptococcus agalactiae*. *Aquaculture*, v. 533, p. 736181, 2021b. 10.1016/j.aquaculture.2020.736181
- Sousa, L. C. et al. There is more than one way of feeding carnivorous fish: surubim (*Pseudoplatystoma reticulatum* × *P. corruscans*) are able to cope with carbohydrates rich diets, but there is a trade-off between growth and immunity. *Animal Feed Science and Technology*, v. 262, p. 114382, 2020. 10.1016/j.anifeedsci.2019.114382
- Souza, C. De F. et al. Oxidative stress and antioxidant responses in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* experimentally infected by *Providencia rettgeri*. *Microbial Pathogenesis*, v. 131, p. 164-169, 2019. 10.1016/j.micpath.2019.04.007
- Vallejos-Vidal, E. et al. The response of fish to immunostimulant diets. *Fish & shellfish immunology*, v. 56, p. 34-69, 2016. 10.1016/j.fsi.2016.06.028.
- Xu, R. et al. *Bacillus amyloliquefaciens* protects Nile tilapia against *Aeromonas hydrophila* infection and alleviates liver inflammation induced by high-carbohydrate diet. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 127, p. 836-842, 2022. 10.1016/j.fsi.2022.07.033

- Yang, P. et al. Degradation kinetics of vitamins in premixes for pig: effects of choline, high concentrations of copper and zinc, and storage time. *Animal bioscience*, v. 34, n. 4, p. 701, 2020. 10.5713/ajas.20.0026
- Yang, P. et al. Effects of choline chloride, copper sulfate and zinc oxide on long-term stabilization of microencapsulated vitamins in premixes for weanling piglets. *Animals*, v. 9, n. 12, p. 1154, 2019. 10.3390/ani9121154
- Yaqub, A. et al. Evaluation of potential applications of dietary probiotic (*Bacillus licheniformis* SB3086): Effect on growth, digestive enzyme activity, hematological, biochemical, and immune response of Tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v. 22, n. 5, 2021. 10.4194/TRJFAS19882
- Yuan, Z.-H. et al. Dietary choline-enhanced skin immune response of juvenile grass carp might be related to the STAT3 and NF- $\kappa$ B signaling pathway (*Ctenopharyngodon idella*). *Frontiers in Nutrition*, v. 8, p. 652767, 2021.
- Zanuzzo, F. S. et al. Aloe vera enhances the innate immune response of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) after transport stress and combined heat killed *Aeromonas hydrophila* infection. *Fish & shellfish immunology*, v. 65, p. 198-205, 2017. 10.1016/j.fsi.2017.04.013
- Zhu, J. et al. Survival, serum biochemical parameters, hepatic antioxidant status, and gene expression of three Nile tilapia strains under pathogenic *Streptococcus agalactiae* challenge. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 155, p. 110030, 2024. 10.1016/j.fsi.2024.110030
- Zhu, W.; Su, J. Immune functions of phagocytic blood cells in teleost. *Reviews in Aquaculture*, v. 14, n. 2, p. 630-646, 2022. 10.1111/raq.12616