

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese/dissertação será disponibilizado somente a partir de 22/07/2025.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Câmpus de Botucatu

Efeito da suplementação dietética com fragmento de casca de laranja, zinco e vitaminas E e C no desempenho produtivo, atividade do sistema antioxidante, respostas hematológicas e imunológicas da tilápia-do-Nilo submetida aos desafios térmico, bacteriano e transporte

IGOR SIMÕES TIAGUA VICENTE

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

BOTUCATU – SP

JANEIRO -2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Câmpus de Botucatu

Efeito da suplementação dietética com fragmento de casca de laranja, zinco e vitaminas E e C no desempenho produtivo, atividade do sistema antioxidante, respostas hematológicas e imunológicas da tilápia-do-Nilo submetida aos desafios térmico, bacteriano e transporte

IGOR SIMÕES TIAGUA VICENTE

ORIENTADORA: Prof<sup>ª</sup>. Ass. Dra. Margarida Maria Barros  
CO-ORIENTADORAS: Prof<sup>ª</sup>. Adj. Dra. Luciana Francisco Fleuri  
Prof<sup>ª</sup>. Dra. Maria Helena Tabuaço Rego Martins Peres

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

BOTUCATU – SP

JANEIRO -2021

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Vicente, Igor Simões Tiagua.

Efeito da suplementação dietética com fragmento de casca de laranja, zinco e vitaminas E e C no desempenho produtivo, atividade do sistema antioxidante, respostas hematológicas e imunológicas da tilápia-do-Nilo submetida aos desafios térmico, bacteriano e transporte / Igor Simões Tiagua Vicente. - Botucatu, 2021

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Margarida Maria Barros

Coorientador: Luciana Francisco Fleuri

Coorientador: Maria Helena Tabuaço Rego Martins Peres

Capes: 50400002

1. Tilápia-do-Nilo. 2. Estresse oxidativo. 3. Antioxidantes.  
4. Suplementos nutricionais.

Palavras-chave: Desafio bacteriano; Estresse oxidativo; Estresse por transporte.

## BIOGRAFIA

Igor Simões Tiagua Vicente, filho de Arivaldo Tiagua Vicente e Mary Ferreira Simões, nasceu no município de São Paulo, SP, no dia 05 agosto de 1991. Aos 18 anos ingressou no curso de graduação em Zootecnia na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) pertencente a Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), câmpus de Botucatu, a qual foi concluída em dezembro de 2014.

Em março de 2015, ingressou no Programa de Pós-graduação em Zootecnia – FMVZ – UNESP câmpus Botucatu, nível Mestrado, no qual desenvolveu seu projeto de pesquisa no Laboratório de Nutrição e Saúde de Peixes – AquaNutri, orientado por Prof<sup>a</sup> Ass. Dra Margarida Maria Barros e co-orientado por Prof<sup>a</sup> Adj. Dra. Luciana Francisco Fleuri. Defendeu a dissertação no dia 19 de maio de 2017 intitulada “Uso do frit de laranja em dietas para tilápia-do-Nilo: desempenho produtivo e sistema antioxidante”, a qual originou o artigo científico publicado no periódico *Aquaculture Research* (IF 1.748) com o título “Orange peel fragment improves antioxidant capacity and haematological profile of Nile tilapia subjected to heat/dissolved oxygen-induced stress” (DOI: 10.1111/are.13870).

Em agosto de 2017 ingressou no Programa de Pós-graduação em Zootecnia – FMVZ – UNESP câmpus Botucatu, nível Doutorado, no qual desenvolve seu projeto de pesquisa no Laboratório de Nutrição e Saúde de Peixes – AquaNutri, orientado por Prof<sup>a</sup> Ass. Dra Margarida Maria Barros e co-orientado por Prof<sup>a</sup> Adj. Dra. Luciana Francisco e Prof<sup>a</sup>. Dra. Maria Helena Tabuaço Rego Martins Peres. Seu estudo tem como foco avaliar o possível sinergismo do fragmento de casca de laranja com vitaminas e minerais em dietas para tilápia-do-Nilo.

**“Tudo tem seu apogeu e seu declínio...É natural que seja assim, todavia,  
quando tudo parece convergir para o que supomos o nada, eis que a  
vida ressurgue, triunfante e bela!...Novas folhas, novas flores, na  
infinita benção do recomeço”**

**(Chico Xavier)**

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais,

**Arivaldo Tiagua Vicente e Mary Ferreira Simões,**

Por serem meus exemplos de força e perseverança.

À minha tia,

**Márcia Ferreira Simões,**

Por todo incentivo durante toda essa trajetória.

## AGRADECIMENTOS

À Olorum, orixás e guias espirituais, por toda a força, paciência e ajuda me dada durante essa trajetória.

À minha família, por sempre me incetivarem, acreditarem em mim e me fazer acreditar no meu potencial, por sempre se preocuparem com a minha formação, me proporcionarem tudo de melhor, por sempre serem meu porto seguro.

À minha orientadora, Prof<sup>ª</sup>. Ass. Dra. Margarida Maria Barros, obrigado.

Ao meu namorado, Carlos Eduardo Fonseca Alves, por tudo que nós passamos durante esses 8 anos, por estar sempre ao meu lado nos momentos felizes e tristes, por me ajudar sempre que preciso, por me acalmar nos momentos de crise de ansiedade, por ser um exemplo de profissional.

Às minhas co-orientadoras, Prof<sup>ª</sup> Adj. Dra. Luciana Francisco e Prof<sup>ª</sup>. Dra. Maria Helena Tabuaço Rego Martins, por toda contribuição para realização desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Luiz Edivaldo Pezzato, pela amizade, risadas, companheirismo, por toda contribuição para realização desse trabalho.

À todos os alunos do laboratório AquaNutri, obrigado.

Aos meus irmãos que a vida me deu, Jessica Moraes Cruvinel, Matheus Gardim Guimarães e William dos Santos Xavier, por todas as alegrias e risadas, pelos inúmeros puxões de orelha, por acreditarem que eu conseguiria finalizar esse trabalho, por me apoiar nos momentos em que quis desistir do doutorado e me mostrarem que era possível seguir em frente.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (Processo:

2018/19865-5) pelo financiamento da pesquisa.

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

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

## SUMÁRIO

Resumo .....	9
CONSIDERAÇÕES INICIAIS .....	13
<b>CAPÍTULO I</b>	
1. REVISÃO DE LITERATURA .....	15
1.1 Resíduo do processamento da laranja na alimentação animal .....	15
1.2 Zinco, vitamina E, vitamina C e flavonóides no sistema antioxidante .....	16
1.3 Estresse em peixes e consequências fisiológicas .....	21
1.4 <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	25
2. REFERÊNCIAS .....	28
<b>CAPÍTULO II</b>	
ABSTRACT .....	37
1. Introduction .....	38
2. Material and Methods .....	40
2.1. <i>Experimental diets (Phases I and II)</i> .....	40
2.2. <i>DPPH and FRAP in OPF and diets</i> .....	41
2.3. <i>Determination of total phenols (TP), total flavonoids (TF) in OPF and diets</i> .....	42
2.4. <i>Feeding trial (Phase I)</i> .....	42
2.5. <i>Stress and analyses</i> .....	43
2.6. <i>Heat/dissolved oxygen-induced stress (HDOIS) (Phase II)</i> .....	44
2.7. <i>Transport induced-stress (Phase II)</i> .....	45
2.8. <i>Bacterial challenge (Phase II)</i> .....	45
2.9. <i>Hematological assay (Phases I and II)</i> .....	46
2.10. <i>Immunological assay (Phases I and II)</i> .....	46
2.11. <i>Antioxidant Enzyme Activity (Phases I and II)</i> .....	47
2.12. <i>Fillet lipid peroxidation (Phases I and II)</i> .....	48
2.13. <i>Statistical analysis</i> .....	50
2.14. <i>Ethics statement</i> .....	50

3. Results .....	50
3.1. <i>Growth performance</i> .....	50
3.2. <i>Hematological parameters before and after challenges</i> .....	51
3.3. <i>Immunological parameters</i> .....	51
3.4. <i>Liver antioxidant enzymes activity</i> .....	52
3.5. <i>Fillet lipid peroxidation</i> .....	53
4. Discussion .....	54
5. Acknowledgments .....	59
6. References .....	71
<b>CAPÍTULO III</b>	
<b>IMPLICAÇÕES</b> .....	79

**LISTA DE FIGURAS**

Figura 1 – Mapa de interação das enzimas do sistema antioxidante, vitaminas C e E na eliminação das espécies reativas ao oxigênio.....	18
Figura 2 – Molécula da hesperidina. ....	21
Figura 3 – Ação das enzimas do sistema antioxidante. ....	23

**LISTA DE TABELAS**

Table 1. Formulation and antioxidant capacity of the experimental diets .....	60
Table 2. Initial body weight (IBW), final body weight (FBW), weight gain (WG), feed intake (FI), feed conversion ratio (FRC), specific growth rate (SGR) of Nile tilapia fed diets containing orange peel fragment, vitamin C, E and zinc for 100 days. ....	61
Table 3. Hematological parameters of Nile tilapia fed diets containing orange peel fragment, vitamin C, E and zinc subjected to heat/dissolved oxygen-induced stress.....	62
Table 4. Hematological parameters of Nile tilapia fed diets containing orange peel fragment, vitamin C, E and zinc subjected to transport induced stress. ....	63
Table 5. Hematological parameters of Nile tilapia fed diets containing orange peel fragment, vitamin C, E and zinc subjected to bacterial challenge.....	64
Table 6. Immunological parameters of Nile tilapia fed diets containing orange peel fragment, vitamin C, E and zinc subjected to bacterial challenge.....	65
Table 7. Antioxidant enzyme activity of Nile tilapia fed diets containing orange peel fragment, vitamin C, E and Zinc subjected to heat/dissolved oxygen-induced stress (HDOIS) .....	66
Table 8. Antioxidant enzyme activity of Nile tilapia fed diets containing orange peel fragment, vitamin C, E and Zinc subjected to transport induced stress.....	67
Table 9. Antioxidant enzyme activity of Nile tilapia fed diets containing orange peel fragment, vitamin C, E and Zinc subjected to bacterial challenge. ....	68

## RESUMO GERAL DA TESE

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do sinergismo entre o fragmento de casca de laranja (OPF), vitaminas C (Vit. C) e E (Vit. E) e zinco (Zn), no desempenho produtivo, parâmetros hematológicos, atividade das principais enzimas do sistema antioxidante, expressão gene Nrf2 e peroxidação lipídica da tilápia-do-Nilo submetida aos desafios térmico/hipóxia, transporte e infecção bacteriana. Um grupo de 800 juvenis de tilápia-do-Nilo ( $2,7 \text{ g} \pm 0,03$ ) foram distribuídos em 40 aquários de 250 L (20 peixes / aquário) e foram alimentados como oito dietas experimentais OPF, OPF + Vit. C, OPF + Vit. E, OPF + Zn, Vit. C + Vit. E, Vit. C + Zn, Vit. E + Zn, OPF + Vit. C + Vit. E + Zn por 100 dias. As dietas foram formuladas para conter 30% de proteína bruta e  $18 \text{ MJ kg}^{-1}$  de energia bruta. Após o desempenho produtivo os peixes foram submetidos a diferentes estresses. Um grupo foi submetido ao estresse térmico ( $34^{\circ}\text{C}$ ) por dois dias, outro grupo foi submetido ao estresse por transporte durante quatro horas e o último grupo foi submetido a infecção bacteriana por 15 dias. O perfil hematológico, atividade das principais enzimas do sistema antioxidante, expressão do gene Nrf2 e peroxidação lipídica foram determinados antes e após os estresses, excetuando-se os parâmetros imunológicos que foram determinados apenas após a infecção bacteriana. Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) seguido de médias pelo teste de Tukey para determinar o efeito significativo entre o tratamentos ( $P < .05$ ). Foi utilizado teste t, para comparar os dados determinados antes e após os desafios. Não houve diferença estatística no desempenho produtivo. Os peixes submetidos ao estresse térmico/hipóxia e transporte, mantiveram os valores hematológicos dentro do preconizado para espécie saudável. Após a infecção bacteriana, os peixes apresentaram quadro de anemia e aumento da resposta imunológica. Houve alteração da atividade das enzimas do sistema antioxidante das tilápias-do-Nilo em todos os desafios impostos. Em conclusão, a suplementação dietética

de OPF + Vit. C + Vit. E + Zn demonstrou ação sinérgica e promoveu melhora do sistema imune e antioxidante e, menor peroxidação lipídica e manutenção dos parâmetros hematológicos sob condições estressoras.

Palavras-chave: enzimas antioxidantes hepáticas, desafio bacteriano, estresse oxidativo, estresse por transporte, perfil hematológico.

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the synergistic effect of orange peel fragment (OPF), vitamins C (Vit. C) and E (Vit. E) and zinc (Zn) on growth performance, hematological profile, immunological parameters, Nrf2 gene expression, antioxidant enzyme activity and fillet lipid peroxidation of Nile tilapia subjected to heat/dissolved oxygen-induced stress (HDOIS), transport-induced stress (TIS) and *Aeromonas hydrophila* infection. A group of 800 male Nile tilapia ( $2.7 \text{ g} \pm 0.03$ ) was randomly distributed in 40 250-L aquaria (20 fish / tank) and fed eight practical diets OPF, OPF + Vit. C, OPF + Vit. E, OPF + Zn, Vit. C + Vit. E, Vit. C + Zn, Vit. E + Zn, OPF + Vit. C + Vit. E + Zn for 100 days. The diets were formulated to contain 30% crude protein and  $18 \text{ MJ kg}^{-1}$  crude energy. After feeding period, five fish per treatment were sampled for hematological profile, immunological parameters, antioxidant enzyme activity, Nrf2 gene expression and fillet lipid peroxidation. Then, three different groups of fish were subjected to different types of stress: one group was subjected to HDOIS ( $34^{\circ}\text{C}$ ) for two days, another group was subjected to TIS for four hours, and the other group was subjected to bacterial infection for 15 days. Hematological profile, antioxidant enzyme activity, Nrf2 gene expression and fillet lipid peroxidation were determined before and after all types of stress, along with the immunological parameters that was determined only for fish subjected to bacterial infection. The fish subjected to HDOIS and transport, kept the hematological profile within the normal range for healthy Nile tilapia. After bacterial infection, the fish showed anemia but better immunological parameters. There was an increase in antioxidant enzymes activity from Nile tilapia in all the challenges. In conclusion, dietary supplementation of OPF + Vit. C + Vit. E + Zn had a synergistic effect by improving antioxidant enzymes activity, immunological parameters, decreasing lipid peroxidation

and maintaining hematological parameters under stress conditions.

Keywords: bacterial challenge, hematological profile, hepatic antioxidant enzyme, oxidative stress, transport induced stress.

## CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O **Capítulo I** aborda as principais características do fragmento de casca de laranja, vitamina C, vitamina E e zinco nas dietas para peixes. Frente aos desafios existentes da piscicultura moderna, se faz necessário o uso de dietas que atendam às exigências nutricionais dos animais, para que se possa garantir respostas fisiológicas positivas, tanto para crescimento como para a saúde. Também nesse capítulo são apresentados os desafios presentes na produção de peixes, a interferência na saúde dos animais e, como cada nutriente estudado atua no combate ao estresse oxidativo e na resposta imune.

Com base nas informações apresentadas no Capítulo I, o estudo apresentado no **Capítulo II** teve como objetivo avaliar a ocorrência de efeito sinérgico entre as suplementações de fragmento de casca de laranja, vitamina C, vitamina E e zinco em dietas para tilápia-do-Nilo. Para tal foram avaliados o desempenho produtivo, perfil hematológico, atividade das principais enzimas do sistema antioxidante, expressão do gene Nrf2 e parâmetros do sistema imunológico dos peixes submetidos aos estresses de transporte, térmico/hipóxia e infecção bacteriana.

## 6. References

- Acar, Ü. et al. 2015. Evaluation of the effects of essential oil extracted from sweet orange peel (*Citrus sinensis*) on growth rate of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and possible disease resistance against *Streptococcus iniae*. *Aquaculture*. 437, 282–286. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2014.12.015
- Amitava D., Kimberly, K. 2014. Chapter 15 – Antioxidant vitamins and minerals. *Antioxidants in Food, Vitamins and Supplements*, p. 277–294.
- Ashley, P.J., 2007. Fish welfare: current issues in aquaculture. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 104, 199–235. DOI: 10.1016/j.applanim.2006.09.001.
- Barros, M.M., et al. 2014. Non-specific immune parameters and physiological response of Nile tilapia fed beta-glucan and vitamin C for different periods and submitted to stress and bacterial challenge. *Fish Shellfish Immunol*, 39(2), 188-195. DOI: 10.1016/j.fsi.2014.05.004
- Beauchamp, C., Fridovich, I. 1971. Superoxide dismutase: improved assay and applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.* 44, 276-287. DOI: 10.1016/0003-2697(71)90370-8
- Benzie, I. F., Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Anal. Biochem.*, 39(1), 70-76.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72, 248–254. DOI: 10.1006/abio.1976.9999
- Brand-Williams, W., et al. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci. Technol.* 28, 25–30.
- Boyd, C.E., 1996. *Water quality in ponds for aquaculture*. Shrimp Mart, Songkhla, Thailand
- Campbell, T., Ellis, C. 2007. *Avian and exotic animal hematology and cytology*. New York: Wiley-Blackwell.

- Chagas, E.C. et al. 2012. Respostas de tambaquis ao estresse por transporte após alimentação com dietas suplementadas com  $\beta$ -glucano. *Biotemas*, 25(4) 221-227. DOI: 10.5007/2175-7925.2012v25n4p221
- Ciji, A. et al. 2015. Dietary L-tryptophan modulates growth and immuno-metabolic status of *Labeo rohita* juveniles exposed to nitrite. *Aquac. Res.*, 46(8), 2013-2014. DOI: 10.1111/are.12355
- Collier, H. B., 1944. The standardization of blood haemoglobin determination. *Can. Med. Assoc. J.* 50(6), 550–552.
- Combs, G.F., Jr. 2008. Vitamin E, in *The Vitamins: Fundamental Aspects in Nutrition & Health*, pp. 179-203, Academic Press Inc., San Diego. CONTE, F. S. Stress and welfare of culture fish. *Applied Animal Behavior Science*, Oxford, v. 86, p.205, 2008.
- Damasceno, F. M. et al. 2016. Effect of dietary inorganic copper on growth performance and hematological profile of Nile tilapia subjected to heat-induced stress. *Aquaculture*, 454, 257– 264. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2015.12.029
- Delgado, C. H., Fleuri, L. F., 2015 Orange and mango byproducts: agro-industrial waste as source of bioactive compounds and botanical versus commercial description – A review. *Food Rev. Int.*, 32, 1-14. DOI: 10.1080/87559129.2015.1041183.
- Devlin, T. M. 1998. *Manual a bioquímica: com correlações clínicas*. Editora Blucher.
- Falcon, D. R. et al., 2007. Physiological responses of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, fed vitamin C-and lipid-supplemented diets and submitted to low-temperature stress. *J. World Aquacult. Soc.*, 38(2), 287-295. DOI: 10.1111/j.1749-7345.2007.00098.x
- Flohé, L., Günzler, W. A. 1984. Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.*, 105, 114-120. DOI: 10.1016/s0076-6879(84)05015-1
- Giri, S. S., et al. 2016. Dietary Administration of banana (*Musa acuminata*) peel flour affects the growth, antioxidant status, cytokine responses, and disease

susceptibility of rohu, *Labeo rohita*. J. Immunol. Res. DOI: 10.1155/2016/4086591

Goldenfarb, P. B. et al. 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: The microhematocrit determination. Am. J. Clin. Pathol. 56(1), 35–39. DOI: 10.1093/ajcp/56.1.35

Green, L.C., et al. 1981. Nitrate biosynthesis in man. Proc. Natl. Acad. Sci. 78, 7764–7768. DOI: 10.1073/pnas.78.12.7764

Groff, J. M., Zinkl, J. G. 1999. Hematology and clinical chemistry of cyprinid fish: Common carp and goldfish. Vet. Clin. North Am. Exot. Anim. Pract., 2(3), 741–776.

Halliwell, B.; Gutteridge J. M. C. 1999. Free radicals in biology and medicine. 3. ed. New York: Oxford University Press. 936p.

Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. 2007 Free radicals in biology and medicine. 4 ed. New York: Oxford: Clarendon;

Hardy, R.W., 2001. Nutritional deficiencies in commercial aquaculture: likelihood, onset and identification. In: Lim, C., Webster, C.D. (Eds.), Nutrition and Fish Health. The Haworth Press, Inc., Binghamton, New York, p. 131–147.

Hermes-Lima, M. Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals. Functional metabolism: Regulation and adaptation, v. 1, p. 319–66, 2004. DOI: 10.1002/047167558X.ch12

Hoseinifar, S. H.; et al. 2020. Humoral and skin mucosal immune parameters, intestinal immune related genes expression and antioxidant defense in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed olive (*Olea europea* L.) waste. Fish Shellfish Immunol. 2020, 100, 171–178. DOI: 10.1016/j.fsi.2020.02.067

Hosseini, S. M. et al. 2020. The potential benefits of orange peels derived pectin on serum and skin mucus immune parameters, antioxidant defense and growth performance in common carp (*Cyprinus carpio*). Fish Shellfish Immunol., 103, 17–22. DOI: 10.1016/j.fsi.2020.04.019

- Janeway, C. J., 1999. *Imunobiologia: o sistema imunológico na saúde e na doença*, 4<sup>o</sup> ed. Editora Artes Médicas Sul Ltda, Porto Alegre
- Kiron V. 2012. Fish immune system and its nutritional modulation for preventive health care. *Anim Feed Sci Tech.*, 173(1-2), 111-133. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2011.12.015
- Kono, K. et al. 1996. Hydrogen peroxide secreted by tumor-derived macrophages down-modulates signal-transducing zeta molecules and inhibits tumor-specific T cell-and natural killer cell-mediated cytotoxicity. *Eur. J. Immunol.*, 26(6), 1308-1313. DOI: 10.1002/eji.1830260620
- Kappus, H., Sies, H. 1981. Toxic drug effects associated with oxygen metabolism: redox cycling and lipid peroxidation. *Experientia*, 37(12), 1233-1241.
- Lee, S. M. 2009. LDL oxidation, antioxidant capacity and growth of cultured grey mullet (*Mugil cephalus*) fed dietary sorghum distillery residue pretreated with polyethylene glycol. *J. Agric. Food Chem.* 57, 7877–7882. DOI: 10.1021/jf901367u
- Leyva-López, N. et al. 2020. Exploitation of Agro-Industrial Waste as Potential Source of Bioactive Compounds for Aquaculture. *Foods* 9.7: 843. DOI: 10.3390/foods9070843
- Lim C., et al. 2009. Influence of dietary levels of lipid and vitamin E on growth and resistance of Nile tilapia to *Streptococcus iniae* challenge. *Aquaculture*, 298, 76-82. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2009.09.025
- Lizárraga-Velázquez, C. E. 2019. Effect of dietary intake of phenolic compounds from mango peel extract on growth, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in zebrafish (*Danio rerio*). *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 47, 602–611. DOI: 10.3856
- Lushchak, V. I. et al. 2005. Hypoxia and recovery perturb free radical processes and antioxidant potential in common carp (*Cyprinus carpio*) tissues. *Int J. Biochem. Cell Biol.*, v. 37, n. 6, p. 1319-1330. DOI: 10.1016/j.biocel.2005.01.006

- Magrone, T. et al. 2016. Administration of a polyphenol-enriched feed to farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) modulates intestinal and spleen immune responses. *Oxid. Med. Cell. Longev.* DOI: 10.1155/2016/2827567
- National Research Council, 2011. *Nutrient Requirements of Fishes and Shrimp*. National Academies Press, Washington, DC.
- Oliva-Teles, A., 2012. Nutrition and health of aquaculture fish. *J. Fish Dis.* 35 (2), 83–108. DOI: 10.1111/j.1365-2761.2011.01333.x
- Parhiz, H, et al., 2015. Antioxidant and anti-inflammatory properties of the citrus flavonoids hesperidin and hesperetin: an updated review of their molecular mechanisms and experimental models. *Phytother. Res.*, 29(3), 323–331. DOI: 10.1002/ptr.5256
- Pick, E., Keisari, Y. 1980. A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture. *J. Immunol. Methods*, 38(1-2), 161-170. DOI: 10.1016/0022-1759(80)90340-3
- Plumb, J.A.; Bowser, P.R. 1983. *Microbial fish disease laboratory manual*. Alabama: Auburn University, Alabama Agriculture Experiment Station.95p.
- Rossetto, M. R. M., et al. 2009. Antioxidant substances and pesticide in parts of beet organic and conventional manure. *African J. Plant Sci.* 3(11), 245–253.
- Sá, M. V. C., et al. 2004. Optimum zinc supplementation level in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* juveniles diets. *Aquaculture*, 238(1-4), 385–401. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2004.06.011
- Salem, M. E. Set al. 2019. Effects of dietary orange peel on growth performance, antioxidant activity, intestinal microbiota and liver histology of Gilthead sea bream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquac. Nutr.*, 25(5), 1087-1097. DOI: 10.1111/anu.12925
- Santos, M. D. D., et al. 1998. Teor de flavonóides e fenóis totais em folhas de *Pyrostegia venusta* Miers. de mata e de cerrado. *Braz. J. Bot.*, 21(2), 135-140.
- Secombes, C.J. 1990. Isolation of salmonid macrophages and analysis of their killing

- activity. In: Stolen, J., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Roberson, B.S., Van Muiswinkel, W.B. (Eds). *Techniques in fish Immunology*. Fair Haven: SOS Publications.137-154.
- Singleton, V. L., Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16, 144–158.
- Sinha, A. K., 1972. **Colorimetric assay of catalase**. *Anal. Biochem*, 47(2), 389-394. DOI: 10.1016/0003-2697(72)90132-7
- Stogner, S. W., Payne, D. K. 1992. Oxygen toxicity. *Ann. Pharmacothe.*, 26, 1554–1562. DOI: 10.1177/106002809202601214
- Teixeira, C. P., et al. 2012. Growth performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fed diets containing levels of pyridoxine and haematological response under heat stress. *Aquac. Res.*, 43, 1081– 1088. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2011.02911.x
- United States Department of Agriculture 2019. *Citrus: World Markets and Trade*; Foreign Agricultural Service: Washington, DC, USA.
- Verlhac Trichet, V. 2010. Nutrition and immunity: an update. *Aquac. Res.*, 41(3), 356–372. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2009.02374.x
- Vicente, I. S. T. et al. 2019. Orange peel fragment improves antioxidant capacity and haematological profile of Nile tilapia subjected to heat/dissolved oxygen-induced stress. *Aquac. Res.*, 50(1), 80-92. DOI: 10.1111/are.13870
- Vyncke, W. 1970. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, 72(12), 1084-1087. DOI: 10.1002/lipi.19700721218
- Wintrobe, M.M., 1934. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. *Folia Haematologica* 51, 32-49
- Xavier, W. et al. 2020. The putative effect of a SOD-rich melon pulp-concentrate on growth performance and antioxidant status of Nile tilapia (*Oreochromis*

*niloticus*) under heat/dissolved oxygen-induced stress. *Aquaculture* 529, 735669. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.735669

## **CAPÍTULO III**

## IMPLICAÇÕES

A aquicultura está em crescente ascensão, sendo que no setor da cadeia produtiva a maior parte dos gastos está relacionada a compra de ração. Desta forma, se faz necessária a utilização de alimentos alternativos que contribuam para a diminuição dos gastos na produção de ração e favoreçam nutricionalmente, tanto o crescimento quanto a saúde dos peixes das mais diferentes espécies.

Atualmente, além da preocupação em diminuir os custos de produção, as indústrias de ração e os centros de pesquisas de nutrição e saúde animal, têm a visão sustentável de toda a cadeia produtiva. A utilização de resíduos agroindustriais como o fragmento de casca de laranja é alternativa interessante, já que é subproduto gerado da indústria de suco de laranja e, na maioria das vezes, é descartado no meio. Esta indústria gera em torno de 60 milhões de toneladas deste resíduo, o que denota a necessidade do destino adequado deste subproduto. Sendo assim, o fragmento de casca de laranja tem potencial para utilização nas rações para peixes de diferentes espécies, como visto nesta pesquisa.

A inclusão do fragmento de casca de laranja em dietas para tilápia-do-Nilo submetidas aos diferentes desafios, proporcionou manutenção e melhora dos parâmetros sanguíneos, imunológicos e na atividade das enzimas antioxidantes. A inclusão deste subproduto não afetou negativamente o crescimento das tilápias-do-Nilo. Também foi observado sinergismos entre o fragmento de casca de laranja e as vitaminas e mineral utilizados. Assim, este subproduto não interferiu na absorção de outros micronutrientes essenciais para os peixes.

Novas pesquisas que estudem os possíveis sinergismos com outros minerais, vitaminas e aminoácidos são necessárias. Nestes estudos futuros recomenda-se avaliar o

tempo de administração das dietas que foram suplementadas com o fragmento de casca de laranja em combinação com outros nutrientes. Além da utilização de outras metodologias de mensuração de estresse oxidativo, como a produção de espécies reativas ao oxigênio e mediadores da peroxidação lipídica.