

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 28/07/2025.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Efeito da metionina e do triptofano nas
respostas de estresse, sistema imune inato e
antioxidante em juvenis de pacu (*Piaractus
mesopotamicus*) Holmberg, 1887**

Raíssa de Cassia Pinheiro Ribeiro

Jaboticabal, São Paulo

2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Efeito da metionina e do triptofano nas
respostas de estresse, sistema imune inato e
antioxidante em juvenis de pacu (*Piaractus
mesopotamicus*) Holmberg, 1887**

Raíssa de Cassia Pinheiro Ribeiro

Orientadora: Dra. Elisabeth Criscuolo Urbinati

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 Doutorado.

Jaboticabal, São Paulo

2023

R347e Ribeiro, Raíssa de Cassia Pinheiro
Efeito da metionina e do triptofano nas respostas de estresse, sistema imune inato e antioxidante em juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) Holmberg, 1887 / Raíssa de Cassia Pinheiro Ribeiro – Jaboticabal, 2023 ix, 134 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2023

Orientadora: Elisabeth Criscuolo Urbinati

Banca examinadora: Eduardo Pahor Filho, Marcio Aquio Hoshiba, Rafael Estevan Sabioni, Thiago Fernandes Alves Silva

Bibliografia

1. Aminoácido. 2. Imunidade. 3. Metabolismo. 4. Antioxidantes. 5. Pacu. I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.3



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Unidade Complementar - Jaboticabal

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Efeito da Metionina e do Triptofano nas respostas de estresse, sistema imune inato e antioxidante em juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) Holmberg, 1887

AUTORA: RAÍSSA DE CÁSSIA PINHEIRO RIBEIRO

ORIENTADORA: ELISABETH CRISCUOLO URBINATI

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

Elisabeth Urbinati

Profa. Dra. ELISABETH CRISCUOLO URBINATI (Participação Virtual)
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV/Unesp, Jaboticabal-SP

Prof. Dr. EDUARDO PAHOR FILHO (Participação Virtual)
/ Instituto Municipal de Ensino Superior de Bebedouro

Prof. Dr. THIAGO FERNANDES ALVES SILVA (Participação Virtual)
/ Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Reis Velloso, Parnaíba-PI

Dr. RAFAEL ESTEVAN SABIONI (Participação Virtual)
Centre for Aquaculture and Seafood Development, Fisheries and Marine Institute / Memorial University of Newfoundland and Labrador, Canadá

Prof. Dr. MARCIO AQUIO HOSHIBA (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia e Extensão Rural / Universidade Federal de Mato Grosso, UFMT, Cuiabá-MT

 Prova realizada em 28/07/2023
MARCIO AQUIO HOSHIBA
CNPJ 17.029.013-00007-00
Verifique em <https://portal.mec.gov.br>

Jaboticabal, 28 de julho de 2023

“Devemos plantar o mar e pastorear seus animais, usando o mar como fazendeiros em vez de caçadores. É disso que se trata a civilização - agricultura substituindo a caça”

Jacque-Yves Costeau

Ao meu pai Landim Pinheiro (in memoriam)

E aos precursores deste sonho, Ângela

Pinheiro, Ivanílda Carvalho e

Guílderme Carvalho, dedico

AGRADECIMENTOS

“Se eu vi mais longe, foi por estar sobre ombros de gigantes”
(Isaac Newton)

Com esta frase início meus agradecimentos, que vão para além dos anos de realização deste trabalho.

À prof^a. Dr^a. Elisabeth Criscuolo Urbinati por aceitar e orientar a realização deste trabalho, que me proporcionou uma fantástica experiência profissional, com muitas oportunidades de crescimento. Sou grata pela sua paciência, dedicação, ensinamentos e incentivos.

À minha mãe Ângela Pinheiro pela oportunidade, apoio, amor, dedicação, paciência, confiança e orações em todos os momentos da minha vida.

Ao meu pai, Landim Pinheiro, pelo amor e por me ensinar a amar os recursos pesqueiros.

À minha segunda mãe, amiga e companheira, Ivanilda Carvalho, por me encorajar desde o início e acompanhamento nos primeiros passos da vida acadêmica.

Ao meu padrinho Guilherme Carvalho, pelo apoio, incentivo e pela torcida para que tudo desse certo.

À minha irmã, Daniela Carvalho, pela amizade, incentivo, conselhos e apoio em todos os momentos.

Ao amigo e irmão que a vida me deu, Edivaldo Serrão, pela amizade, apoio, incentivo e conselhos que contribuíram para meu crescimento pessoal e profissional.

Aos professores Dr. Eduardo Pahor Filho e Thiago Fernandes Alves da Silva pelas importantes elucidações, contribuições e questionamentos no exame geral de qualificação e defesa

Aos professores Marcio Hoshiba e Rafael Sabioni pelo apoio, incentivo e esclarecimentos durante a defesa

Aos docentes do Centro de Aquicultura da Unesp (CAUNESP) minha sincera gratidão pelo compromisso em compartilhar conhecimento e contribuir para esta formação.

Aos servidores do Centro de Aquicultura da Unesp (CAUNESP) pela paciência, profissionalismo, disponibilidade e empenho em ajudar, fornecendo orientação e suporte em todos os momentos.

Às contemporâneas de mestrado e doutorado, minhas amigas, Aurea Veras e Allana Feitoza, pelo companheirismo, amizades e carinho. Que seja sempre assim: AM, PA e MA.

À Adriane Federici Bido, pela amizade, carinho, companheirismo e apoio durante todos esses anos.

À Thais Lucato, pela amizade construída durante esses anos, obrigada por todo apoio, sempre foste incansável em ajudar. Sou grata por todas as risadas contigo.

À Julyana Cristina, pelo carinho, amizade, companheirismo e incentivo durante às análises.

Reitero meus agradecimentos aos integrantes e ex-integrantes do Laboratório de Fisiologia de Peixes: Aurea Veras, Adriane Bido, Allana Feitoza, Mariana Maluli, Ana Paula Montedor, Eduardo Pahor Filho, Allan Emilio, Dayanne Raule, Fábio Gonzalez, Weliton Vilhalba e Camila Faria, pelo apoio e companheirismo durante o desenvolvimento do experimento, ajuda nas amostragens e auxílio nas análises. À Damares Perecim, pela ajuda ao longo desses anos, ajuda nas coletas, conversas e ensinamentos.

Aos alunos do CAUNESP, Inacio, Marcio, Karen, Luana e Thaise, que se dispuseram em ajudar durante as amostragens, meus sinceros agradecimentos.

Ao Laboratório de Reprodução de Peixes e Laboratório de Patologia de Organismos Aquáticos pelo fornecimento de espaço durante as análises.

Ao CNPQ pela concessão da bolsa de estudo durante o doutorado para realização deste projeto.

Aos funcionários do Departamento de Fisiologia e Morfologia, Ângela e Euclides pelos momentos de descontração e boas gargalhadas.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

APOIO FINANCEIRO

Este trabalho foi realizado com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPQ, Bolsa de Doutorado 157171/2019-1.

RESUMO

A presente tese foi desenvolvida em dois experimentos, sendo apresentada em três capítulos. No primeiro capítulo, apresentamos uma introdução geral e referencial teórico sobre os temas que norteiam a tese. Ambos os experimentos contam com análises dos mesmos indicadores: indicadores bioquímicos metabólicos, de estresse, imunidade inata e sistema antioxidante. No primeiro experimento, foram utilizados juvenis de pacu *Piaractus mesopotamicus* alimentados com dieta comercial suplementada com metionina, nos seguintes tratamentos: Controle – 4 g de Met kg⁻¹ de ração; Tratamento 8 g – 8 g Met kg⁻¹ ração; e Tratamento 12 g – 12 g Met kg⁻¹ ração, durante 15 dias, e submetidos a estressor agudo (EA) de exposição aérea ou injeção de lipopolissacarídeo (LPS) de *Escherichia coli*. Após o período da dieta experimental, os peixes foram amostrados 1h, 3h, 6h e 24h após o EA. Os resultados mostram que houve elevação das concentrações de cortisol em todos os grupos, independente da condição de estresse, e as concentrações de metionina modularam as respostas de estresse. A glicose foi elevada 1 h e 3 h após o EA e 1 h após o LPS. Em relação aos indicadores imunológicos, o EA e LPS diminuíram a atividade respiratória dos leucócitos. A lisozima foi afetada pelo EA e LPS no tratamento 12 g. Nos grupos sem estressor (SE) e EA, o sistema complemento foi modulado tanto pela suplementação da dieta com 12 g de metionina, quanto pela exposição ao estressor agudo. Nos indicadores metabólicos, as concentrações dos triglicerídeos foram menores nos grupos EA e LPS, as concentrações de lipídeo hepático foram afetadas pelo estressor EA e LPS, e as do lipídeo muscular foram afetadas pelo tratamento 12 g nos Grupos SE e LPS. Nos índices somáticos, o IHS no grupo SE mostrou maior valor. O capítulo 3, correspondente ao segundo experimento, avaliou a inclusão de triptofano nas dietas de juvenis de pacu nas concentrações: Tratamento Controle – 2 g de Trip kg⁻¹ de ração; Tratamento 4 g Trip kg⁻¹ de ração; Tratamento 6 g – 6 g de Trip kg⁻¹ de ração distribuídos em grupos: SE sem estresse; EA estresse agudo; e injeção de LPS. Os resultados mostraram que o cortisol foi elevado após 1 h no grupo EA e LPS e as concentrações do hormônio foram moduladas pela inclusão de triptofano na concentração 6 g. A concentração de glicose foi maior no grupo EA. A atividade de lisozima foi maior no tratamento 4 g 1h após o EA. A atividade do sistema complemento foi menor nos grupos EA e LPS. Nos indicadores bioquímicos, as concentrações de albumina foram maiores nos grupos EA e LPS. A deposição de glicogênio hepático foi afetada pelo EA. Em conjunto, os dados apresentados nos mostram que a metionina e o triptofano tem ações redutora de estresse e imunoestimulante, enquanto o agente estressor afeta negativamente o sistema imunológico e a lipogênese. Em síntese, os resultados nos permitem sugerir a inclusão de ambos os aminoácidos para superar desafios do estresse e reforçar mecanismos de defesa imunológica.

PALAVRAS CHAVES

Aminoácidos, Imunidade, Metabolismo, Antioxidante, Pacu

ABSTRACT

The present thesis was developed in two experiments, being presented in three chapters. In the first chapter, we present a general introduction and theoretical framework on the themes that guide the thesis. Both experiments rely on analysis of the same indicators: stress, innate immunity, biochemical, metabolic and antioxidant indicators. In the first experiment, chapter 2, juveniles of pacu *Piaractus mesopotamicus* fed a commercial diet supplemented with Methionine were evaluated at the following concentrations: Control – 4 g of Met Kg⁻¹; Treatment 8 g - 8 g Met Kg⁻¹; and Treatment 12 g - 12 g of Met Kg⁻¹, during 15 days and submitted to the acute stress of air exposure and injection of *Escherichia coli* LPS. After the period of ingestion of the experimental diet, the fish were sampled 1h, 3h, 6h and 24h after the stressor. The results show that was an increase in cortisol concentrations in all groups, regardless of the stress condition, and methionine concentrations modulated the stress responses after the stressor. Glucose was elevated 1 h and 3 h after EA and 1 h after LPS. In the immunological indicators, EA and LPS decreased the respiratory activity of leukocytes. Lysozyme was affected by EA and LPS in the 12 g treatment. In the SE and EA groups, the complement system was modulated both by dietary supplementation with 12 g of methionine and by exposure to an acute stressor. In terms of metabolic indicators, triglycerides were lower in the EA and LPS groups, liver lipid concentrations were affected by the stressor EA and LPS, and muscle lipid was affected by the 12 g treatment in the SE and LPS group. In the somatic indices, the IHS in the SE group showed the highest value. Chapter 3, the second experiment evaluated the inclusion of tryptophan in diets of pacu juveniles in the following concentrations: Control Treatment – 2 g of Trip Kg⁻¹; Treatment 4 g Trip Kg⁻¹; Treatment 6 g – 6 g of Trip Kg⁻¹, divided into groups: SE without stress; Acute stress EA; and LPS injection of lipopolysaccharide *Escherichia coli*. The results showed that cortisol was elevated after 1 h in the EA and LPS group. The inclusion of tryptophan at 4 g and 6 g concentrations demonstrated to modulate cortisol. Glucose concentration was higher in the EA group. Lysozyme activity was higher in the 4 g treatment 1h after the acute stressor. Complement system activity was lower in EA and LPS groups. In biochemical indicators, albumin was higher in the EA and LPS groups. hepatic

glycogen deposition was affected by acute stress. Together, the data presented show us that methionine and tryptophan have stress-reducing and immunostimulating actions. While the stressor negatively affects the immune system and lipogenesis. In summary, it allows us to suggest the inclusion of both amino acids to overcome stress challenges and reinforce immune defense mechanisms.

KYEWORDS

Amino acids, Immunity, Metabolism, Antioxidant, Pacu

CAPÍTULO 1

Introdução Geral

1. Panorama da Aquicultura

Conhecida como a principal alternativa para aumentar a oferta de alimentos de origem animal, a nível mundial (Boyd *et al.*, 2022), a aquicultura é o setor de produção que mais cresce no mundo (Mizuta *et al.*, 2022). Estas informações nos levam a dois cenários: a aquicultura cresceu devido a estabilidade dos estoques pesqueiros a partir do final dos anos 80 (FAO, 2022) e, à medida que a população mundial cresce, a produção de peixes cultivados como fonte de proteína também tende a aumentar (Naylor *et al.*, 2000), devido a demanda que impulsiona maior atividade de criação (Lubchenco e Haugan, 2023).

Nessa conjuntura, a aquicultura é um setor essencial para garantir a produção peixes de forma sustentável para a crescente população mundial (Dawood, 2016; Ahmed e Thompsons, 2019). Boyd *et al.* (2022) avaliam que a contribuição da proteína animal aquática advinda da aquicultura para o suprimento global de proteína de origem animal comprova que a aquicultura é essencial para alimentação mundial. Ainda, ao longo dos anos, percebemos que este setor consolidou seu papel crucial na segurança nutricional global, reduzindo a lacuna oferta-demanda para alimentos aquáticos (Siqueira, 2018). Sample e Dixon (2020) afirmam que a demanda por proteína animal só pode ser atendida pela aquicultura, uma vez que a pesca de captura está cada vez mais atingindo o seu limite.

No cenário mundial, a taxa média de crescimento da produção aquícola foi de 5,6 % durante o período de 2015 - 2020 (FAO, 2020), e a estimativa de aumento dessa produção para os próximos anos é de até 15% (FAO, 2022). No Brasil, a aquicultura também apresenta crescimento positivo, dados da plataforma Peixe BR mostram que os últimos oito anos foram os mais expressivos para o setor nacional, com crescimento de 45% (Peixe BR, 2022), entretanto, estes dados não refletem a capacidade de produção aquícola brasileira, como possuir a maior reserva de água doce do mundo (Valladão *et al.*, 2016), extensa área territorial (Siqueira, 2018), reservatórios (Zaniboni-Filho *et al.*, 2018) e, muitas espécies com potencial produtivo (Marques *et al.*, 2020). Assim, o Brasil possui potencial para atender à crescente demanda mundial e o rápido expansão da aquicultura (Bueno *et al.* 2015).

Contudo, a aumento da produção aquícola é baseado na intensificação dos sistemas de produção e aumento da área de cultivo, gerando, por sua vez,

prejuízos no bem-estar animal (Diana *et al.*, 2013; Boyd *et al.*, 2022). Estes fatores ganharam a atenção da comunidade científica nos últimos anos.

Paralelamente a este cenário a rápida expansão da aquicultura tem afetado o bem-estar em peixes, e isso tem ganhado cada vez mais atenção (Ashley, 2007). Estudos avaliando a influência da intensificação do manejo produtivo: transporte (Shrivastava *et al.*, 2017), restrição alimentar (Midwood, 2016), alta densidade (Santos *et al.*, 2010), alteração da qualidade de água (Sampaio e Freire, 2016) entre outros, e seus feitos no desencadeamento de respostas fisiológicas em peixes são importantes para garantir a sustentabilidade na aquicultura.

6. Conclusão

O estresse agudo e a injeção de LPS foram situações estressantes, porém a inclusão de triptofano (4 g e 6 g) atenuou a elevação de cortisol, como também atuou na modulação das respostas imunológicas, com estímulo da lisozima e da atividade do sistema complemento. Ainda, o triptofano melhorou o estado oxidativo em pacu estressado por exposição aérea e injetado com LPS.

11. Referências

ADINEH, Hossein et al. Biofloc technology improves growth, innate immune responses, oxidative status, and resistance to acute stress in common carp (*Cyprinus carpio*) under high stocking density. **Fish & shellfish immunology**, v. 95, p. 440-448, 2019.

AEHL, H. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*. v. 105, n. 2, p. 121-126, 1984.

AKHTAR, Mohammad Shahbaz et al. Hemato-immunological responses of *Labeo rohita* juveniles to temperature and salinity stress: Effect of dietary L-tryptophan. **Isr. J. Aquac**, v. 65, p. 1-8, 2013.

ANDERSON, James L.; ASCHE, Frank; GARLOCK, Taryn. Economics of aquaculture policy and regulation. **Annual Review of Resource Economics**, v. 11, p. 101-123, 2019.

ARAGAO, C. et al. Stress response and changes in amino acid requirements in Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858). **Amino Acids**, v. 34, p. 143-148, 2008.

AZEREDO, Rita et al. Neuroendocrine and immune responses undertake different fates following tryptophan or methionine dietary treatment: tales from a teleost model. **Frontiers in immunology**, v. 8, p. 1226, 2017.

BARTON, Bruce A.; SCHRECK, Carl B.; BARTON, Lesley D. Effects of chronic cortisol administration and daily acute stress on growth, physiological conditions, and stress responses in juvenile rainbow trout. **Diseases of aquatic organisms**, v. 2, n. 3, p. 173-185, 1987.

BASIC D, Kroghdahl Å, Schjolden J, et al. Short-and longterm effects of dietary L-tryptophan supplementation on the neuroendocrine stress response in seawater-reared Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 388, 8–13, 2013.

BASIC D, Schjolden J, Kroghdahl Å, et al. Changes in regional brain monoaminergic activity and temporary downregulation in stress response from dietary supplementation with L-tryptophan in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Br J Nutr* 109, 2166–2174, 2013.

BASTOS, Frederico F. et al. A typical enzyme activity for glutathione conjugation indicates exposure of pacu to pollutants. **Neotropical Ichthyology**, v. 20, 2022.

BEUTLER., E., DURAN O., KELLY., B.,M. Improved method for the determination of blood glutathione. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. p. 861,882, 1963.

BILLER-TAKAHASHI, J. D., TAKAHASHI, L. S., SAITA, M. V., GIMBO, R. Y. URBINATI, E. C. Leukocytes respiratory burst activity as indicator of innate immunity of pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Revista Brasileira de Biologia = Brazilian Journal of Biology*, vol. 73, n. 2, p. 425-429, 2013.

BLIGH, E. G.; DYER, W. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian. Journal of Biochemistry and Physiology*, v. 37, n.08, p. 911-917.

BOYD, Claude E.; MCNEVIN, Aaron A.; DAVIS, Robert P. The contribution of fisheries and aquaculture to the global protein supply. **Food security**, v. 14, n. 3, p. 805-827, 2022.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical. Biochemistry*, v. 72, p. 248, 1976.

CABANILLAS-GÁMEZ, Miguel et al. Tryptophan supplementation helps totoaba (*Totoaba macdonaldi*) juveniles to regain homeostasis in high-density culture conditions. **Fish physiology and biochemistry**, v. 46, p. 597-611, 2020.

CHANG, Y.M., Cao, D.C., Sun, X.W., Liang, L.Q. Changes of serum biochemical indices of common carp affected by cold temperatures. *Chin. J. Fish.*, 2, 71–75, 2006.

CIJI, Alexander; AKHTAR, Mohammad S. Stress management in aquaculture: a review of dietary interventions. **Reviews in Aquaculture**, v. 13, n. 4, p. 2190-2247, 2021.

COSTAS, Benjamín et al. Physiological responses of Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) after stress challenge: effects on non-specific immune parameters, plasma free amino acids and energy metabolism. **Aquaculture**, v. 316, n. 1-4, p. 68-76, 2011.

DAWOOD, Mahmoud AO et al. Effects of dietary supplementation of *Lactobacillus rhamnosus* or/and *Lactococcus lactis* on the growth, gut microbiota and immune responses of red sea bream, *Pagrus major*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 49, p. 275-285, 2016.

DAWOOD, Mahmoud AO et al. Selenium nanoparticles as a natural antioxidant and metabolic regulator in aquaculture: a review. **Antioxidants**, v. 10, n. 9, p. 1364, 2021.

DE LA ROCA, E. et al. Daily activity rhythms and the stress-related response in the wedge sole (*Dicologlossa cuneata* Moreau, 1881). **Physiology & behavior**, v. 173, p. 272-278, 2017.

EBENEEZAR, Sanal et al. Optimum dietary levels of lysine and methionine reduces the crude protein requirement and improves growth in Snubnose pompano (*Trachinotus blochii*). **Animal Feed Science and Technology**, v. 290, p. 115370, 2022.

ESLAMLOO, Khalil et al. Variations of physiological and innate immunological responses in goldfish (*Carassius auratus*) subjected to recurrent acute stress. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 37, n. 1, p. 147-153, 2014.

FARIA, C. F. P. dos Reis Martinez, C. B., Takahashi, L. S., de Mello, M. M. M., Martins, T. P., & Urbinati, E. C. 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.

FEDERICI, G.; SHAW, B.J.; HANDY, R.D. Toxicity of titanium dioxide nanoparticles to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Gill injury, oxidative stress, and other physiological effects. *Aquat. Toxicol.*, v. 84, 415-430, 2007.

FEVOLDEN, Svein-Erik; RØED, Knut H.; FJALESTAD, Kjersti. A combined salt and confinement stress enhances mortality in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) selected for high stress responsiveness. **Aquaculture**, v. 216, n. 1-4, p. 67-76, 2003.

GARCÍA, Joaquín J. et al. Protective effects of melatonin in reducing oxidative stress and in preserving the fluidity of biological membranes: a review. **Journal of pineal research**, v. 56, n. 3, p. 225-237, 2014.

GONZALEZ-SILVERA, Daniel et al. Effects of the dietary tryptophan and aspartate on the immune response of meagre (*Argyrosomus regius*) after stress. **Fishes**, v. 3, n. 1, p. 6, 2018.

GUPTA, Akruti et al. Immunomodulation by dietary supplements: A preventive health strategy for sustainable aquaculture of tropical freshwater fish, *Labeo rohita* (Hamilton, 1822). **Reviews in Aquaculture**, v. 13, n. 4, p. 2364-2394, 2021.

HACIŞEVKI, Aysun; BABA, Burcu. An overview of melatonin as an antioxidant molecule: a biochemical approach. **Melatonin molecular biology, clinical and pharmaceutical approaches**, v. 5, p. 59-85, 2018.

HARSIJ, Mohammad; KANANI, Hosna Gholipour; ADINEH, Hossein. Effects of antioxidant supplementation (nano-selenium, vitamin C and E) on growth performance, blood biochemistry, immune status and body composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under sub-lethal ammonia exposure. **Aquaculture**, v. 521, p. 734942, 2020.

HE, Ju Yun et al. Effect of dietary l-methionine concentrations on growth performance, serum immune and antioxidative responses of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture research**, v. 48, n. 2, p. 665-674, 2017.

HEDAYATI, Seyed Aliakbar et al. Effect of dietary *Lactobacillus casei* on physiometabolic responses and liver histopathology in common carp (*Cyprinus carpio*) after exposure to iron oxide nanoparticles. **Biological trace element research**, v. 200, n. 7, p. 3346-3354, 2022.

HERRERA, M. et al. Physiological and metabolic effects of a tryptophan-enriched diet to face up chronic stress in meagre (*Argyrosomus regius*). **Aquaculture**, v. 522, p. 735102, 2020.

HERRERA, Marcelino et al. Metabolic and Stress Responses in Senegalese Soles (*Solea senegalensis* Kaup) Fed Tryptophan Supplements: Effects of Concentration and Feeding Period. 2019.

HERRERA, Marcelino et al. Physiological short-term response to sudden salinity change in the Senegalese sole (*Solea senegalensis*). **Fish physiology and biochemistry**, v. 38, p. 1741-1751, 2012.

HÖGLUND E, Sørensen C, Bakke MJ, et al. (2007) Attenuation of stress-induced anorexia in brown trout (*Salmo trutta*) by pre-treatment with dietary L-tryptophan. *Br J Nutr* 97, 786–789.

HOGGLUND, Erik et al. Attenuation of stress-induced anorexia in brown trout (*Salmo trutta*) by pre-treatment with dietary L-tryptophan. **British Journal of Nutrition**, v. 97, n. 4, p. 786-789, 2007.

HOGGLUND, Erik et al. Dietary l-tryptophan leaves a lasting impression on the brain and the stress response. **British Journal of Nutrition**, v. 117, n. 10, p. 1351-1357, 2017.

HOSEINI, Seyyed Morteza et al. Physiological roles of tryptophan in teleosts: current knowledge and perspectives for future studies. **Reviews in Aquaculture**, v. 11, n. 1, p. 3-24, 2019.

HOSEINI, Seyyed Morteza et al. Effects of rearing density and dietary tryptophan supplementation on intestinal immune and antioxidant responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 528, p. 735537, 2020.

HOSEINI, Seyyed Morteza et al. Roles of arginine in fish nutrition and health: insights for future researches. **Reviews in Aquaculture**, v. 12, n. 4, p. 2091-2108, 2020.

HOSEINI, Seyyed Morteza et al. Serum cortisol, glucose, thyroid hormones and non-specific immune responses of Persian sturgeon, *Acipenser persicus* to exogenous tryptophan and acute stress. **Aquaculture**, v. 462, p. 17-23, 2016.

HOSEINI, S.M., Perez-Jimenez, A., Costas, B., Azeredo, R., Gesto, M. Physiological roles of tryptophan in teleosts: current knowledge and perspectives for future studies. *Reviews in Aquaculture* (2019) 11, 3–24, 2019.

HOSEINI, Seyyed Morteza; REVERTER, Míriam. Efeitos promotores de saúde de aminoácidos em peixes. In: **Avanços biotecnológicos na gestão da saúde da aquicultura**. Cingapura: Springer Nature Cingapura, p. 493-533, 2022.

HOSSAIN, Md Sakhawat; KOSHIO, Shunsuke; KESTEMONT, Patrick. Recent advances of nucleotide nutrition research in aquaculture: a review. **Reviews in Aquaculture**, v. 12, n. 2, p. 1028-1053, 2020.

Jl, Ke et al. Effects of dietary tryptophan levels on antioxidant status and immunity for juvenile blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) involved in Nrf2 and TOR signaling pathway. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 93, p. 474-483, 2019.

KAISER, Frederik et al. Dietary Supplementation with Chromium DL-Methionine Enhances Growth Performance of African Catfish (*Clarias gariepinus*). **Aquaculture Nutrition**, v. 2023, 2023.

KEEN J. H.; HABIG W. H.; JAKOBY W. B. Mechanism of the several activities of the glutathione S-transferases. *Journal of Biology Chemistry* v. 251 p. 6183– 6188, 1976.

KIRON, Viswanath. Fish immune system and its nutritional modulation for preventive health care. **Animal Feed Science and Technology**, v. 173, n. 1-2, p. 111-133, 2012.

KLEIN, J., 1990. *Immunology*. Massachusetts: Blackwell Scientific Publications. p. 311-334.

KONER, D. et al. Functional expression, localization, and biochemical characterization of thioredoxin glutathione reductase from air-breathing magur catfish, *Clarias magur*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 230, p. 123126, 2023.

KOHYANI, Ahmad et al. Effects of dietary nucleotides supplementation on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) performance and acute stress response. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 38, p. 431-440, 2012.

KREKE, Nicola; DIETRICH, Daniel R. Physiological endpoints for potential SSRI interactions in fish. **Critical reviews in toxicology**, v. 38, n. 3, p. 215-247, 2008.

KUANG, Sheng-Yao et al. Effects of graded levels of dietary methionine hydroxy analogue on immune response and antioxidant status of immune organs in juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). **Fish & shellfish immunology**, v. 32, n. 5, p. 629-636, 2012.

KUMAR S, Sahu NP, Pal AK, Choudhury D, Yengkokpam S, Mukherjee SC. Effect of dietary carbohydrate on haematology, respiratory burst activity and histological changes in *L. rohita* juveniles. *Fish Shellfish Immunol* 19:331–344, 2005.

LEE, Cheng-Sheng. *Dietary nutrients, additives and fish health*. 2015.

LEPAGE, Olivier et al. Tryptophan affects both gastrointestinal melatonin production and interrenal activity in stressed and nonstressed rainbow trout. **Journal of pineal research**, v. 38, n. 4, p. 264-271, 2005.

LYONS, Kady; WYNNE-EDWARDS, Katherine E. Legacy environmental polychlorinated biphenyl contamination attenuates the acute stress response in a cartilaginous fish, the Round Stingray. **Stress**, v. 22, n. 3, p. 395-402, 2019.

MCDONALD, M. Danielle. An AOP analysis of selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) for fish. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 197, p. 19-31, 2017.

MACHADO, Marina et al. Dietary methionine improves the European seabass (*Dicentrarchus labrax*) immune status, inflammatory response, and disease resistance. **Frontiers in immunology**, v. 9, p. 2672, 2018.

MAGNONI, Leonardo J. et al. Acute stress and an electrolyte-imbalanced diet, but not chronic hypoxia, increase oxidative stress and hamper innate immune status in a rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) isogenic line. **Frontiers in Physiology**, v. 10, p. 453, 2019.

MAHDY, Mohammed A. et al. Uso de leveduras na nutrição e imunoestimulação da aquicultura: uma revisão. **Journal of Applied Biology and Biotechnology**, v. 10, n. 5, p. 59-65, 2022.

MARTINEZ-PORCHAS, Marcel; MARTINEZ-CORDOVA, Luis R. World aquaculture: environmental impacts and troubleshooting alternatives. **The Scientific World Journal**, v. 2012, 2012.

MARTÍNEZ-PORCHAS, Marcel; MARTÍNEZ-CÓRDOVA, Luis Rafael; RAMOS-ENRIQUEZ, Rogelio. Cortisol and glucose: reliable indicators of fish stress?. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, p. 158-178, 2009.

MCCORD J.M.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: An enzymic function for erythrocyte (hemocuprien). *Journal of Biological Chemistry*, 244, 6049-6055, 1969.

MIR, Ishfaq Nazir et al. Synergistic effect of l-methionine and fucoidan rich extract in eliciting growth and non-specific immune response of *Labeo rohita* fingerlings against *Aeromonas hydrophila*. **Aquaculture**, v. 479, p. 396-403, 2017.

NEULS, Luciane et al. Efeitos imunomoduladores da *Yarrowia lipolytica* como aditivo alimentar na dieta da tilápia do Nilo. **Imunologia de Peixes e Mariscos**, v. 119, p. 272-279, 2021.

NOOR, Zohaib et al. Dietary supplementations of methionine improve growth performances, innate immunity, digestive enzymes, and antioxidant activities of rohu (*Labeo rohita*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 47, p. 451-464, 2021.

OLSEN, Rolf Erik et al. Acute stress alters the intestinal lining of Atlantic salmon, *Salmo salar* L.: An electron microscopical study. **Fish physiology and biochemistry**, v. 26, p. 211-221, 2002.

PERRY, G. J.; GILLAN, F. T.; JOHNS, R. B. LIPID COMPOSITION OF A PROCHLOROPHYTE 1. **Journal of Phycology**, v. 14, n. 3, p. 369-371, 1978.

POHLENZ, Camilo; GATLIN III, Delbert M. Interrelationships between fish nutrition and health. **Aquaculture**, v. 431, p. 111-117, 2014.

PRABU, Elangovan et al. Metabolic responses of juvenile GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to dietary L-tryptophan supplementation. **Aquaculture Nutrition**, v. 26, n. 5, p. 1713-1723, 2020.

RAMESH, Mathan et al. Hematological, biochemical and enzymological responses in an Indian major carp *Labeo rohita* induced by sublethal concentration of waterborne selenite exposure. **Chemico-biological interactions**, v. 207, p. 67-73, 2014.

RESENDE, Daniela et al. Stress response of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) fed plant-based diets supplemented with swine blood hydrolysates. **Aquaculture Reports**, v. 30, p. 101600, 2023.

ROTLLANT, J.; TORT, L. Cortisol and glucose responses after acute stress by net handling in the sparid red porgy previously subjected to crowding stress. **Journal of Fish Biology**, v. 51, n. 1, p. 21-28, 1997.

SCHRECK, Carl B.; TORT, Lluís. The concept of stress in fish. In: **Fish physiology**. Academic Press, 2016. p. 1-34.

SEALEY, Wendy M.; GATLIN III, Delbert M. Dietary vitamin C and vitamin E interact to influence growth and tissue composition of juvenile hybrid striped bass (*Morone chrysops*♀ × *M. saxatilis*♂) but have limited effects on immune responses. **The Journal of nutrition**, v. 132, n. 4, p. 748-755, 2002.

SHARF, Yusra; KHAN, Mukhtar A. Dietary tryptophan requirement of fingerling *Channa punctatus* (Bloch) based on growth, hematological parameters, intestinal enzymes, non-specific immune response, and antioxidant capacity. **Aquaculture**, v. 562, p. 738745, 2023.

SIQUEIRA, Tagore Villarim de. Aquicultura: a nova fronteira para aumentar a produção mundial de alimentos de forma sustentável. 2017.

SMOLELIS, A. N.; HARTSELL, S. E. The determination of lysozyme. **Journal of bacteriology**, v. 58, n. 6, p. 731-736, 1949.

SYAHIDA ABDEL-GHANY, Heba M.; EL-SISY, Doaa M.; SALEM, Mohamed El-S. A comparative study of effects of curcumin and its nanoparticles on the growth, immunity and heat stress resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 2523, 2023.

SYAHIDAH, A. et al. Status and potential of herbal applications in aquaculture: A review. 2015.

THOMAS, Jith K. et al. Effects of chronic dietary selenomethionine exposure on repeat swimming performance, aerobic metabolism and methionine catabolism in adult zebrafish (*Danio rerio*). **Aquatic toxicology**, v. 130, p. 112-122, 2013.

TORT, Lluís. Stress and immune modulation in fish. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 35, n. 12, p. 1366-1375, 2011.

VARGAS-CHACOFF, Luis et al. Growth performance, osmoregulatory and metabolic modifications in red porgy fry, *Pagrus pagrus*, under different

environmental salinities and stocking densities. **Aquaculture Research**, v. 42, n. 9, p. 1269-1278, 2011.

VAZZANA, M. et al. Confinement stress in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) depresses peritoneal leukocyte cytotoxicity. **Aquaculture**, v. 210, n. 1-4, p. 231-243, 2002.

VIJAYAN, M. M.; PEREIRA, C.; MOON, T. W. Hormonal stimulation of hepatocyte metabolism in rainbow trout following an acute handling stress. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology**, v. 108, n. 3, p. 321-329, 1994.

WATERLAND, Robert A. Assessing the effects of high methionine intake on DNA methylation. **The Journal of nutrition**, v. 136, n. 6, p. 1706S-1710S, 2006.

WOLKERS, C.P.B.; SERRA, M.; HOSHIBA, M.A.; URBINATI, E.C. 2012. Dietary L tryptophan alters aggression in juvenile matrinxã *Brycon amazonicus*. *Fish Physiology Biochemistry*.38: 819-827, 2012.

YADA, Takashi, and Lluís Tort. "Stress and disease resistance: immune system and immunoendocrine interactions." In *Fish physiology*, vol. 35, pp. 365-403. Academic Press, 2016.

ZANUZZO, F.S.; URBINATI, E.C.; RISE, M.L.; HALL, J.R.; NASH, G.W.; GAMPERL, A.K. *Aeromonas salmonicida* induced immune gene expression in Aloe vera fed steelhead trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture*, v.435, p.1-9, 2015.

ZHANG, Xin et al. Tryptophan can alleviate the inhibition in growth and immunity of tilapia (*GIFT Oreochromis spp.*) induced by high dietary soybean meal level. **Aquaculture Reports**, v. 31, p. 101646, 2023.