



LETÍCIA TAVARES MARTINS

**ATIVIDADE ENZIMÁTICA INTESTINAL EM LINHAGENS
DE TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*) ALIMENTADAS
COM DIFERENTES FONTES LIPÍDICAS**

LAVRAS-MG

2024

LETÍCIA TAVARES MARTINS

**ATIVIDADE ENZIMÁTICA INTESTINAL EM LINHAGENS DE TILÁPIA DO NILO
(*Oreochromis niloticus*) ALIMENTADAS COM DIFERENTES FONTES LIPÍDICAS**

Dissertação apresentado à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Fisiologia e Metabolismo Animal, para obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Rilke Tadeu Fonseca de Freitas

Orientador

Prof. Dr. Camila Oliveira Paranhos

Coorientador

LAVRAS-MG

2024

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Martins, Letícia Tavares.

Atividade enzimática intestinal em linhagens de tilápia no Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com diferentes fontes lipídicas / Letícia Tavares Martins. - 2024.

54 p. : il.

Orientador(a): Rilke Tadeu Fonseca de Freitas.

Coorientador(a): Camila Oliveira Paranhos.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2024.

Bibliografia.

1. Ácidos Graxos. 2. Interação Genótipo Ambiente. 3. Enzimas digestivas. I. de Freitas, Rilke Tadeu Fonseca. II. Paranhos, Camila

LETÍCIA TAVARES MARTINS

**ATIVIDADE ENZIMÁTICA INTESTINAL EM LINHAGENS DE TILÁPIA DO NILO
(*Oreochromis niloticus*) ALIMENTADAS COM DIFERENTES FONTES LIPÍDICAS**

**INTESTINAL ENZYMATIC ACTIVITY IN NILE TILAPIA (*Oreochromis niloticus*)
STRAINS FED DIFFERENT LIPID SOURCES**

Dissertação apresentado à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Fisiologia e Metabolismo Animal, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 27 de dezembro de 2024.

Dr. Rilke Tadeu Fonseca de Freitas - UFLA

Dr. Renan Rosa Paulino - UFLA

Dr. Camila Oliveira Paranhos - UFLA

Dr. Adriano Carvalho Costa - IFGOIANO

Prof. Dr. Rilke Tadeu Fonseca de Freitas

Orientador

LAVRAS-MG

2024

Dedico aos meus pais, José Carlos e Luiza.

Aos meus irmãos, Carlos Eduardo e Jaine

E ao meu amor, Eliézio.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus por me oferecer tantas bênçãos dia após dia. Sou grata pela força diária, por ouvir minhas orações e atendê-las no tempo certo, sou grata pela sabedoria para definir os caminhos, fazer as melhores escolhas e poder alcançar o sonhado Mestrado. Sou grata a Deus pelas pessoas enviadas que contribuíram durante todo o processo, me ofereceu amizade e momentos inesquecíveis. Obrigado Deus, sem Ti, nada seria possível.

Agradeço aos meus pais, José Carlos e Luiza, que nunca mediram esforços pra oferecer a mim e meus irmãos todo conforto e educação necessários para alcançarmos o sucesso. Sempre compartilharam de meus sonhos com tanto amor e zelo e sou grata por cada segundo ao lado de vocês. Agradeço também aos meus irmãos Carlos Eduardo e Jaine que estão sempre prontos a me ajudar e alegrar meus dias.

Agradeço ao meu esposo Eliézio, por toda paciência, amor, empatia e cuidado ao longo dos anos. Agradeço a compreensão de todos os dias. Agradeço por me ouvir, dar conselhos e vibrar a cada conquista minha. Agradeço por cada segundo que me ouviu falar dos experimentos, projetos e por cada peixe que ajudou a segurar, transportar e nos diversos manejos que esteve presente. Sua presença foi crucial todos os dias.

Agradeço também aos meus familiares por toda energia positiva enviada e por compreenderem minha distância ao longo dos anos.

Agradeço ao meu orientador Dr. Rilke Tadeu Fonseca de Freitas, toda confiança depositada em mim e meus colegas de experimento e a amizade desses anos. Agradeço também minha co-orientadora Dr. Camila Oliveira Paranhos, que me ajudou com dedicação na qualificação, escrita da defesa e estatística dos dados coletados, além da sua presença ativa durante o período experimental.

Agradeço aos amigos, Matheus Lourenço e Dr. Danielle Marçal, que no último ano foram presença em meus dias, muito além do experimento conduzido juntos, foram amigos ouvindo, apoiando, compartilhando os momentos tristes e vibrando nos momentos alegres. Agradeço também ao Dr. Thiago Freato que sempre nos ajudou com total dedicação. Agradeço ao Pedro Coliado, nosso colega da Unesp que compartilhou momentos importantes e passou grande parte do tempo com o experimento, nos dando também suporte nos dias difíceis.

Agradeço minha amiga Arminda, que sempre me ajudou, nunca se afastou apesar de muitas vezes distante, sempre foi consolo, e corrigiu quando necessário com respeito e carinho.

Agradeço aos membros do Naqua, sem vocês nada seria possível, ofereceram todo suporte, ajuda com os manejos, ajuda nos laboratórios e muitos momentos inesquecíveis, momentos de tensão e momentos de confraternização.

Agradeço ao funcionário José Vitor que cuida de todos nós, pós graduandos e membros do Naqua com tanto carinho, é sempre um bom ouvinte, um grande amigo.

Agradeço ao Dr. Renan Rosa, por toda ajuda diária com o experimento, ajuda com a estatística e compreensão dos dados. Agradeço aos professores Dr. Priscila Vieira Rosa, que sempre me atendeu e nunca deixou de tirar minhas dúvidas com total dedicação e carinho, e ao professor Dr. Adriano Carvalho Costa por toda ajuda com o banco de dados e estatística.

Agradeço aos meus professores de graduação Dr. Aline Ferreira, Dr. Victor Mansur e Dr. Miriam Pereira, que sempre me incentivaram na pesquisa e sempre foram uma inspiração.

Agradeço aos técnicos do Laboratório de Pesquisa Animal do Departamento de Zootecnia da UFLA, Dr. Stefânia, Dr. Antônio Pádua e Dr. Flávio que dedicaram seu tempo em me ajudar com todas as análises.

Agradeço aos órgãos de fomento, CNPQ, Fapemig e Capes que fizeram esse projeto possível.

Por fim, agradeço a Universidade Federal de Lavras que tornou meu sonho de Mestrado possível e uma realidade. Agradeço pelas oportunidades, network e todo ensino adquirido ao longo dos anos.

Muito obrigado a todos!

*"...Se tenho as mãos macias, eu devo tudo ao meu pai
Que teve as mãos calejadas, no tempo que longe vai...
...Mas cumpriu sua missão, carregando ele colocou
Um diploma em minhas mãos..."*

Música – O carro e a faculdade. Composição de José Fortuna e Sulino.

RESUMO

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), é um peixe nativo das proximidades do Rio Nilo no continente Africano. Com a intensificação da sua produção, diversas são as pesquisas no desenvolvimento de linhagens melhoradas, mais resistentes e com alto desempenho, sendo as linhagens GIFT, vermelha e tailandesa as mais procuradas. Para um crescimento saudável, a dieta da tilápia deve ser balanceada e rica em nutrientes, sendo as fontes de óleo importantes na sua alimentação, pois fornecem ácidos graxos essenciais para o seu desenvolvimento. Tradicionalmente o óleo de peixe e o óleo de soja são os mais utilizados, sendo ricos em ácidos graxos da série ômega 3 (EPA e DHA) e ômega 6, respectivamente. A escolha da fonte de óleo leva em consideração seu custo e disponibilidade. Assim, pesquisas vem explorando o uso de novas fontes de óleo, como o óleo de milho e óleo de linhaça, embora o perfil lipídico da musculatura possa ser influenciado pela composição dos ácidos graxos predominantes em cada fonte de óleo. Além disso, na tilápia do Nilo, a composição dos ácidos graxos na dieta pode impactar o metabolismo lipídico. Esse metabolismo ocorre principalmente pela ação das enzimas digestivas, responsáveis pela quebra eficiente de nutrientes, garantindo seu aproveitamento para o crescimento e saúde dos peixes. Assim, compreender a relação entre dieta, metabolismo e diferentes linhagens de tilápia do Nilo é essencial para aprimorar o manejo nutricional da espécie de forma sustentável e eficiente.

Palavras chaves: Ácidos Graxos; Perfil Lipídico; Enzimas digestivas.

ABSTRACT

The Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) is a fish native to the vicinity of the Nile River on the African continent. With the intensification of its production, numerous studies have focused on developing improved strains that are more resistant and have higher performance, with the GIFT, red, and Thai strains being the most sought after. For healthy growth, the tilapia's diet must be balanced and rich in nutrients, with oil sources playing a crucial role in its nutrition by providing essential fatty acids for development. Traditionally, fish oil and soybean oil are the most commonly used sources, being rich in omega-3 (EPA and DHA) and omega-6 fatty acids, respectively. The choice of oil source considers factors such as cost and availability. Consequently, research has been exploring alternative oil sources, such as corn oil and linseed oil, although the lipid profile of muscle tissue may be influenced by the predominant fatty acid composition of each oil. Additionally, in Nile tilapia, the dietary fatty acid composition can impact lipid metabolism. This metabolism occurs mainly through the action of digestive enzymes, which are responsible for efficiently breaking down nutrients, ensuring their absorption for fish growth and health. Therefore, understanding the relationship between diet, metabolism, and different strains of Nile tilapia is essential for improving the species' nutritional management in a sustainable and efficient manner.

Keywords: Fatty Acids; Lipid Profile; Digestive Enzymes.

INDICADORES DE IMPACTO

A tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma das principais espécies aquícolas cultivadas no mundo, com grande destaque nos países tropicais, como o Brasil. Seu crescimento acelerado, rusticidade e aceitação no mercado tornam a tilapicultura uma atividade na alimentação e geração de renda. No entanto, a sustentabilidade do setor depende, em grande parte, da formulação de rações nutricionalmente adequadas e economicamente viáveis. Nesse contexto, o uso de fontes lipídicas alternativas na alimentação da tilápia surge como uma solução relevante e promissora. Tradicionalmente, os lipídios utilizados nas rações aquícolas são derivados de óleo de peixe, um insumo de origem marinha com custo elevado e produção limitada. A dependência desse recurso gera pressões ambientais sobre estoques pesqueiros e encarece a produção. Por isso, a substituição parcial ou total do óleo de peixe por fontes lipídicas alternativas, como óleos vegetais, representa um avanço significativo rumo a uma aquicultura mais sustentável. Do ponto de vista econômico e social, essa substituição pode reduzir os custos de produção, tornar a tilápia mais acessível ao consumidor final e aumentar a competitividade do setor. Além disso, incentiva a valorização de subprodutos agrícolas e resíduos vegetais, promovendo a economia circular e gerando oportunidades em cadeias produtivas locais. No aspecto ambiental, o uso de lipídios de origem vegetal, diminui a pressão sobre os recursos marinhos e contribui para a preservação dos ecossistemas aquáticos. Além disso, a escolha criteriosa de fontes alternativas pode manter, ou até melhorar, a qualidade nutricional da carne de tilápia, com perfis lipídicos benéficos à saúde humana, como os ácidos graxos poli-insaturados. Por fim, investir em pesquisa e desenvolvimento de dietas com fontes lipídicas alternativas contribui para a segurança alimentar, pois permite a produção sustentável de proteína animal de qualidade, alinhada às exigências da sociedade por alimentos mais saudáveis ambientalmente responsáveis. Dessa forma, a adoção de fontes lipídicas alternativas na alimentação da tilápia-do-Nilo é uma estratégia com impactos positivos diretos na economia, no meio ambiente e na saúde pública, reforçando a importância dessa abordagem para uma aquicultura moderna e socialmente relevante.

IMPACT INDICATORS

Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) is one of the main aquaculture species cultivated worldwide, with great prominence in tropical countries such as Brazil. Its fast growth, hardiness, and market acceptance make tilapia farming a key activity for food production and income generation. However, the sustainability of the sector largely depends on the formulation of nutritionally balanced and economically viable feeds. In this context, the use of alternative lipid sources in tilapia feed emerges as a relevant and promising solution. Traditionally, lipids used in aquaculture feeds are derived from fish oil, a marine-sourced input with high costs and limited availability. Dependence on this resource places environmental pressure on fish stocks and increases production expenses. Therefore, the partial or total replacement of fish oil with alternative lipid sources, such as vegetable oils, represents a significant step toward more sustainable aquaculture. From an economic and social perspective, this substitution can reduce production costs, make tilapia more affordable for consumers, and increase the sector's competitiveness. Furthermore, it encourages the valorization of agricultural by-products and plant-based residues, promoting a circular economy and generating opportunities within local value chains. Environmentally, the use of plant-based lipids helps reduce pressure on marine resources and contributes to the preservation of aquatic ecosystems. In addition, the careful selection of alternative sources can maintain—or even improve—the nutritional quality of tilapia meat, offering lipid profiles beneficial to human health, such as polyunsaturated fatty acids. Finally, investing in research and development of diets containing alternative lipid sources contributes to food security, as it enables the sustainable production of high-quality animal protein, in line with society's demand for healthier and environmentally responsible foods. Thus, the adoption of alternative lipid sources in the feeding of Nile tilapia is a strategy with direct positive impacts on the economy, the environment, and public health, reinforcing the importance of this approach for a modern and socially relevant aquaculture.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1 - Exemplar de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) 199

Figura 2 - Linhagens de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) 20

Figura 3 - Vias biossintéticas de ácidos graxos poli-insaturados em peixes teleósteos 22

CAPÍTULO 2/

Figura 1 - Coleta da porção intestinal para análise enzimática. 43

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1 - Perfil de ácidos graxos de óleos de interesse.244

CAPÍTULO 2

Tabela 1 - Composição e formulação das dietas experimentais388

Tabela 2 - Médias de peso final e ganho de peso por dieta e linhagem de tilápia do Nilo. ...455

Tabela 3 - Médias de consumo e conversão alimentar por dieta e variedade de tilápia do Nilo, por caixa.466

Tabela 4 - Média da raiz quadrada da atividade enzimática por dieta e enzimas na tilápia do Nilo.488

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1.....	16
1. Introdução.....	16
2. Referencial teórico.....	17
2.1 Piscicultura no Brasil.....	17
2.2 Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	18
2.2.1 Programa de melhoramento genético em Tilápia do Nilo.....	19
2.3 Lipídios.....	20
2.3.1 Características dos ácidos graxos e sua importância na dieta dos peixes.....	21
2.3.3 Fontes lipídicas na alimentação de peixes.....	23
2.4 Atividade enzimática digestiva nos peixes.....	25
3. Considerações finais.....	27
REFERÊNCIAS.....	27
CAPÍTULO 2.....	34
1. Introdução.....	36
2. Material e Métodos.....	37
2.1 Animais e Condições experimentais.....	37
2.2 Dietas experimentais.....	38
2.3 Coleta de amostras.....	42
2.4 Atividade enzimática intestinal.....	43
2.5 Análise estatística.....	44
3. Resultados.....	44
3.1 Análise de desempenho.....	44
3.2 Análise da atividade enzimática.....	47
5. Conclusão.....	51
REFERÊNCIAS.....	52

CAPÍTULO 1

1. Introdução

A tilápia do Nilo é altamente valorizada na aquicultura, sendo o segundo peixe de água doce mais produzido no mundo e o mais cultivado no Brasil (Bhardwaj et al., 2023, p.1006), somente no ano de 2023, foram produzidas 579.080 toneladas de tilápia no país, um crescimento de 5,28% em relação ao ano anterior (Peixe BR, 2024, p.14). Esse aumento está relacionado a sua rusticidade, tolerância em diversos ambientes, crescimento rápido e grande aceitação no mercado consumidor. A demanda no mercado também é impulsionada pela qualidade nutricional do pescado (Tocher, 2015, p.4).

Apesar de todos os benefícios da espécie, os gastos com alimentação são elevados representando até 70% do custo de produção, surgindo então a necessidade de utilizar fontes lipídicas alternativas que forneçam energia e ácidos graxos essenciais na dieta de peixes de forma sustentável. Diante disso, as culturas oleaginosas surgem como alternativas viáveis principalmente pelo baixo custo e estabilidade na produção, sendo possível utilizá-las conforme a disponibilidade de cada região. No entanto, os óleos vegetais são pobres em ácidos graxos altamente insaturados, o que pode alterar o perfil de ácidos graxos na musculatura, consequentemente reduzindo os benefícios nutracêuticos para os consumidores (Alvarez et al., 2020, p.7). Além disso, para um bom desenvolvimento zootécnico, a digestão e absorção dos nutrientes são fundamentais, sendo a atividade enzimática intestinal crucial no processo de absorção.

Nos peixes, o estudo das enzimas digestivas é complexo devido aos diversos hábitos alimentares e diversidade de espécies. De maneira geral, sabe-se que a composição de ácidos graxos da dieta pode alterar a expressão de genes, assim como a composição de ácidos graxos do tecido (Araújo et al., 2013, p.3). A expressão da lipase, uma enzima produzida no pâncreas com ação na digestão e absorção de lipídios está diretamente ligada a presença de triglicérides dietéticos. Na ausência da enzima lipase, um acúmulo de gotículas lipídicas pode ser encontrado nos enterócitos, causando danos patológicos (Araújo et al., 2013, p.6-7).

Nesse cenário surgem os programas de melhoramento genético que a partir da seleção de características desejáveis e cruzamentos seletivos, tornam possível produzir animais mais eficientes em termos de conversão alimentar, crescimento rápido, resistência a doenças, oscilações de temperatura e ambientes (Silva et al., 2018, p.9). Nos peixes, o uso do

melhoramento genético pode indicar animais superiores antes mesmo de sua manifestação fenotípica (Hilsdorf; Moreira; Freitas, 2015, p.38) proporcionando benefícios para o setor produtivo. Diante disso, programas de melhoramento genético em tilápia do Nilo, ganham destaque visando desenvolver linhagens mais resistentes e com maior capacidade de alongar e dessaturar precursores de ácidos graxos poli-insaturados.

A tilápia do Nilo já sofreu diversas modificações genéticas a partir do melhoramento genético, desenvolvendo linhagens mais resistentes, com taxa de crescimento maior, melhor rendimento de filé e características relacionadas a sua coloração. No entanto, são escassos os estudos que avaliam a atividade enzimática em diferentes linhagens quando alimentadas com dietas lipídicas alternativas (Apraku et al., 2019, p.16). Portanto, o estudo se mostra importante no esclarecimento do comportamento digestório enzimático das diferentes linhagens de tilápia do Nilo, avaliando a existência de interação entre as diferentes fontes de óleo com as diferentes linhagens, podendo se estender a novos estudos genéticos.

2. Referencial teórico

2.1 Piscicultura no Brasil

A produção aquícola vem crescendo ao longo dos anos no mundo. Em escala global, todas as regiões, tiveram um crescimento contínuo no ano de 2020, impulsionados pela expansão produtiva de países importantes na aquicultura, como o Chile, China e Noruega (FAO, 2022, p.26). Da produção global de animais aquáticos em 2020, 89% foram destinados ao consumo humano enquanto 11% foram destinados a outros produtos, principalmente farinha e óleo de peixe (FAO, 2022, p.1). No Brasil, esse mercado movimentou cerca de R\$9 bilhões/ano, sendo a atividade zootécnica que mais cresce (PEIXE BR, 2024, p.113).

A tilápia é o segundo peixe de água doce mais produzido no mundo (Bhardwaj et al., 2023, p.1006) e o mais cultivado no Brasil, sendo que no ano de 2023, foram produzidas 579.080 toneladas de peixes no país, correspondendo a 65,3% da produção nacional de peixes de cultivo (PEIXE BR, 2024, p.12). Esse desenvolvimento se deve principalmente aos investimentos do setor privado em melhoramento genético, produção de ração e aditivos, equipamentos, produção e processamento (Pedroza Filho; Routledge, 2016, p.7).

A produção de tilápia do Nilo no Brasil foi impulsionada principalmente pela adaptação da espécie às condições brasileiras, fazendo com que o produto nacional seja considerado um

dos melhores do mundo pelo sabor, succulência e aspectos relacionados a saúde e bem-estar humano (PEIXE BR, 2024, p.26), além de ser rica em vitaminas e minerais, tornando-o um alimento nutritivo para o homem (Bhardwaj et al., 2023, p.1006).

2.2 Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é um peixe do grupo dos teleósteos, ordem *Peciforme*, pertencente à família *Cichlidae*. É uma espécie nativa das proximidades do Rio Nilo no continente Africano com distribuição em regiões tropicais e subtropicais do sudoeste Asiático e continente americano (Maciel, 2015, p.23).

A espécie chegou no Brasil após a Segunda Guerra Mundial juntamente com a aceleração da modernização e globalização da agricultura, momento em que o Brasil passou a importar agroquímicos, máquinas e pesquisa agropecuária, investindo no incremento de novas tecnologias aquáticas e tentativas de adaptação de espécies exóticas em águas brasileiras (Fiuza, 2023, p.4).

Entre as espécies que foram inseridas no país, a tilápia foi a que mais se desenvolveu, devido sua rusticidade, fácil reprodução e tolerância em diferentes condições e qualidade de água (Duarte, 2017, p.48; Fiuza, 2023, p.5), alta resistência a doenças e capacidade de utilizar diversos alimentos presentes no ambiente em proteína animal de alto valor nutricional (Al-Samarrai; Abbas; Elheni, 2020, p.1).

A tilápia do Nilo é um peixe tropical que apresenta bom desenvolvimento em temperaturas de 25 a 30°C (El Asely et al., 2020, p.2), pH de 6,5 a 8,0 e oxigênio dissolvido de 2 a 8 mg/L (Santos, 2019, p.16). Morfologicamente apresenta listras verticais, coloração acinzentada e corpo comprimido lateralmente (Figura 1). Possui hábito alimentar onívoro, ingerindo fitoplânctons, plantas aquáticas, pequenos invertebrados, além de boa adaptação à ração comercial em sistemas de produção (Maciel, 2015, p.24).

A 30 anos atrás, deu início aos programas de melhoramento genético em tilápias no Brasil, com a chegada da linhagem Genetically Improved Farmed Tilapias (GIFT), impulsionando estudos em avaliação genética (Oliveira et al., 2015, p.872). A partir disso foi possível estabelecer métodos quantitativos para o controle individual de pedigree e seleção, além de estimativas de herdabilidade quanto ao ganho de peso, volume corporal e ganho genético (Santos et al., 2011, p.34).

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



Fonte: Arquivo pessoal (2024).

2.2.1 Programa de melhoramento genético em Tilápia do Nilo

A base para programas de melhoramento genético é a variabilidade que pode ser encontrada em plantéis reprodutores e populações selvagens (Hilsdorf; Moreira; Freitas, 2013, p.27), sendo possível desenvolver linhagens com alta taxa de crescimento, fatores relacionados a coloração externa, variedades na pigmentação do filé, aumento da área de lombo e incremento no rendimento do filé (Hilsdorf; Moreira; Freitas, 2015, p.43). Com o avanço no mercado de tilápias, o seu crescimento rápido e interesse pela carne, a demanda por linhagens com melhor desempenho e adaptação em diversos ambientes, mobilizam pesquisas na área (Neves et al., 2008, p.531).

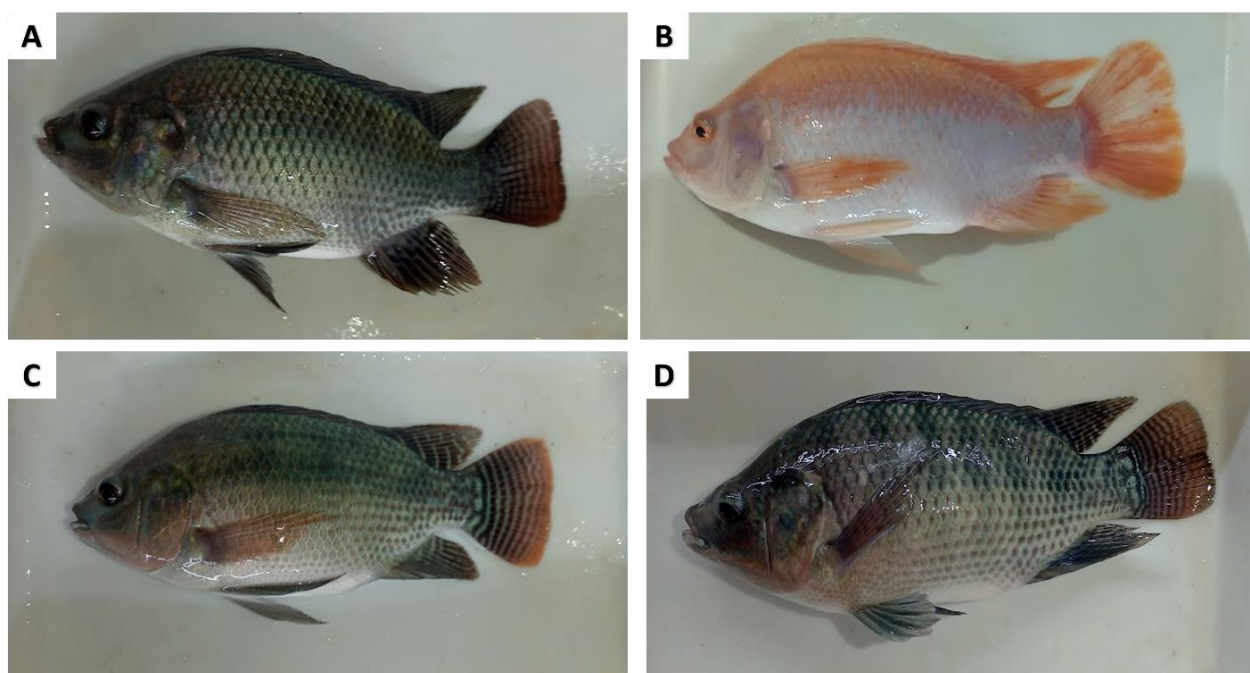
Com o desenvolvimento de programas de melhoramento genético em tilápia do Nilo, diversas linhagens vêm sendo introduzidas no Brasil e comercializadas (Freato et al., 2012, p.1332), se destacando a tilápia GIFT, a Supreme e a tilápia vermelha (Frasca-Scorvo et al., 2017, p.8). Outras linhagens de tilápia do Nilo, que foram desenvolvidas ao longo dos anos, tem sido utilizada como material de estudo, como a tilápia Tailandesa, Genefort e UFLA (Figura 2).

A tilápia vermelha é um grupo de híbridos originados em Taiwan e nas Filipinas na década de 1960, cruzando diferentes espécies de tilápia como a *O. niloticus*, *O. aureus*, *O. hornorum* e *O. mossambicus* (Lu et al., 2022, p.1; Jiang et al., 2019, p.10). É resultante do processo de seleção genética que originou uma tilápia com coloração vermelha, sendo mais atraente no mercado consumidor (Jiang et al., 2019, p.2). Atualmente é amplamente utilizada

na aquicultura devido seu rápido crescimento, rendimento, resistência ao estresse ambiental e preço de mercado, sendo a cor um critério de julgamento (Lu et al., 2022, p.1).

A linhagem tailandesa, também conhecida como Chitralada, foi desenvolvida no Japão e melhorada geneticamente na Tailândia. Foi introduzida no Brasil no ano de 1996 (Zimmermann, 1999 *apud* Fulber et al., 2009, p.178). E a linhagem UFLA se originou do cruzamento entre a primeira importação de tilápia da variedade Bouaké, vinda da Costa do Marfim em 1971, com a variedade GIFT (Genetic Improvement of Farmed Tilapia). Desde então, a variedade está alocada no Setor de Piscicultura da UFLA e ao longo dos anos sofreu diversas seleções genéticas, se destacando em maior tolerância em baixas temperaturas (Dias, 2016, p.345; Marçal, 2021, p.41).

Figura 2 - Linhagens de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)



Legenda: A imagem mostra quatro linhagens de tilápia do Nilo, sendo as linhagens Genefort (A), Vermelha (B), UFLA (C) e Tailandesa (D).

Fonte: Arquivo pessoal (2024).

2.3 Lipídios

Os lipídios é grupo de compostos formados pela esterificação de ácidos graxos que desempenham funções essenciais no organismo (Ribeiro; Costa; Logato, 2009, p.6). São fundamentais na conversão alimentar e crescimento, atuam na função hormonal, servem como

precursores de eicosanoides (Apraku et al., 2019, p.15) e são constituintes dos fosfolipídios na membrana celular. Nos peixes, também são importantes durante o período reprodutivo, na função renal, branquial, neural e visual, crescimento e qualidade final do filé (Teoh, 2013, p.19), além de influenciar na expressão de genes relacionados a dessaturação e alongamento de ácidos graxos em espécies onívoras (Zheng et al., 2004, p.270).

2.3.1 Características dos ácidos graxos e sua importância na dieta dos peixes

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos alifáticos obtidos da hidrólise de gorduras e óleos, representados pela fórmula RCO_2H , onde o grupo R corresponde a uma cadeia carbônica longa, linear e com número par de átomos de carbono (Oliveira; Nunes-Pinheiro, 2013, p.114). São classificados em saturados (sem duplas ligações) e insaturados (apresentam duplas ligações). Os ácidos graxos insaturados ainda são classificados em monoinsaturados (uma dupla ligação), poli-insaturados (duas ou mais ligações) e altamente insaturados (HUFA) (Alvarez et al., 2020, p.1).

Os ácidos graxos insaturados, podem ser divididos em três classes distintas: ômega-3 (n-3, ácido α -linolênico), ômega 6 (n-6, ácido linoleico) e ômega 9 (n-9, ácido oleico). Cada classe é composta por uma família de ácidos, cujos membros podem ser biologicamente sintetizados a partir dos ácidos graxos fornecidos pela dieta (Oliveira; Nunes-Pinheiro, 2013, p.114). A síntese orgânica desses ácidos acontece em ambiente extramicrosomal em cascata de reações enzimáticas onde ácidos graxos saturados formam os ácidos graxos monoinsaturados e estes por sua vez, formam os ácidos graxos poli-insaturados por ação de dessaturases específicas (Ribeiro; Costa; Logato, 2009, p.16). Segundo Oliveira e Nunes-Pinheiro (2013, p.114), o ácido linoleico (LA, n-6) dá origem aos ácidos γ -linolênico (GLA, n-6), dihomo- γ -linolênico (DGLA, n-6) e araquidônico (AA, n-6). Já o ácido α -linolênico (ALA, n-3) forma os ácidos eicosapentaenoico (EPA, n-3) e docosaenoico (DHA, n-3), enquanto o ácido oleico (OA, n-9), resulta na formação dos ácidos eicosadienoico (n-9) e eicosatrienoico (n-9).

A biossíntese a partir de LA e ALA começa com a dessaturação $\Delta 6$, seguida da alongação, e então, uma nova dessaturação pela $\Delta 5$, produzindo assim, ARA e EPA. A via alternativa $\Delta 8$, se inicia com uma alongação, seguida de dessaturações $\Delta 8$ e $\Delta 5$, produzindo também ARA e EPA. (Xie et al., 2021, p.2) (Figura 3).

linhaça, canola, girassol (Ribeiro; Costa; Logato, 2009, p.10), óleo de palma e colza (Sáez-Royuela et al., 2022, p.2).

2.3.3 Fontes lipídicas na alimentação de peixes

Diversos tipos de lipídios provenientes de fontes vegetais e animais são empregados como ingredientes nas dietas de peixes. O óleo de peixe é um suplemento utilizado na alimentação animal, sendo uma excelente fonte lipídica principalmente de ácidos graxos altamente insaturados (Ayisi; Yamei; Zhao, 2014, p.276). É um coproduto do processo de fabricação da farinha de peixe, sendo a anchova peruana, cavala, lúcio, peixinho, arenque e sardinha as principais espécies utilizadas (Da Silva et al. *apud* Ayisi; Yamei; Zhao, 2014, p.272). O uso de óleo de peixe tem o objetivo de incrementar ácidos graxos essenciais a musculatura e agregar valor nutracêutico ao produto final (Duarte, 2017, p.31), produzindo peixes ricos em HUFA n-3, enquanto os óleos vegetais são pobres nesses ácidos graxos. No entanto, o seu uso a longo prazo não demonstra ser sustentável financeiramente, além de ser um produto finito provindo de pescas marinhas, com isso houve a substituição progressiva por outras fontes lipídicas, como os óleos vegetais (Tocher, 2015, p.1; Alvarez et al., 2020, p.2).

As culturas oleaginosas possuem infraestrutura organizada e bem estabelecida para o cultivo, colheita, distribuição e utilização dos óleos, portanto a partir dessas culturas podem ser formuladas fontes renováveis de óleos para aquicultura (Tocher, 2015, p.10), além da alta disponibilidade e preços estáveis, sendo utilizados de acordo com a disponibilidade e custo de cada região (Sáez-Royuela et al., 2022, p.2). A substituição de 60 a 75% por fontes lipídicas alternativas, não altera o desempenho dos peixes (crescimento, eficiência alimentar e consumo de ração), porém as necessidades de ácidos graxos essenciais devem ser atendidas (Sales e Glencross, 2011, p.271).

Os óleos vegetais são alternativas disponíveis de baixo custo em relação ao óleo de peixe para a produção de rações para peixes e são facilmente catabolizados como fonte de energia. Entretanto, podem modificar o perfil de ácidos graxos do músculo, conseqüentemente reduzindo ácidos graxos essenciais na nutrição humana e seus benefícios nutracêuticos. No entanto, espécies de água doce como a tilápia do Nilo, podem sintetizar ácidos graxos quando alimentados com seus precursores, diferentemente de espécies marinhas (Alvarez et al., 2020, p.7).

A composição de ácidos graxos é característica para cada tipo de óleo (Freitas; Jorge, 2021, p.200). Os óleos vegetais também são ricos em ácidos graxos poli-insaturados n-6 e n-9, principalmente o ácido linoleico (LA 18:2n-6) e oleico (OA 18:1n-9), e são pobres em ácidos graxos da série n-3, como o EPA e DHA (Sales; Glencross, 2011, p.271; Sáez-Royuela et al., 2022, p.2). A tabela 1 mostra o perfil de ácidos graxos de cadeia longa de óleos vegetais de interesse e o perfil de ácidos graxos do óleo de peixe.

Tabela 1 - Perfil de ácidos graxos de óleos de interesse.

Fontes de Óleo	Ácido Graxo						
	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:4	C20:5	C22:6
Óleo de soja	5,06	22,37	43,14	11,25	0,65	Nd	Nd
Óleo de canola	2,42	60,32	15,02	13,17	0,50	Nd	Nd
Óleo de linhaça	4,80	19,44	14,07	54,88	0,31	Nd	Nd
Óleo de milho	4,00	24,00	44,40	1,96	1,00	Nd	Nd
Óleo de girassol	3,10	27,65	56,30	2,60	0,43	Nd	Nd
Óleo de algodão	3,10	22,86	50,16	1,32	0,20	Nd	Nd
Óleo de oliva	2,70	71,80	10,27	0,70	Nd	Nd	Nd
Óleo de peixe	3,50	13,00	1,00	37,00	Nd	1,10	0,80

nd – não determinado.

Fonte: Ribeiro; Costa; Logato, 2009, p.11.

O óleo de milho apresenta diversas aplicações, como na indústria farmacêutica, cosmética, alimentícia e fábricas de ração animal (Ribeiro; Costa; Logato, 2009, p.10), possui uma quantidade significativa de ácidos graxos insaturados e pode conter em menor quantidade ácidos graxos saturados. O óleo de milho é caracterizado pelo alto teor de ácido linoleico, considerado um ácido graxo essencial, precursor da síntese de AA (20:4n-6) através da dessaturação e alongação (Ayisi; Yamei; Zhao, 2014, p.276).

O óleo de linhaça é considerado um alimento funcional como fonte de ácido α -linolênico, contribuindo para o crescimento, conversão alimentar e retenção de proteína (Sales;

Glencross, 2011, p.271). Barriviera et al. (2021, p.5143), ao avaliarem a substituição de óleo de soja por óleo de linhaça em tilápia do Nilo, observaram que peixes suplementados com 30 g/Kg de óleo de linhaça apresentaram melhor ganho de peso diário e maior deposição de lipídios totais no filé. A tilápia é uma espécie que consegue converter partes do LNA em ácidos graxos poli-insaturados n-3 (PUFA n-3) a partir de via biosintética de ácidos graxos (Chen et al., 2018, p.495) e com isso, o desempenho zootécnico não é alterado.

O óleo de soja é o alimento mais utilizado por seu baixo custo e por atender as demandas nutricionais do animal. Segundo Ribeiro, Costa e Logato (2009, p.10), o baixo preço associado a qualidade do produto, permite seu aproveitamento na nutrição humana e animal. É rico em ácidos graxos C18, que servem de precursores de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa nos peixes de água doce (Jian et al., 2024, p.2). Godoy et al., (2019, p.7), ao avaliar diferentes níveis de inclusão de óleo de soja (0, 15, 30, 45 e 60 g Kg⁻¹) na dieta de tilápia do Nilo em fase de terminação durante 50 dias, observaram que os peixes apresentaram melhor desempenho no crescimento e ganho de 4,20 g/dia⁻¹, além de aumento nos níveis de PUFAS de cadeia longa, EPA e DHA no músculo, quando alimentados com 45 g Kg⁻¹ de inclusão.

2.4 Atividade enzimática digestiva nos peixes

Os peixes apresentam diferenças em seus hábitos alimentares, fator que reflete em suas características funcionais e anatômicas. O potencial digestivo também é variável de acordo com espécie, idade, tamanho, maturidade, temperatura da água (Gioda et al., 2017, p.1) e composição da dieta (Seixas Filho, 2003, p.32) O estudo das enzimas digestivas fornece informações sobre sua capacidade digestiva e interação no crescimento, que só acontece se o animal apresentar capacidade de digerir e absorver os nutrientes (Santos et al., 2016, p.1260). Os peixes ainda podem modificar seu perfil enzimático de forma adaptativa ao manejo da espécie, sendo que nem todas as espécies de peixes apresentam todas as enzimas digestivas (Moraes; Almeida, 2020, p.263).

As enzimas digestivas dos peixes são produzidas pela mucosa gástrica, cecos pilóricos, pâncreas e mucosa intestinal. Desempenham a função de hidrolisar proteínas, carboidratos e lipídios presentes no lúmen do canal alimentar (Seixas Filho, 2003, p.34). Podem ser classificadas de acordo com o seu papel na digestão, sendo que as principais são as proteases, lipases e amilases (Dawood et al., 2019, p.105; Moraes; Almeida, 2020, p.264).

A participação dos órgãos na digestão enzimática, depende das características anatômicas da espécie, mas geralmente, a mucosa gástrica é responsável por produzir proteases que vão exercer sua atividade em pH ácido, na presença do ácido clorídrico (HCl). O pâncreas é rico em enzimas básicas, como a amilase, maltase e lipase (Seixas Filho, 2003, p.34).

As proteases são responsáveis pela digestão das proteínas a partir de ações específicas na cadeia polipeptídica. Essa atividade é realizada pela pepsina, tripsina e quimotripsina. No ambiente ácido do estômago, inicia-se a digestão a partir da pepsina e se completa no intestino, a partir das proteases alcalinas: tripsina e quimotripsina (Moraes; Almeida, 2020, p.264). A pepsina é produzida somente nos peixes que possuem estômago definido, e é resultante da conversão do pepsinogênio (forma inativa) quando ocorre a secreção de ácido clorídrico na presença de alimentos (Gonçalves et al., 2012, p.24). Nos peixes que não possuem estômago, a digestão das proteínas se inicia no intestino pela ação da tripsina pancreática, que é o produto da conversão do tripsinogênio pelas células da mucosa intestinal, as enteroquinases (Gonçalves et al., 2012, p.24; Gomes et al., 2016, p.261). A tripsina e a quimotripsina são secretadas na porção anterior do intestino e ambas exercem hidrólise sobre ligações peptídicas (Moraes; Almeida, 2020, p.264).

A atividade da amilase tem sido observada em diversos peixes herbívoros e onívoros, podendo estar presente em diferentes regiões do trato digestivo, como nos cecos pilóricos, estômago, fígado, pâncreas e região bucofaringeana (Seixas Filho, 2003, p.37) A amilase é responsável pela digestão de polissacarídeos de glicose, entretanto, sua capacidade de digestão está relacionada a natureza química e a capacidade digestiva de cada espécie (Moraes; Almeida, 2020, p.264). Peixes que se alimentam em nível trófico baixo, como a carpa comum e a tilápia do Nilo, são capazes de utilizar altos níveis de carboidratos e o seu metabolismo é mais eficiente em comparação as espécies carnívoras (Polakof et al., 2012, p.1025).

A digestão dos lipídios ocorre no estômago, cecos pilóricos e intestino, quando um triacilglicerol, é hidrolisado em moléculas de ácidos graxos e glicerol (Moraes; Almeida, 2020, p.265). A atividade lipolítica nos peixes ocorre principalmente na porção proximal do intestino e cecos pilóricos (Ribeiro; Costa; Logato, 2009, p.13). A digestão dos lipídios também compreende a ação da bile e formação de micelas. Quando os lipídios entram em contato com os sais biliares, são fragmentados em pequenas micelas, permitindo a emulsificação ou solubilização dos lipídios ao bolo alimentar, que em seguida sofrerá ação das lipases e serão absorvidas na forma de ácidos graxos (Ribeiro; Costa; Logato, 2009, p.14).

3. Considerações finais

A tilápia do Nilo é uma das espécies mais cultivadas no mundo e suas diferentes linhagens apresentam variações genéticas que podem influenciar nas características produtivas, resistência a doenças e eficiência na conversão alimentar, sendo de grande importância o conhecimento dessas linhagens para a seleção de exemplares cada vez melhores.

O estudo da atividade enzimática intestinal desempenha papel importante na compreensão do metabolismo e adaptação das diferentes linhagens em diferentes condições experimentais e dietas.

Por fim, o estudo das diferentes linhagens de tilápia do Nilo, aliado a análise de atividade enzimática intestinal é essencial para aprimorar a seleção genética, produção e qualidade de vida dos peixes cultivados.

REFERÊNCIAS

Al-samarrai, M. A.; Abbas, L. M.; Elheni, A. J. A. The effect of aquafat-Omega in some reproductive aspects of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v.553, 1st, june 2020. Disponível em 10.1088/1755-1315/553/1/012030. Acesso em: 09 maio 2024.

ÁLVAREZ, A. et al. Partial replacement of fish oil with vegetal oils in commercial diets: The effect on the quality of gilthead seabream (*Sparus aurata*). **Animal feed science and technology**, v. 265, p. 114504, 2020.

APRAKU, Andrews et al. Impact of dietary oil replacement on muscle and liver enzymes activity, histomorphology and growth-related genes on Nile tilapia. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 223, p. 15-25, 2019.

ARAÚJO, J. C. et al. Influência dos ácidos graxos na expressão gênica de peixes. **REDVET Revista Eletrônica de Veterinária**, v. 14, n. 3, p. 1-29, 2013.

AYISI, C. L.; YAMEI, C.; ZHAO, J. L. Genes, transcription factors and enzymes involved in lipid metabolism in fin fish. **Agri Gene**, v. 7, p. 7-14, 2018.

BARRIVIERA, Valéria Rossetto et al. Substitution of soybean oil with linseed oil on growth performance, fatty acid profile and texture attributes in large Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* reared under cold suboptimal temperature. **Aquaculture Research**, v. 52, n. 11, p. 5136-5145, 2021.

BHARDWAJ, Shivani et al. Regulation of omega-3 fatty acids production by different genes in freshwater fish species: a review. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 49, n. 5, p. 1005-1016, 2023.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochemist.** v. 72, p. 248–254. 1976.

CHEN, Cuiying; et al. n-3 essential fatty acids in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*: bioconverting LNA to DHA is relatively efficient and the LC-PUFA biosynthetic pathway is substrate limited in juvenile fish. **Aquaculture**, v. 495, p. 513-522, 2018.

DAWOOD, Mahmoud A. O.; et al. The influence of coconut oil on the growth, immune, and antioxidative responses and the intestinal digestive enzymes and histomorphometry features of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 47, p. 869-880, 2021.

DIAS, M. A. D.; et al. Evaluation of the genetic diversity of microsatellite markers among four strains of *Oreochromis niloticus*. **Animal genetics**, v. 47, n. 3, p. 345-353, 2016.

DUARTE, Francine Oliveira Souza. **Caracterização da carne da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetida à dietas suplementadas com óleo de peixe**. 2017. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2017. p195.

EL ASELY, Amel M.; et al. Overall performances of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) associated with using vegetable oil sources under suboptimal temperature. **Aquaculture Nutrition**, v. 26, n. 4, p. 1154-1163, 2020.

FAO. Opportunities and challenges. **State of World Fisheries and Aquaculture**, v. 4, p. 40-41. Rome, 2014. Disponível em: <https://www.fao.org/3/i3720e/i3720e.pdf>. Acesso em 15 abril 2024.

FAO. Towards Blue Transformation. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2022**. Rome, FAO. Disponível em: <https://doi.org/10.4060/cc0461en>. Acesso em 08 abril 2024.

FIUZA, Denis Henrique. Um “Rebanho” Africano em Águas Brasileiras: história ambiental global da dispersão da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e Rendalli (*Coptodon rendalli*) no Brasil. **Revista de História da UEG**, v. 12, n. 2, p. e222310-e222310, 2023. Disponível em: [Um-Rebanho-Africano-em-Aguas-Brasileiras-historia-ambiental-global-da-dispersao-da-Tilapia-do-Nilo-Oreochromis-niloticus-e-Rendalli-Coptodon-rendalli-no-Brasil.pdf](#) (researchgate.net). Acesso em: 04 março 2024

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G. H. S. A. A simple method for total lipid extraction and purification. **J Biol Chem**, v. 226, n. 1, p. 497-509, 1957.

FRASCA-SCORVO, C. M. D.; et al. **Efeito da frequência alimentar no desempenho produtivo de diferentes linhagens de tilápia**. 2017. In: Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 76. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2017.

FREATO, Thiago A.; et al. Evaluation of Nile tilapia strains cultivated in cages under different feeding programmes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.6, p.1332-1336, 2012.

FREITAS, Irene Rodrigues; JORGE, Neuza. Avaliação dos compostos bioativos de óleos brutos de soja, canola, milho e girassol. **Ciência e Tecnologia de Alimentos: pesquisa e práticas contemporâneas**, v. 2, p. 193-210, 2021.

FÜLBER, Vanice Marli; et al. Desempenho comparativo de três linhagens de tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* em diferentes densidades de estocagem. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 31, n. 2, p. 177-182, 2009.

GIODA, Carolina Rosa; et al. Diferentes hábitos alimentares influenciam a atividade das enzimas digestivas em peixes de água doce. **Ciência Rural**, v. 47, p. e20160113, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20160113>. Acesso em: 05 março 2024.

GODOY, Antonio Cesar et al. Soybean oil for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in finishing diets: Economic, zootechnical and nutritional meat improvements. **Aquaculture**, v. 512, p. 734324, 2019.

GOMES, Veruska Dilyanne Silva; et al. Utilização de enzimas exógenas na nutrição de peixes-revisão de literatura. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 19, n. 4, 2016.

GONÇALVES, Ligia Uribe; et al. Morfologia e fisiologia do sistema digestório de peixes. **Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**, 2013.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. 1973. Rapid preparation of fatty acid methyl esters. **Laboratory Practice**, v. 22, n. 6, p. 475-494, 1973.

HILSDORF A. W. S; MOREIRA H. L. M.; FREITAS R. T. F. Desmitificando a genética. **Panorama da Aquicultura**, v.23, n.137, p.24-27, mai/jun. 2013.

HILSDORF A. W. S; MOREIRA H. L. M.; FREITAS R. T. F. Desafios do melhoramento genético de organismos aquáticos. **Panorama da Aquicultura**, v.25, n.147, p.36-43, jan/fev. 2015.

Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Ciência Animal (INCT). **Métodos para análise de alimentos**, 2º edição, Viçosa, 2021.

IZQUIERDO, M. S.; TURKMEN, A. S.; MONTERO, A. D. A.; ZAMORANO, M. J.; AFONSO, A. J. M.; KARALAZOS, A. V.; FERNÁNDEZ-PALACIOS, B. Nutritional programming through broodstock diets to improve utilization of very low fishmeal and fish oil diets in gilthead sea bream. **Aquaculture**, v.449, n.1, p.18–26, 2015.

JIAN, Yonghui; et al. Positive effects of a mixture of fish oil and soybean oil as a dietary lipid source on the ovarian development and health of female giant river prawn, *Macrobrachium rosenbergii* broodstock. **Aquaculture Reports**, 2024. Disponível em: doi.org/10.1016/j.aqrep.2024.102407. Acesso em: 22 dez 2024.

JIANG, Bingjie; et al. Maternal ancestry analyses of red tilapia strains based on D-loop sequences of seven tilapia populations. **PeerJ**, v. 7, p. e7007, 2019. Disponível em: DOI 10.7717/peerj.7007. Acesso em: 15 abril 2024.

LU; Baoyue; et al. Production of all male amelanotic red tilapia by combining MAS-GMT and tyrb mutation. **Aquaculture**, v. 546, p. 737327, 2022.

MACIEL, Lidiane M. **A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2015. In: Silva, G. F.; Maciel, L. M.; Dalmass, M. V.; GONÇALVES, M. T. Tilápia do Nilo: Criação e cultivo em viveiros no estado do Paraná, Curitiba: GIA, p.21-47, 2015. Disponível em <https://gia.org.br/portal/livro-tilapia-alunos/>. Acesso em: 04 março 2024.

MARÇAL, Danielle Cristina Pereira. **Manejo e parâmetros genéticos de características reprodutivos de fêmeas de tilápia do Nilo**. 2021. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2021. p.80.

MORAES, Gilberto; DE ALMEIDA, Luciana Cristina. Nutrition and functional aspects of digestion in fish. In: **Biology and physiology of freshwater neotropical fish**. Academic Press, p. 251-271, 2020.

NEVES, Patrícia R.; et al. Evaluation of the performance of two strains of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in mixed raising systems. **Brasilian Archives of Biology and Technology**, v.51, n.3, p.531-538, 2008

PEDROZA FILHO, M. X; ROUTLEDGE, E. A. B. Intensificação Produtiva da Aquicultura Brasileira e Novas Demandas Tecnológicas. **Nota técnica AGROPENSA/EMBRAPA**. Palmas: EMBRAPA, 2016.

PEIXE BR, Associação brasileira de Piscicultura. Anuário Peixe BR da Piscicultura. 2024. Disponível em: Anuário 2024 - PeixeBR. Acesso em 07 mai 2024.

POLAKOF, Sergio; et al. Glucose metabolism in fish: a review. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 182, p. 1015-1045, 2012.

OLIVEIRA, M. L. M; NUNES-PINHEIRO, D. C. S. Biomarcadores celulares e moleculares envolvidos na resposta imune-inflamatória modulada por ácidos graxos insaturados. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 7, n. 2, p. 113-124, 2013.

OLIVEIRA, Carlos A. L.; YOSHIDA, Grazyella M.; OLIVEIRA, Sheila, N.; KUNITA, Natali M.; SANTOS, Alexandra I.; ALEXANDRE FILHO, Luiz; RIBEIRO, Ricardo P. Avaliação genética de tilápias do Nilo durante cinco anos de seleção. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.50, n.10, p.871-877, 2015. Disponível em: doi: 10.1590/S0100-204X2015001000002. Acesso em: 19 dez 2024.

RIBEIRO, Paula A. P.; COSTA, Leandro S.; LOGATO, Priscila, V. R. **Lipídios para peixes**. Ed. UFLA, 2009 (Texto acadêmico, 64).

SÁEZ-ROYUELA, María; et al. Fish oil replacement by a blend of vegetable oils in diets for juvenile tench (*Tinca tinca Linnaeus*, 1758): Effects on growth performance and whole-body composition. **Animals**, v. 12, n. 9, p. 1113, 2022.

SALES, J.; GLENCROSS, B. A meta-analysis of the effects of dietary marine oil replacement with vegetable oils on growth, feed conversion and muscle fatty acid composition of fish species. **Aquaculture Nutrition**, v. 17, n. 2, p. e271-e287, 2011. Disponível em: doi: 10.1111/j.1365-2095.2010.00761.x. Acesso em: 15 abril 2024.

SANTOS, Juliana Ferreira; et al. Digestive enzyme activity in the intestine of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus L.*) under pond and cage farming systems. **Fish physiology and biochemistry**, v. 42, p. 1259-1274, 2016.

SANTOS, Alexandra I.; RIBEIRO, Ricardo P.; VARGAS, Lauro; MORA, Freddy; ALEXANDRE FILHO, Luiz; FORNARI, Darci C.; OLIVEIRA, Sheila N. Bayesian genetic parameters for body weight and survival of Nile tilapia farmed in Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, p.33-43, 2011. Disponível em doi: 10.1590/S0100-204X2011000100005. Acesso em: 19 dez 2024.

SEIXAS FILHO, José Teixeira de. **Revisão sobre as enzimas digestivas nos peixes teleostei e seus métodos de determinação**. 2003.

TOCHER, Douglas R. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids and aquaculture in perspective. **Aquaculture**, v. 449, p. 94-107, 2015.

TOCHER, Douglas R.; et al. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids, EPA and DHA: Bridging the gap between supply and demand. **Nutrients**, v. 11, n. 1, p. 89, 2019.

TEOH, Chaiw Yee. **The Effects of Dietary Fish Oil Replacement on Growth, Tissue Fatty Acid Composition and Fatty Acid Metabolism of Red Hybrid Tilapia and Genetically Improved Farmed Nile Tilapia**. 2013. Thesis (Doctor of Philosophy) – Universiti Sains Malaysia, p.46. 2013.

XIE, Dizhi; et al. Regulation of long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis in teleost fish. **Progress in Lipid Research**. v.82, 2021. Disponível em: doi.org/10.1016/j.plipres.2021.101095. Acesso em 05 de novembro de 2024.

ZHENG, X.; et al. Characterization and comparison of fatty acyl 6 desaturase cDNAs from freshwater and marine teleost fish species. **Comparative Biochemistry and Physiology**, p.269-279, 2004. Disponível em: [doi:10.1016/j.cbpc.2004.08.003](https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2004.08.003). Acesso em: 20 dez 2024.

ZIMMERMANN, S. Incubação artificial: técnica permite a produção de tilápias do Nilo geneticamente superiores. **Panorama da aquicultura**, v. 9, n. 54, p. 15-21, 1999 *apud* FÜLBER, Vanice Marli; et al. Desempenho comparativo de três linhagens de tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* em diferentes densidades de estocagem. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 31, n. 2, p. 177-182, 2009.

CAPÍTULO 2

Atividade enzimática intestinal em linhagens de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com diferentes fontes lipídicas

RESUMO

Os óleos vegetais representam uma alternativa de baixo custo na alimentação aquícola, podendo substituir até 75% do óleo de peixe na dieta, mas para isso, exigências nutricionais e a digestão devem ser atendidas de forma eficiente. Com isso, o objetivo do trabalho foi avaliar a atividade enzimática intestinal em quatro linhagens de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com diferentes fontes lipídicas e avaliar seu efeito entre as diferentes linhagens e dietas. Foram formuladas quatro dietas experimentais (isoenergéticas e isoproteicas), com diferentes fontes de óleo (peixe, milho, linhaga e soja). As dietas foram fornecidas a quatro linhagens de tilápia do Nilo (Tailandesa, Genefort, Vermelha e UFLA) com peso inicial médio de 270 ± 14 g (60 machos por linhagem; 15 peixes por caixa) durante o período de 60 dias. Ao final desse período, observou-se que para os dados de desempenho, houve efeito de interação ($p < 0,01$) entre as diferentes dietas e linhagens. O mesmo ocorreu para a atividade enzimática intestinal da amilase, tripsina e quimotripsina, indicando que existe uma relação dependente entre dietas e linhagens. Também foi observado que os peixes alimentados com óleo de peixe, mostrou melhor desempenho e atividade digestiva intestinal, e o óleo de soja, mostrou-se bem semelhante, podendo ser o melhor óleo de escolha na alimentação de tilápia do Nilo.

Palavras chave: Ácidos Graxos; Enzimas digestivas; Tilapicultura; EPA, DHA.

ABSTRACT

Vegetable oils represent a low-cost alternative in aquaculture feed, potentially replacing up to 75% of fish oil in the diet. However, to achieve this, nutritional requirements and digestion must be efficiently met. Therefore, this study aimed to evaluate intestinal enzymatic activity in four strains of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed different lipid sources and to assess their effects across different strains and diets. Four experimental diets (isoenergetic and isoproteic) were formulated with different oil sources (fish, corn, flaxseed, and soybean). The diets were provided to four strains of Nile tilapia (Thai, Genefort, Red, and UFLA), with an initial average weight of $270\text{g}\pm 14\text{g}$ (60 males per strain; 15 fish per tank) over a period of 60 days. At the end of this period, performance data indicated an interaction effect ($p<0.01$) between the different diets and strains. The same pattern was observed for intestinal enzymatic activity of amylase, trypsin, and chymotrypsin, suggesting a dependent relationship between diets and strains. Additionally, fish fed with fish oil showed better performance and intestinal digestive activity, while soybean oil exhibited very similar results, making it a promising alternative as the best oil choice for Nile tilapia feed.

Keywords: Fatty acids; Digestive enzymes; Tilapia farming; EPA; DHA.

1. Introdução

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma das espécies de peixe mais cultivadas no mundo, sendo amplamente utilizada na aquicultura devido ao seu rápido crescimento, adaptabilidade e alto valor nutritivo (Bhardwaj et al., 2023, p.1006; Tocher, 2015, p.4). A alimentação desempenha papel crucial no desempenho produtivo dessa espécie e a escolha das fontes lipídicas na dieta pode influenciar significativamente diversos processos fisiológicos e também financeiros (Tocher, 2015, p.4), visto que a ração é responsável pela maior parte dos custos na produção (Freato et al., 2011, p.1332).

Os lipídios são componentes essenciais na dieta dos peixes, fornecendo não apenas energia, mas também ácidos graxos essenciais fundamentais para o crescimento, desenvolvimento e manutenção das funções celulares (Duarte, 2017, p.3). Dentre as fontes lipídicas, o óleo de peixe e os óleos vegetais podem ser utilizados na formulação de rações para tilápias, cada um oferecendo diferentes perfis de ácidos graxos e, conseqüentemente, impactando a saúde e o desempenho dos animais de formas distintas (Alvarez et al., 2020, p.7).

Além de fornecer energia, os lipídios na dieta podem afetar a atividade enzimática, particularmente as enzimas digestivas, que são responsáveis pela quebra e absorção de nutrientes (Seixas Filho, 2003, p.32). A amilase, lipase, tripsina e quimotripsina são algumas das principais enzimas envolvidas na digestão de carboidratos, lipídios e proteínas nos peixes. A composição lipídica da dieta pode influenciar tanto a expressão quanto a atividade dessas enzimas, modificando a eficiência na digestão e absorção dos nutrientes, o que tem impacto direto na conversão alimentar e no crescimento da tilápia (Dawood et al., 2021, p.70).

Compreender como diferentes fontes lipídicas afetam a atividade enzimática em tilápias do Nilo é fundamental para otimizar as dietas formuladas para essa espécie, promovendo um desempenho produtivo mais eficiente e sustentável na aquicultura, pois o estudo enzimático para peixes é complexo devido a grande biodiversidade e hábitos alimentares. Portanto, o objetivo do estudo foi avaliar se existe interação entre as diferentes fontes de óleo com as diferentes linhagens de tilápia do Nilo, podendo estender a novos estudos genéticos.

2. Material e Métodos

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Lavras - UFLA sob o protocolo nº069/19 e o experimento foi desenvolvido no Setor de Piscicultura da Universidade Federal de Lavras, no ano de 2024.

2.1 Animais e Condições experimentais

O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado - DIC, em um arranjo fatorial 4X4 (4 linhagens de tilápia do Nilo e 4 fontes lipídicas), onde cada caixa recebeu uma fonte de óleo na dieta, que foi distribuído aleatoriamente e cada peixe representou uma repetição.

Para o experimento foram utilizadas quatro linhagens de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), sendo duas linhagens comerciais (linhagens Tailandesa e Genefort) e duas linhagens do setor de Piscicultura da Universidade Federal de Lavras (linhagens UFLA e Vermelha). As linhagens Genefort, UFLA e Vermelha foram provenientes do setor de Piscicultura da Universidade Federal de Lavras – UFLA, enquanto a linhagem Tailandesa foi adquirida ainda alevinos e após quarentena foram preparadas assim como as demais para o experimento. Foram utilizados um total de 240 peixes adultos, com peso médio de $270\text{g}\pm 14\text{g}$ (60 peixes de cada linhagem), machos (invertidos sexualmente com a utilização de 60 mg/Kg de $17\text{-}\alpha\text{-metil-testosterona}$ misturados em ração comercial e alimentados por 28 dias), que foram identificados com microchips e distribuídos aleatoriamente em diferentes caixas de 500 L de acordo com a linhagem e o tratamento em um sistema de recirculação de água (RAS) com filtros físicos e um fotoperíodo de 12:12 luz:escuro. Cada caixa correspondia a um tratamento, com uma dieta específica, e o peixe foi a repetição experimental (15 peixes por caixa). O experimento foi conduzido durante 60 dias, onde os peixes foram alimentados duas vezes ao dia manualmente, às 8:00 e 14:00h, *ad libitum*. Após a última alimentação do dia, foi realizado a limpeza das caixas a partir do sifonamento.

Todos os grupos foram monitorados e a mortalidade registrada diariamente. Parâmetros de qualidade de água oxigênio dissolvido ($5\text{-}6\text{ mg/L}$), pH ($6,8\pm 0,10$) e temperatura ($26,2^{\circ}\text{C}\pm 1,6^{\circ}\text{C}$) foram controladas durante o período experimental. As bases nitrogenadas foram monitoradas durante o período experimental, nitrito ($0,99\pm 0,58\text{ ppm}$), amônia total

(1,06±0,85 ppm) e amônia tóxica (0,005±0,04 ppm). Para análise da qualidade de água foram utilizados testes colorimétricos comerciais da Labcon Test®.

2.2 Dietas experimentais

Foram formuladas quatro dietas experimentais, isoenergéticas e isoproteicas contendo diferentes fontes lipídicas (4%): óleo de peixe, óleo de milho, óleo de linhaça e óleo de soja. As dietas foram produzidas na fábrica de ração da Universidade de Federal de Lavras. Para o preparo das dietas, os ingredientes das rações foram pesados e misturados manualmente. As fontes de óleo foram incluídas em uma pré mistura de ingredientes e a seguir homogeneizadas com o restante da dieta em um misturador automático. A mistura foi umedecida com 10% de água e então peletizados em tamanho de 4-6 mm de diâmetro e submetidos a secagem natural. As dietas foram armazenadas em freezer a -7°C durante todo período experimental. A Tabela 1 apresenta a composição e formulação das dietas experimentais.

Tabela 1 - Composição e formulação das dietas experimentais

Ingredientes (%)	Dietas			
	Peixe	Milho	Linhaça	Soja
Concentrado proteico de soja	46,00	46,00	46,00	46,00
Amido de milho	18,00	18,00	18,00	18,00
Farelo de trigo	16,50	16,50	16,50	16,50
Celulose	1,40	1,40	1,40	1,40
Premix	1,00	1,00	1,00	1,00
BHT	0,05	0,05	0,05	0,05
DI-Metionina	0,60	0,60	0,60	0,60
L-Lisina	0,10	0,10	0,10	0,10
Vitamina E	0,50	0,50	0,50	0,50

Goma	2,50	2,50	2,50	2,50
Caulim	2,35	2,35	2,35	2,35
Fosfato bicálcico	2,50	2,50	2,50	2,50
Cloreto de sódio	1,50	1,50	1,50	1,50
Óleo de palma	3,00	3,00	3,00	3,00
Óleo de peixe	4,00	-	-	-
Óleo de milho	-	4,00	-	-
Óleo de linhaça	-	-	4,00	-
Óleo de soja	-	-	-	4,00

Composição nutricional

Proteína bruta (%)	30,00	30,00	30,00	30,00
Energia digestível (Kcal/Kg)	3.366	3.366	3.366	3.366
Fibra bruta (%)	5,00	5,00	5,00	5,00
Extrato etéreo (%)	8,00	8,00	8,00	8,00
Amido (%)	21,00	21,00	21,00	21,00
Cálcio (%)	0,80	0,80	0,80	0,80
Fósforo disponível (%)	0,60	0,60	0,60	0,60
Lisina (%)	2,10	2,10	2,10	2,10
Metionina (%)	1,10	1,10	1,10	1,10
ENN (%)	33,00	33,00	33,00	33,00

Análise proximal (%)

Matéria seca	86,22±0,10	86,89±0,07	87,71±0,14	86,85±0,09
Proteína bruta	28,0±0,0	27,7±0,2	27,9±0,15	28,7±0,1
Extrato etéreo	5,88±0,93	5,09±0,87	6,34±0,04	4,93±0,21

Cinzas	8,88±0,08	9,26±0,25	9,23±0,02	10,36±0,0
--------	-----------	-----------	-----------	-----------

Análise dos ácidos graxos (%)

Ácido butírico (C4:0)	0,01	0,01	0,01	0,01
Ácido capróico (C6:0)	0,01	-	-	-
Ácido láurico (C12:0)	0,08	0,06	0,05	0,04
Ácido miristoleico (C14:1)	1,38	0,30	0,33	0,33
Ácido Cis-10-pentadecanoico (C15:1)	-	0,03	0,03	0,03
Ácido palmitoleico (C16:1)	24,19	22,00	19,02	19,58
Ácido heptadecanoico (C17:0)	1,59	0,12	0,17	0,16
Ácido Cis-10-heptadecanoico (C17:1)	0,19	0,07	0,06	0,08
Ácido eláico (C18:1n9t)	3,92	3,00	0,03	3,72
Ácido oleico (C18:1n9c)	0,01	0,04	0,05	0,06
Ácido linoleico (C18:2n6c)	4,80	35,36	4,50	4,58
Ácido araquidônico (C20:0)	22,74	33,00	17,58	33,79
Ácido gama linolênico (C18:3n6)	0,31	0,37	0,22	0,30
Ácido cis-11-eicosenoico (C20:1)	0,21	0,10	0,32	-
Ácido linolênico (C18:3n3)	0,57	0,33	0,63	0,09
Ácido heneicosanoico (C21:0)	2,87	2,00	22,25	4,79
Ácido eicosadienoico (C20:2)	-	0,02	-	0,03
Ácido behênico (C22:0)	0,60	0,09	0,13	0,13
Ácido cis-8, 11, 14 eicosatrienoico (C20:3n6)	0,23	0,14	0,15	0,27
Ácido erúico (C22:1n9)	0,08	0,02	0,08	0,03

Ácido-11, 14, 17 eicosatrienoico (C20:3n3)	0,06	0,02	0,06	0,02
Ácido araquidônico (C20:4n6)	0,09	0,02	0,04	0,08
Ácido tricosanoico (C23:0)	0,50	0,08	0,12	0,11
Ácido docosahexaenoico (C22:6n3)	2,86	0,04	0,09	0,10
<hr/> Σ SFA	<hr/> 27,21	<hr/> 34,00	<hr/> 39,83	<hr/> 38,98
Σ MUFA	29,1	24,00	19,06	23,83
Σ PUFA	18,88	0,33	6,23	5,47
Σ N6	4,80	0,87	4,50	5,22
Σ N3	18,88	0,44	1,73	0,21
Σ N9	3,94	3,00	0,03	3,81
N6/N3	0,25	1,97	2,59	24,84
EPA	18,87	0,03	0,03	0,03
DHA	2,86	0,04	0,09	0,10
ARA	0,09	0,02	0,04	0,08

Premix Vit/Min para peixes Nutrifish Vit C 4K 000. Vitamina A (Min) 250000001 UI; 25-Hidroxitamina D3 (Min) 600000 UI; Vitamina E (Min) 37500 UI; Vitamina K3 (Min) 3750 mg; Vitamina C (Min) 50 g; Vitamina B1 (Min) 4000 mg; Vitamina B2 (Min) 4000 mg; Vitamina B6 (Min) 4000 mg; Vitamina B12 (Min) 4000 mcg; Ácido fólico (Min) 1250 mg; Biotina (Min) 15 mg; Niacina (Min) 22,5 g; Vitamina B5 (Min) 12 g; Cobalto (Min) 125 mg; Cobre (Min) 2500 mg; Ferro (Min) 15 g; Iodo (Min) 375 mg; Manganês (Min) 12,5 g; Selênio (Min) 87,5 mg; Zinco (Min) 12,5 g.

Legenda: SFA ácido graxo saturado; MUFA ácido graxo monoinsaturado; PUFA ácido graxo poli-insaturado; N6 ômega 6; N3 ômega 3; N9 ômega 9; N6/N3 relação ômega 6 e ômega 3; EPA ácido eicosapentaenóico; DHA ácido docosahexaenóico; ARA ácido araquidônico.

Fonte: Arquivo Pessoal (2024).

Para a composição centesimal das rações foram realizadas análises de acordo com metodologias descritas pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Ciência Animal (INCT – CA, 2021). Foram realizadas análises de matéria seca (método G-003/1), cinzas (método M-001/2) e extrato etéreo (método de Randall, método G-005/2). Para análise do teor

de proteína bruta foi utilizado o analisador LECO. Toda análise centesimal foi realizada em duplicata.

Os conteúdos de matéria seca e cinzas foram determinados por métodos gravimétricos de secagem em estufa a 105°C, e por incineração da amostra, previamente carbonizada em mufla a 600°C, respectivamente. O teor de lipídios foi determinado por extração com clorofórmio metanol 2:1 segundo a metodologia de Folch et al. (1957) e a esterificação segundo a metodologia de Hartmann e Lago (1973) com adaptação de Maia e Rodrigues-Amaya (1993). O conteúdo de proteína foi estimado pelo analisador LECO.

2.3 Coleta de amostras

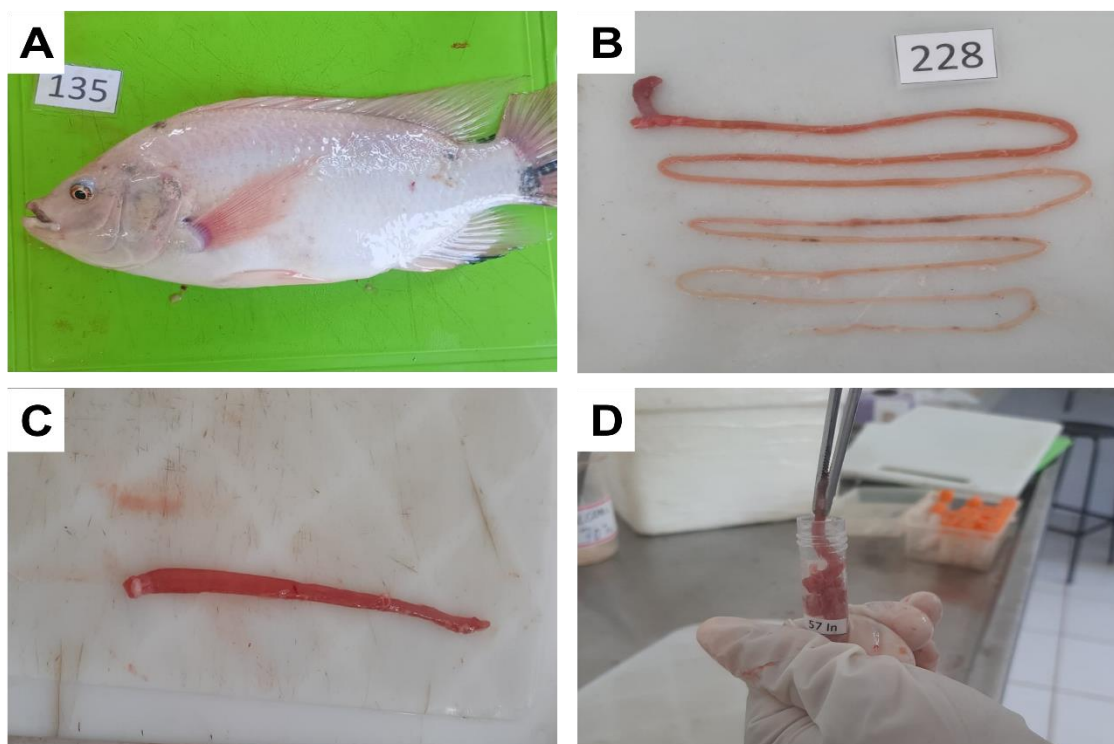
Ao término dos 60 dias experimentais, os peixes foram submetidos ao jejum de 24 horas. A seguir, 192 peixes (12 peixes por caixa), coletados aleatoriamente, foram insensibilizados em gelo e eutanasiados por secção medular, seguido da dissecação do intestino anterior com tamanho de aproximadamente 5 cm (Figura 1). A porção intestinal coletada foi armazenada em nitrogênio líquido logo após a coleta e posteriormente em ultrafreezer a -80°C até realização das análises.

Todos os peixes foram pesados antes e após o término do experimento. Os parâmetros de ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) foram calculados seguindo as equações levando em consideração os dados da caixa.

$$GP = \textit{peso final} - \textit{peso inicial} \quad (1)$$

$$CA = \frac{\textit{consumo de ração}}{\textit{ganho de peso}} \quad (2)$$

Figura 1 - Coleta da porção intestinal para análise enzimática.



Legenda: A imagem mostra exemplar de tilápia do Nilo da linhagem vermelha (A), seguida dos intestinos dissecados (B), porção intestinal anterior dissecada para análises (C) e armazenamento em tubo criogênico (D).

Fonte: Arquivo pessoal (2024).

2.4 Atividade enzimática intestinal

A análise enzimática intestinal foi realizada em triplicata. A atividade das enzimas intestinais foi determinada utilizando a porção intestinal dissecada. Os intestinos foram pesados para cálculo do volume da solução tampão fosfato-salino (tampão PBS) e em seguida homogeneizados na solução tampão PBS gelada (1:10 p/v) usando um volume (ml) 10 vezes o peso do tecido (g). O material é homogeneizado com triturador tipo Turrax e então centrifugado a 10000 rpm por 20 minutos em temperatura de 4°C e o sobrenadante coletado e congelado alíquota a -80 °C para análises posteriores.

A atividade da lipase foi determinada utilizando teste comercial Lipase Automação da Bioclin®, por meio do analisador bioquímico SX-300. A atividade da amilase foi mensurada utilizando o teste comercial cinético da Bioclin®, onde 4 µl da amostra foi acrescido com 200

μl de reagente. A leitura foi realizada em 405 nm, sendo 5 leituras com intervalo de 60 segundos.

A atividade da tripsina foi determinada utilizando o α -Benzoyl-L-arginine-4-nitroanilide (BapNA) como substrato. Alíquotas de 80 μl de BapNA (1,121 g Tris-HCL, 0,4438 g CaCl_2 anidro e pH 8,2) foram incubadas com 20 μl da amostra enzima a 37 °C. A atividade foi mensurada em 410 nm a cada 10 segundos por 8 minutos. A atividade foi definida como nmol de 4-nitroanilina. O coeficiente de extinção molar foi de 8800 $\text{m}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

A atividade da quimotripsina foi determinado utilizando o N-benzoyl-L-tyrosine ethyl ester (BTEE) como substrato. Alíquotas de 140 μl de BTEE (2,42 g Tris-HCl, 0,5548 g de CaCl_2 , ph 7,8) foram incubadas com 10 μl de amostra da enzima a 30 °C. A atividade foi mensurada a 256 nm a cada 10 segundos por 4 minutos e definida pela hidrólise de benzoyl-L-tyrosine e o coeficiente de extinção molar foi de 0,964 $\text{L} \times \text{mmol}^{-1} \times \text{mm}^{-1}$.

A concentração total de proteínas foi determinada através do método de Bradford (1976), utilizando albumina sérica bovina (BSA) como padrão, onde 10 μl da amostra foi adicionado com 200 μl da solução de Bradford e a absorbância mensurada em 595 nm.

2.5 Análise estatística

Todos os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e ao teste de homogeneidade de variância de Levene. Os dados da atividade enzimática que não atenderam ao pressuposto de normalidade foram transformados pela raiz quadrada. Após a transformação, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e às médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o Software de linguagem R, versão 4.0.

3. Resultados

3.1 Análise de desempenho

Observou-se efeito de interação entre as linhagens e dietas em relação ao peso final e ganho de peso ($p < 0,01$) (Tabela 2). A linhagem tailandesa destacou-se com maior peso final entre as linhagens alimentadas com óleo de peixe. Quando oferecido o óleo de milho, a

linhagem tailandesa também apresentou peso final superior, seguido pela linhagem vermelha, que obteve peso final intermediário, enquanto as demais linhagens, exibiram menor peso final.

Nas dietas a base de óleo de linhaça e soja, as linhagens tailandesa e vermelha não apresentaram diferença estatística entre si, sendo superiores às linhagens genefort e UFLA, que mostraram menor desempenho, independentemente da dieta.

Em relação ao ganho de peso, observou-se que a linhagem tailandesa apresentou melhor ganho ao ser alimentada com a dieta contendo óleo de peixe, enquanto as outras linhagens não mostraram diferença estatística entre si. Na dieta com o óleo de milho, a linhagem genefort teve o menor ganho de peso, enquanto as linhagens vermelha, UFLA e tailandesa não apresentaram diferença significativa. Já para o óleo de soja, não foram observadas diferenças estatísticas entre as linhagens.

A tailandesa destacou-se com maior ganho de peso na dieta contendo óleo de peixe, seguida pelas dietas com óleo de milho e óleo de soja. O menor ganho de peso foi observado com a dieta contendo óleo de linhaça, que resultou em um ganho de peso inferior em comparação às demais fontes de óleo.

Já a linhagem genefort apresentou menor desempenho em ganho de peso quando alimentada com as dietas contendo óleo de milho e óleo de linhaça. Contudo, seu desempenho não diferiu significativamente das linhagens vermelha e tailandesa.

Tabela 2 - Médias de peso final e ganho de peso por dieta e linhagem de tilápia do Nilo.

DIETA	LINHAGEM				MÉDIA
	Genefort	Vermelha	UFLA	Tailandesa	
PESO FINAL					
O. Peixe	400,47 Ab	426,50 Bb	368,31 Ab	511,07 Aa	426,59±52,95
O. Milho	347,00 Cc	403,29 Cb	362,17 Ac	477,79 Ba	397,56±50,69
O. Linhaça	359,00 Cb	433,73 Ba	353,73 Ab	421,31 a	391,94±35,89
O. Soja	372,80 Bb	456,87 Aa	364,54 Ab	461,13 Ba	413,83±45,28
MÉDIA	369,82±19,91	430,10±19,11	362,19±5,32	467,82±32,31	408,52
GANHO DE PESO					
O. Peixe	140,87 Ab	147,64 Bb	93,69 Ab	232,27 Aa	153,62±49,95
O. Milho	86,93 Bb	132,86 Ba	107,08 Aa	175,21 Ba	125,52±32,98

O. Linhaça	92,43 Ba	182,07 Aa	95,93 Ab	135,69 Ca	126,53±36,29
O. Soja	104,27 Ba	181,13 Aa	103,54 Aa	167,40 Ba	139,08±35,51
MÉDIA	106,12±21,01	160,93±21,32	100,06±5,46	177,64±34,83	137,22

Legenda: Os dados são apresentados em média e desvio padrão. a, b, c: diferença significativa ($p < 0,05$) entre as diferentes dietas. A, B, C: diferença significativa ($p < 0,05$) entre as diferentes linhagens pelo teste de Tukey.

Em relação ao consumo de ração (Tabela 3), não foram observadas diferenças significativas entre as dietas avaliadas. No entanto, a linhagem tailandesa apresentou um consumo médio de ração superior às demais linhagens, que por sua vez, não mostraram diferenças significativas entre si.

Para conversão alimentar (Tabela 3), a linhagem tailandesa demonstrou o melhor desempenho, seguida pela vermelha. Entre as diferentes fontes de óleo analisadas, o óleo de peixe proporcionou a melhor conversão alimentar em todas as linhagens, exceto para a linhagem vermelha que apresentou desempenho superior quando alimentada com óleo de linhaça.

Tabela 3 - Médias de consumo e conversão alimentar por dieta e variedade de tilápia do Nilo, por caixa.

DIETA	VARIEDADE				MÉDIA
	Genefort	Vermelha	UFLA	Tailandesa	
CONSUMO DE RAÇÃO					
O. Peixe	347,00	351,00	279,00	365,00	335,50±33,29 A
O. Milho	322,00	317,00	298,00	424,00	340,25±49,17 A
O. Linhaça	303,00	334,00	356,00	448,00	360,25±54,04 A
O. Soja	339,00	473,00	309,00	413,00	383,50±64,05 A
MÉDIA	327,75±16,90 b	368,75±61,37 b	310,50±28,37 b	412,50±30,20 a	355,99
CONVERSÃO ALIMENTAR					
O. Peixe	2,46	2,38	2,98	1,57	2,35±0,50
O. Milho	3,70	2,39	2,78	2,42	2,82±0,52
O. Linhaça	3,28	1,83	3,71	3,30	3,03±0,71
O. Soja	3,25	2,61	2,98	2,47	2,83±0,30

MÉDIA	3,17±0,44	2,30±0,28	3,11±0,35	2,44±0,61	2,76
-------	-----------	-----------	-----------	-----------	-------------

Legenda: Os dados são apresentados em média e desvio padrão. a, b, c: diferença significativa ($p < 0,05$) entre as diferentes dietas. A, B, C: diferença significativa ($p < 0,05$) entre as diferentes linhagens pelo teste de Tukey.

3.2 Análise da atividade enzimática

Observou-se efeito de interação entre as linhagens e dietas para a atividade enzimática da amilase, tripsina e quimotripsina ($p < 0,001$), exceto para a lipase (Tabela 4).

Para a atividade enzimática da lipase, não houve efeito de interação entre as diferentes linhagens e dietas, mas houve diferença significativa entre as dietas, sendo que todas as variedades apresentaram melhor atividade da lipase quando alimentadas com óleo de peixe, sendo que as demais dietas, não apresentaram diferença estatística entre si.

Quanto à atividade enzimática da amilase, as linhagens genefort, UFLA e tailandesa, não apresentaram diferença significativa entre si, enquanto a linhagem vermelha, apresentou a menor atividade. Para o óleo de milho, não houve diferença significativa entre as 4 linhagens, assim como o óleo de soja. Nas dietas contendo óleo de linhaça, a linhagem UFLA apresentou a maior atividade, enquanto as demais linhagens não apresentaram diferença significativa.

Entre as linhagens, a vermelha, não apresentou diferença significativa na atividade da amilase nas diferentes dietas, enquanto a linhagem genefort teve uma maior atividade quando alimentada com óleo de peixe, seguida do óleo de linhaça e soja que não diferiram entre si. A linhagem UFLA apresentou maior atividade com óleo de linhaça e óleo de peixe, que não apresentaram diferença significativa entre si.

Na atividade da tripsina, o óleo de peixe proporcionou maior atividade na linhagem genefort, tailandesa e UFLA. O óleo de milho não apresentou diferença significativa nas linhagens UFLA e tailandesa, enquanto as linhagens vermelha e genefort apresentaram atividade reduzida para essa enzima. Quando oferecido o óleo de linhaça, a UFLA, apresentou maior atividade, as linhagens genefort e vermelha, tiveram uma atividade intermediária, enquanto a tailandesa apresentou a menor atividade para essa linhagem entre as linhagens genefort, UFLA e tailandesa quando alimentadas com óleo.

Em relação à atividade da quimotripsina, o óleo de peixe estimulou a maior atividade na linhagem genefort, enquanto às demais linhagens não apresentaram diferença estatística entre si. Para o óleo de milho e óleo de soja não houve diferença significativa.

Em resumo, a atividade das enzimas amilase, tripsina e quimotripsina pode ser variável em função da dieta utilizada.

Tabela 4 - Média da atividade enzimática por dieta e enzimas na tilápia do Nilo.

DIETA	VARIEDADE				MÉDIA
	Genefort	Vermelha	UFLA	Tailandesa	
LIPASE					
O. Peixe	3,76	5,19	4,49	3,96	4,35±0,55 A
O. Milho	4,53	4,08	5,19	2,78	4,15±0,88 B
O. Linhaça	3,96	4,32	3,72	3,88	3,97±0,21 B
O. Soja	4,57	3,96	3,09	4,66	4,07±0,62 B
MÉDIA	4,21±0,35	4,39±0,48	4,13±0,79	3,82±0,67	4,13
AMILASE					
O. Peixe	541,96 Aa	191,27 Ab	705,96 Aa	515,74 Aa	488,73±186,57
O. Milho	162,05 Ca	220,52 Aa	294,12 Ba	329,79 Aa	251,62±65,01
O. Linhaça	301,37 Bb	338,56 Ab	857,32 Aa	184,96 Bb	420,55±258,45
O. Soja	271,26 Ba	296,53 Aa	408,85 Ba	332,33 Aa	327,24±51,79
MÉDIA	319,16±138,69	261,72±58,68	566,56±225,36	340,71±117,34	372,04
TRIPSINA					
O. Peixe	14,36 Aa	0,79 Bb	6,05 Aa	9,06 Aa	7,56±4,91
O. Milho	1,23 Bb	1,56 Ab	6,25 Aa	4,45 Ba	3,37±2,08
O. Linhaça	3,24 Bb	3,53 Ab	7,34 Aa	0,92 Cc	3,76±2,30
O. Soja	2,95 Bb	5,01 Aa	7,84 Aa	2,49 Bb	4,57±2,11
MÉDIA	5,44±5,20	2,72±1,65	6,87±0,74	4,23±3,05	4,81
QUIMOTRIPSINA					
O. Peixe	138,06 Aa	23,13 Bb	44,89 Ab	31,92 Ab	59,50±46,01
O. Milho	54,76 Ba	14,59 Ba	46,24 Aa	24,80 Aa	35,09±16,10
O. Linhaça	21,43 Cb	80,46 Aa	54,46 Aa	30,91 Aa	46,81±22,84
O. Soja	24,10 Ca	64,00 Aa	49,56 Aa	40,06 Aa	44,43±14,50

MÉDIA	59,59±47,16	45,54±27,47	48,78±3,68	31,92±5,43	46,46
-------	-------------	-------------	------------	------------	--------------

Legenda: Os dados são apresentados em média e desvio padrão. a, b, c: diferença significativa ($p < 0,05$) entre as diferentes dietas. A, B, C: diferença significativa ($p < 0,05$) entre as diferentes linhagens pelo teste de Tukey.

4. Discussão

Observou-se no estudo efeito de interação entre dietas e linhagens para dados do desempenho (peso final e ganho de peso) e atividade enzimática proteolítica e de amilase. Esse efeito de interação indica que o tipo de dieta influencia no desempenho e atividade enzimática de forma diferenciada entre as variedades, mostrando assim, que recomendações dietéticas devem ser ajustadas para cada linhagem a fim de otimizar os ganhos finais.

Ao avaliar o peso final e ganho de peso, percebe-se que a linhagem tailandesa se destaca em relação às demais, mostrando índices superiores, corroborando com Mainardes Pinto et al. (2011, p.228) que ao avaliar o desempenho produtivo entre as linhagens tailandesa e vermelha durante um período de 108 dias, observaram que a linhagem tailandesa apresentou crescimento superior, mesmo iniciando o período experimental com pesos médios homogêneos. Resultados semelhantes foram encontrados por Neves et al. (2008, p.533), que, ao avaliar o desempenho das linhagens tailandesa e Bouaké, observaram que a linhagem tailandesa apresentou melhores resultados em peso final e ganho de peso após 125 dias de tratamento com ração comercial contendo 45% proteína bruta (PB).

Esse estudo mostrou uma conversão alimentar alta, fator que pode ser explicado pelo método de produção da ração, pois apresenta-se peletizada e semipurificada. A ração peletizada é produzida a partir da compactação mecânica de ingredientes nutricionais em pequenos cilindros, chamados de pellets a partir da prensagem dos alimentos por uma matriz. Esse tipo de alimento, ao entrar em contato com a água, afunda, proporcionando maior perda caso não seja ingerido em alguns minutos, logo, se não houver um controle, pode-se inferir que houve um grande consumo de ração (Signor et al., 2011, p.22).

Nesse estudo o óleo e peixe foi a fonte lipídica que proporcionou melhor peso final nas linhagens genefort, vermelha e tailandesa. O óleo de peixe é reconhecido como uma importante fonte de ácidos graxos insaturados n3 PUFA na dieta, como o EPA e o DHA, amplamente valorizados pelos benefícios na saúde humana (Tocher, 2015, p.2; Jian et al., 2024, p.2), sua

administração melhora o crescimento, qualidade muscular e deposição de ácidos graxos na tilápia do Nilo (Li et al., 2024, p.2).

No entanto, sua inclusão na alimentação dos peixes representa um custo elevado, tornando-o uma opção economicamente inviável para a produção em larga escala, além de ser um produto finito de pescas marinhas. Com isso, a farinha de peixes é amplamente utilizada por sua alta concentração proteica, sendo também uma excelente fonte de ácidos graxos, energia digestível, minerais e vitaminas (Teixeira et al., 2006, p.119). Entretanto, também representa uma preocupação global, pois requer insumos de peixes selvagens para sua produção (Sáez-Royuela, 2022, p.2), tornando necessário encontrar fontes lipídicas alternativas para atender a aquicultura.

Diversos estudos avaliam a substituição de óleo de peixe por outras fontes lipídicas, destacando a soja como alternativa promissora devido sua alta concentração proteica e grande disponibilidade no Brasil (Teixeira et al., 2006, p.119). Nesse estudo, o óleo de soja apresentou semelhança com o óleo de peixe para o peso final e ganho de peso nas diferentes linhagens, assim como no estudo de Sanches, Pamplin e Hayashi (2020, p.130), que ao avaliar a substituição de óleo de soja por óleo de tilápia em alevinos de tilápia do Nilo, não observaram diferenças significativas para ganho de peso, mostrando que o uso de ambos os óleos não causa prejuízos no desempenho de tilápia do Nilo.

O óleo de soja também vem sendo estudado em espécies marinhas, como *Centropous parallelus* (Bendhack; Baldan; Fabregat, 2014, p.925-929), onde a inclusão de 10% de óleo de soja, não influenciou o desempenho em comparação às demais fontes lipídicas (óleo de peixe e óleo de peixe + óleo de soja). Em um estudo de Jian et al. (2024, p.1-12) incluindo o óleo de soja para *Macrobrachium rosenbergii*, um camarão de água doce da China, a mistura (5%, 1:1) de óleo de soja+óleo de peixe, mostrou ganhos expressivos no desempenho da espécie, seguido por óleo de peixe (5%) e óleo de soja (5%), concluindo que a mistura dos dois óleos para essa espécie de camarão, atende suas necessidades nutricionais.

O estudo das enzimas digestivas nos peixes, permite o entendimento da fisiologia e digestão dos nutrientes (Dorce et al., 2020, p.108). Nesse estudo, a atividade enzimática da amilase, tripsina e quimotripsina, apresentou efeito de interação nas diferentes linhagens, mostrando que a atividade de uma enzima pode agir de forma diferente dependendo da dieta oferecida e linhagem de tilápia do Nilo, assim como descrito por Seixas Filho (2003, p.3) a composição da dieta pode influenciar a liberação das enzimas digestivas.

A amilase é uma enzima digestiva de origem pancreática que age na digestão de polissacarídeos do quimo no intestino (Moura et al., 2007, p.1610). De maneira geral, peixes tropicais tem a capacidade de aproveitar melhor os carboidratos que espécies marinhas (Moraes e Almeida, 2020, p.266). Nesse estudo, as dietas com óleo de peixe, apresentaram, em média, maior atividade enzimática do que as demais dietas, principalmente na linhagem UFLA. A atividade da tripsina foi relativamente mais alta nas linhagens que receberam dietas contendo óleo de peixe. Por outro lado, a quimotripsina apresentou maior atividade na dieta com óleo de peixe somente na linhagem genefort.

A atividade da lipase não apresentou efeito de interação entre as linhagens e dietas, mas apresentou diferença estatística entre o óleo de peixe e as demais dietas. A lipase é responsável pela hidrólise de lipídeos, principalmente na porção anterior do intestino, podendo divergir entre diferentes espécies (Moraes e Almeida, 2020, p.265), hábitos alimentares (Gioda et al., 2017, p.1-7) fontes lipídicas (Dawood et al., 2021, p.1-12) e sistemas de criação (Santos et al., 2016, p.1259-1274). Nesse estudo, observou-se que a atividade da lipase foi aprimorada na linhagem vermelha quando alimentada com óleo de peixe, fato que contribui para o bom desempenho dessa linhagem. Isso ocorre porque o aumento da capacidade de digestão promove uma maior utilização e ingestão de ração, resultando em melhor desempenho dos animais (Dawood et al., 2021, p.7).

5. Conclusão

Conclui-se que a atividade das enzimas digestivas é dependente da fonte de óleo e da linhagem utilizada. De maneira geral, a alimentação da tilápia com óleo de peixe e óleo de soja promoveram melhor desempenho para as diferentes linhagens de tilápia do Nilo.

REFERÊNCIAS

- ÁLVAREZ, A. et al. Partial replacement of fish oil with vegetal oils in commercial diets: The effect on the quality of gilthead seabream (*Sparus aurata*). **Animal feed science and technology**, v. 265, p. 114504, 2020.
- BENDHACK, Fabiano; BALDAN, Ana P. FABREGAT, Thiago. E. H. P. Fish oil replacement by soybean oil in the diet of fat snook juveniles. **Revista Agropecuária Brasileira**, v.49, n.12, p.925-929, 2014.
- BHARDWAJ, Shivani et al. Regulation of omega-3 fatty acids production by different genes in freshwater fish species: a review. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 49, n. 5, p. 1005-1016, 2023.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochemist.** v. 72, p. 248–254. 1976.
- DAWOOD, Mahmoud A. O.; et al. The influence of coconut oil on the growth, immune, and antioxidative responses and the intestinal digestive enzymes and histomorphometry features of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 47, p. 869-880, 2021.
- DORCE, Larissa S.; et al. Atividade das enzimas digestivas frente a restrição alimentar de peixes ornamentais. **Revista Agrarian**, v.13, n.47, p.107-113, 2020.
- DUARTE, Francine Oliveira Souza. **Caracterização da carne da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetida à dietas suplementadas com óleo de peixe**. 2017. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2017. p195.
- FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G. H. S. A. A simple method for total lipid extraction and purification. **J Biol Chem**, v. 226, n. 1, p. 497-509, 1957.
- FREATO, Thiago A.; et al. Evaluation of Nile tilapia strains cultivated in cages under different feeding programmes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.6, p.1332-1336, 2012.

GIODA, Carolina Rosa; et al. Diferentes hábitos alimentares influenciam a atividade das enzimas digestivas em peixes de água doce. **Ciência Rural**, v. 47, p. e20160113, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20160113>. Acesso em: 05 março 2024.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. 1973. Rapid preparation of fatty acid methyl esters. **Laboratory Practice**, v. 22, n. 6, p. 475-494, 1973.

Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Ciência Animal (INCT). **Métodos para análise de alimentos**, 2^o edição, Viçosa, 2021.

JIAN, Yonghui; et al. Positive effects of a mixture of fish oil and soybean oil as a dietary lipid source on the ovarian development and health of female giant river prawn, *Macrobrachium rosenbergii* broodstock. **Aquaculture Reports**, 2024. Disponível em: doi.org/10.1016/j.aqrep.2024.102407. Acesso em: 22 dez 2024.

LI, Xinyuan; et al. Muscle metabolism in response to oxidized fish oil feed in juvenile Nile tilapia. **Water Biology and Security**, 2024. Disponível em: doi.org/10.1016/j.watbs.2024.100321. Acesso em: 22 dez 2024.

MAIA, E. L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Avaliação de um método simples e econômico para a metilação de ácidos graxos com lipídios de diversas espécies de peixes. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 53, p. 27-35, 1993.

MEINARDES PINTO, Cleide S. R.; et al. Desempenho produtivo da tilápia tailandesa e da tilápia vermelha da Flórida estocadas em diferentes densidades, em tanques rede instalados em viveiros, **Bol. Inst. Pesca**, v.37, n.3, p.225-234, 2011.

MORAES, Gilberto; DE ALMEIDA, Luciana Cristina. Nutrition and functional aspects of digestion in fish. In: **Biology and physiology of freshwater neotropical fish**. Academic Press, p. 251-271, 2020.

MOURA, Guilherme S.; et al. Desempenho e atividade de amilase em tilápias do Nilo submetidas a diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.11, p.1609-1615, 2007.

NEVES, Patrícia R.; et al. Evaluation of the performance of two strains of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in mixed raising systems. **Brasilian Archives of Biology and Technology**, v.51, n.3, p.531-538, 2008.

SÁEZ-ROYUELA, María; et al. Fish oil replacement by a blend of vegetable oils in diets for juvenile tench (*Tinca tinca Linnaeus*, 1758): Effects on growth performance and whole-body composition. **Animals**, v. 12, n. 9, p. 1113, 2022.

SANCHES; Luís E. F.; PAMPLIN, Paulo A. Z. HAYASHI, Carmino. Substituição do óleo de soja pelo óleo de tilápia em rações para alevinos de tilápia do Nilo. **Periódico Eletrônico Fórum Ambiental da Alta Paulista**, v.16, n.2, 2020.

SANTOS, Juliana Ferreira; et al. Digestive enzyme activity in the intestine of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus L.*) under pond and cage farming systems. **Fish physiology and biochemistry**, v. 42, p. 1259-1274, 2016.

SEIXAS FILHO, José Teixeira de. **Revisão sobre as enzimas digestivas nos peixes teleostei e seus métodos de determinação**. 2003.

SIGNOR, Arcangelo A.; et al., Rações farelada, peletizada e extrusada na produção de exemplares juvenis de tilápia do Nilo. **Cultivando o Saber**, v.4, n.3, p.20-31, 2011.

TEIXEIRA, E. A.; et al. Substituição de farinha de peixes em rações de peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.30; n.3/4, p.118-125, 2006.

TOCHER, Douglas R. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids and aquaculture in perspective. **Aquaculture**, v. 449, p. 94-107, 2015.