



Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Unidade Universitária de Dourados
Programa de Pós- Graduação em Recursos Naturais

ASPECTOS NUTRICIONAIS PARA A TILÁPIA-DO-NILO

Erika do Carmo Ota

Dourados – MS
03/2019





ASPECTOS NUTRICIONAIS PARA A TILÁPIA-DO-NILO

Acadêmica: Erika do Carmo Ota
Orientadora: Dra. Claudia Andréa Lima Cardoso
Coorientadora: Dra. Tarcila Souza de Castro Silva

“Tese apresentada ao programa de pós-graduação em Recursos Naturais, área de concentração em Recursos Naturais, da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Recursos Naturais”.

Dourados – MS
03/2019



O96a Ota, Erika do Carmo

Aspectos nutricionais para a tilápia-do-Nilo/ Erika do Carmo Ota. – Dourados, MS: UEMS, 2019.
142p.

Tese (Doutorado) – Recursos Naturais – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, 2019.

Orientadora: Prof.^a Dra. Claudia Andréa Lima Cardoso.

1. Histopatologia. 2. Metais traço. 3. Nutrição animal. I. Cardoso, Claudia Andréa Lima II. Título

CDD 23. ed. - 597

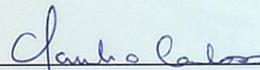
ERIKA DO CARMO OTA

**ASPECTOS NUTRICIONAIS PARA A TILÁPIA-DO-
NILO**

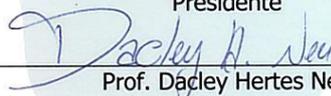
Este exemplar compreende a redação final da tese de doutorado defendida por Erika do Carmo Ota.

Dourados/MS, 22 de março de 2019.

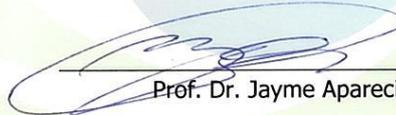
Banca Examinadora:



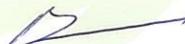
Profa. Dra. Claudia Andrea Lima Cardoso –
Presidente



Prof. Dacley Hertez Neu



Prof. Dr. Jayme Aparecido Povh



Prof. Dr. Ricardo Basso Zanon



Profa. Dra. Vanessa Lewandowski

*Aos meus pais, Cidinha e Hélio, exemplos de respeito,
amor, dedicação, persistência, humildade e honestidade.*

AGRADECIMENTOS

À Deus, por tudo que sou, penso e sinto; por iluminar meu caminho e dar a oportunidade de estar ao lado de pessoas especiais, as quais me ajudam a crescer.

Agradeço ao meu esposo, Marcio, pelo apoio e incentivo à realização profissional. Obrigada por estar sempre ao meu lado. Você é minha inspiração, te amo!

Aos meus filhos, Maria, Cadu e Luisa, pela compreensão da minha ausência em alguns momentos de família; pelo respeito, amor e carinho que me ajudaram a superar todos os obstáculos.

Aos meus familiares, em especial minha mãe, Cidinha e minhas irmãs, Elayne e Mitiko, por torcerem por mim e acreditarem em mim.

À Embrapa Agropecuária Oeste, pelo apoio no desenvolvimento deste trabalho. Aos funcionários da Embrapa Agropecuária Oeste, que durante esta jornada me deram auxílio e suporte na realização das análises laboratoriais. Em especial, quero agradecer à equipe do laboratório de Piscicultura, pela ajuda na condução dos experimentos; ao Dr. Éder Comunello, pela ajuda com a análise estatística; e aos amigos William Marra, Mario Kozima e Luis Inoue, por estarem sempre dispostos a ajudar.

À docente Dra. Cláucia Aparecida Honorato da Silva (UFGD) pela parceria profissional, pelos conselhos e ensinamentos, pela amizade e por receber com amor e carinho meus filhos em sua casa nos momentos que precisei.

À docente Dra. Marcia Regina Russo (UFGD) pelos ensinamentos, incentivo e apoio no trabalho; e à sua equipe, do Laboratório de Biologia Aquática, pela ajuda na coleta de campo, disposição e boa vontade nas biometrias em laboratório.

À Universidad Nacional del Nordeste (UNN), província de Corrientes, Argentina, pela colaboração no desenvolvimento deste estudo. Em especial, à Profa. Dra. Carolina Flores-Quintana pelos ensinamentos e apoio na condução das análises histopatológicas; e à técnica Vanessa, pelo acolhimento, paciência e alegria contagiante.

À Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul (UEMS), pela oportunidade de realização deste trabalho. Aos docentes do Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais (PGRN),

pela dedicação ao ensino e à pesquisa. Aos secretários do PGRN, Rafael e Elizângela, pelo apoio.

Às Instituições de Fomento à Pesquisa, Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), e Programa Institucional de Bolsas aos Alunos de Pós Graduação/UEMS (PIBAP/UEMS), pelo suporte financeiro.

Em especial, àquelas que respeito e admiro, minhas, orientadora e coorientadora, Dra. Claudia Andrea Lima Cardoso e Dra. Tarcila Souza de Castro Silva. Agradeço o apoio quando resolvi mudar o projeto de pesquisa. Hoje sinto-me encantada com a química e a piscicultura. Obrigada pela orientação, confiança e pelos ensinamentos. Tenho imenso carinho por vocês e eterna gratidão.

À todos aqueles que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Muito obrigada.

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	2
1. Capítulo - Considerações Iniciais	3
1.1 Introdução	3
1.2 Nutrição e qualidade de rações para a tilápia-do-Nilo	5
1.3 Uso de extratos vegetais na dieta da tilápia-do-Nilo	14
1.4 Histopatologia do intestino e fígado da tilápia-do-Nilo	17
1.5 Uso da cama-de-frango em sistema de cultivo da tilápia-do-Nilo	21
2. Objetivos	25
2.1 Objetivo Geral	25
2.2 Objetivos específicos.....	25
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
3. Capítulo - Qualidade de rações comerciais para tilápia-do-nylo: aspectos físicos, químicos e biológicos	45
Resumo	45
Abstract	45
Introdução.....	46
Objetivo	47
Materiais e Métodos	47
Local e rações comerciais	47
Aspectos físicos	48
Aspectos químicos	48
Aspectos biológicos	50
<i>Digestibilidade</i>	50
<i>Desempenho</i>	51
Análise dos dados	52
Resultados	53
Aspectos físicos	53
Aspectos químicos	55
Aspectos biológicos	58
<i>Digestibilidade</i>	58
<i>Desempenho</i>	64

Discussão	67
Conclusão	78
Considerações Finais	79
Referências Bibliográficas	80
4. Capítulo - Atividade hepática e gastroprotetora do extrato aquoso de folhas de <i>Serjania marginata</i> em tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	90
Resumo	90
Abstract	90
Introduction	91
Materials and Methods	92
Plant material	92
Preparation and chemical analysis of <i>S. marginata</i> leaf aqueous extract	93
Animals	93
Experimental design of hepatic and gastroprotective activity on Nile tilapia	94
Enzymatic analysis	94
Histopathological analysis liver and intestine	96
Statistical procedure	96
Results	97
Chemical composition of <i>S. marginata</i> leaf aqueous extract	97
Effect of <i>S. marginata</i> leaf aqueous extract on Nile tilapia liver and intestine enzymatic profile	97
Effect of <i>S. marginata</i> leaf aqueous extract on Nile tilapia histopathological morphology liver and intestine	98
Discussion	101
References	106
5. Capítulo - Impacto ambiental e desempenho produtivo no cultivo da tilápia-do-Nilo com uso da cama-de-frango	117
Resumo	117
Abstract	117
Introdução.....	118
Materiais e Métodos	119
Local, período experimental e manejo da produção	119
Amostragem de água, sedimento e peixes	120

Análise dos parâmetros de qualidade da água, sedimento, cama-de-frango e filé da tilápia	120
Desempenho produtivo	121
Análise estatística	121
Resultados	123
Efeito da adubação dos viveiros com cama-de-frango nas variáveis físicas e químicas	123
Efeito da adubação dos viveiros com cama-de-frango no desempenho produtivo da tilápia	127
Discussão	128
Referências	134
6. Capítulo – Considerações Finais	141

RESUMO

Os aspectos nutricionais são relevantes para otimizar a produção da tilápia-do-Nilo e redução do impacto ambiental causado pela atividade. Em função do potencial no escopo dos aspectos nutricionais, estudos precisam ser incentivados acerca da qualidade das rações comerciais, uso de extratos de plantas e adubação de viveiros com cama-de-frango, considerando a variedade de sistemas de produção, fases de desenvolvimento dos peixes, características climáticas do local de produção e condição imunológica dos animais. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade de rações comerciais para tilápia-do-Nilo em crescimento; testar a incorporação do extrato aquoso de folhas de *Serjania marginata* na dieta da tilápia; e verificar os efeitos da adubação com cama-de-frango em viveiros no cultivo da tilápia. O estudo da qualidade de rações comerciais foi realizado com rações de dez diferentes fabricantes sendo avaliados os aspectos físicos (tamanho de péletes, flutuabilidade, estabilidade e quantidade de finos), químicos (composição centesimal, e teores de aflatoxinas e de vitamina C) e biológicos (desempenho e digestibilidade); no estudo com uso do extrato aquoso de folhas de *S. marginata* foram avaliados os efeitos na atividade de enzimas do metabolismo digestivo e hepático e na histopatologia do intestino e fígado; e na fertilização com cama-de-frango foram avaliados a acumulação de elementos traço (água, sedimento e filé do peixe) e o desempenho produtivo (ganho de peso e conversão alimentar). De acordo com os resultados obtidos, destaca-se que a qualidade das rações comerciais difere entre fabricantes e lotes do mesmo fabricante, além de não ser condizente em alguns casos com a qualidade esperada, de acordo com as informações do rótulo e limites estabelecidos para sua conformidade, afetando os parâmetros de desempenho (índice viscerossomático, consumo de ração, mortalidade e taxas de retenção proteica e de energia) e de digestibilidade, com base na exigência da espécie (fósforo e proteína digestíveis), além de apresentarem relações inadequadas de cálcio/fósforo e energia/proteína, digestíveis. No ensaio com o aditivo foi verificado que o extrato aquoso de folhas de *S. marginata*: i) é composto por quercitrina, isoquercitrina, proantocianidina trímero tipo A e ácido quínico; ii) estimula a atividade da fosfatase alcalina intestinal; iii) não afeta os teores de alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase do fígado; iv) mantém a estrutura normal do fígado; e v) favorece o desenvolvimento de células caliciformes e altura das vilosidades intestinais. Tratando-se da estratégia para redução do uso de rações constatou-se que: i) os teores de Cu, Fe, Ni e P na água dos viveiros fertilizados com cama-de-frango ficaram fora do padrão exigido, com base nos padrões de referência legais, entretanto os teores de Ni e P apresentaram-se mais elevados na água de abastecimento dos viveiros; ii) o uso da cama-de-frango não influenciou no ganho em peso e conversão alimentar da tilápia-do-Nilo; e iii) a fertilização pode levar à contaminação do ambiente aquático. Assim, o presente estudo evidencia os gargalos na qualidade de rações comerciais para a tilápia-do-Nilo; destaca o potencial do uso do extrato aquoso de folhas de *S. marginata* como hepatoprotetor e estimulante da digestão intestinal; e fornece informações sobre os efeitos do uso da cama-de-frango no cultivo da tilápia. Por fim, salienta-se que os aspectos nutricionais para a tilápia-do-Nilo compreendidos neste estudo podem auxiliar na redução do impacto ambiental provocado pela atividade e no aumento da produtividade, além de servir como alerta da relevância de uma legislação que possa garantir um padrão de qualidade das rações comercializadas.

Palavras-chave: Nutrição animal; *Oreochromis niloticus*; GIFT; histopatologia; plantas medicinais; elementos traço; CONAMA.

ABSTRACT

Nutritional aspects are relevant to optimization Nile tilapia production and reduction of the environmental impact induced by this activity. Depending on the potential of nutritional aspects, studies need to be encouraged on the quality of commercial diets, use of plants extracts and the fertilization of ponds with chicken manure, considering the variety of production systems, fish development, climatic characteristics in the site production and animals immunity. Therefore, the objective in present study was to evaluate the quality of commercial feed for growing Nile tilapia; test inclusion leaves aqueous extract of *Serjania marginata* on tilapia diet; and verify the effects of ponds fertilization with chicken manure in tilapia cultivation. The study of commercial feed was carried out with feed from ten different manufacturers, being evaluated physical (pellet size, float, stability and quantity of fines), chemical (nutritional composition, aflatoxin and vitamin C contents) and biological (performance and digestibility) aspects; in the study with the use of *S. marginata* was explored the effects on the activity of digestive enzymes and enzymes associated with the metabolism of the liver, and on intestine and liver histopathology; and in the experiment with chicken manure fertilization were evaluated accumulation of heavy metals (water, sediment and fish fillet) and productive performance (weight gain and feed conversion). According the results obtained, it is important to note that the quality of commercial feed differs between manufacturers and lots of the same manufacturer, besides not being in some cases in accordance with expected quality, according to label information and limits established for its (viscerosomal index, feed intake, mortality, protein and energy retention rates) and digestibility, based on specie requirement (phosphorus and protein, digestibles) and inadequate relationships of digestible calcium/ phosphorus and energy/protein, digestibles. It was verified that leaves aqueous extract of *S. marginata*: i) is composed of quercitrin, isoquercetrin, proanthocyanidin trimer A-type and quinic acid; ii) stimulates the activity of intestinal alkaline phosphatase; iii) does not affect the alanine aminotransferase and liver aspartate aminotransferase levels; iv) maintains normal liver structure; and v) favors the development of goblet cells and intestinal villi height. With regard to the strategy to reduce the use of rations, it was verified that: i) the levels of Cu, Fe, Ni and P in the water of fertilized ponds with chicken manure were out of required standard, based on the legal reference, however Ni and P contents were presented higher in the ponds water supply; ii) the use of chicken manure did not influence weight gain and feed conversion of tilapia; and iii) the fertilization can lead to aquatic environment contamination. Thereby, the present study evidences bottlenecks in quality of commercial diets for Nile tilapia; highlights the potential of using the aqueous extract of *S. marginata* leaves as a hepatoprotective and intestinal digestion stimulant; and provides information on the effects of using chicken manure on tilapia cultivation. Finally, it should be noted that nutritional aspects for Nile tilapia included in this study can help to reduce the environmental impact caused by the activity and increase productivity, as well as serve as a warning of relevance legislation that can guarantee a quality standard of commercialized feed.

Key-words: animal nutrition; *Oreochromis niloticus*; GIFT; histopathology; medicinal plants; trace metals; trace metals; CONAMA.

1. CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1. Introdução

Entre os peixes cultivados, a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) se destaca em função de apresentar maior resistência à doença, ótimo desempenho e apreciação de seu filé na culinária (NG & ROMANO, 2013; QIANG et al., 2013; LI et al., 2018). O Brasil é o quarto maior produtor mundial da espécie, com 99% da produção nacional consumida internamente e a previsão é de que o Brasil produzirá 500 mil t de tilápia em 2020 (PeixeBr, 2018).

Estratégias nutricionais para a tilápia-do-Nilo têm sido investigadas com objetivos diversos, como aumento da resistência ao manejo, manutenção da saúde, melhoria no desempenho, na qualidade nutricional da carne e na redução do impacto ambiental. O fato dessas informações auxiliarem no manejo nutricional da espécie e respectivo balanceamento das rações não implica na obrigatoriedade de sua aplicação na fabricação desses produtos. A exigência de um padrão mínimo de qualidade destas rações é inserida dentro deste contexto por meio do estabelecimento dos instrumentos, legislativo e fiscal. Assim, no Brasil, para assegurar a qualidade das rações comerciais, são exigidos dos fabricantes padrões mínimos das diversas matérias primas empregadas na alimentação animal (BRASIL, 1988), a garantia dos valores brutos da composição nutricional de acordo com os níveis de segurança impostos no rótulo (BRASIL, 2009) e um controle de qualidade dos ingredientes utilizados de acordo com as Boas Práticas de Fabricação (BPF) (BRASIL, 2007).

Por sua vez, os fabricantes, para reduzir o custo, substituem ingredientes de origem animal pelos de origem vegetal (DANIEL, 2018). Além disso, a oscilação no valor de mercado da própria matéria-prima vegetal pode também levar à sua inclusão em diferentes níveis, dependendo da época (safra/entressafra), perturbações naturais (seca ou chuva em excesso), impacto sanitário (doenças e pragas) e concorrência de mercado (interno vs externo, humanos vs animais de criação, e fábricas de ração para aves vs suíno vs gado vs peixes) (CYRINO et al., 1998; ONO, 1998; FAO, 2011; PAHLOW et al., 2015). Essas matérias-primas apresentam diferentes valores de aproveitamento dos respectivos nutrientes pelos peixes, variando em função da espécie, variedade e fase de desenvolvimento. O uso da matéria-prima vegetal como fonte de nutrientes também pode acarretar em efeitos

indesejados, como a deficiência em aminoácidos e ácidos graxos essenciais (FURUYA et al, 2004a), ocorrência de fatores anti-nutricionais (redução da disponibilidade de fósforo e microminerais), e presença de fibra em excesso (LUSAS & RIAZ, 1995; ZHAO et al., 2010). Assim, as rações comerciais podem apresentar qualidades nutricionais que diferem entre fabricantes e entre lotes do mesmo fabricante. A avaliação da sua qualidade apenas com base nas informações do rótulo e a garantia das BPF podem não indicar com precisão o seu respectivo efeito no aproveitamento dos nutrientes, desempenho animal, saúde dos peixes e impacto ambiental.

Nesse aspecto, o uso de aditivos nas rações tem demonstrado ser uma ferramenta promissora na nutrição de peixes, pois pode promover o melhor aproveitamento dos nutrientes e conseqüentemente reduzir o impacto ambiental (SINDIRAÇÕES, 2005). A demanda do mercado de aditivos para ração na aquicultura deve crescer de forma constante e ultrapassar 155 mil toneladas até 2024 (GLOBE NEWSWIRE, 2018) e uma vez que são adotados pelo mercado, tendem a ser considerados como “commodities”. Esse mercado será impulsionado por produtos que melhorem a saúde intestinal do animal e por promotores de crescimento naturais, devido à restrição do uso de antibióticos e hormônios por regulamentações e políticas rigorosas (GLOBE NEWSWIRE, 2018).

Aditivos fitogênicos para rações, também conhecidos como fitobióticos ou botânicos, são comumente definidos como metabólitos com efeitos benéficos na saúde e produção (DURMIC & BLACHE, 2012; PUVAČA et al, 2013; SHARIFI-RAD et al, 2017). Na produção animal, os fitogênicos podem atuar como imunomoduladores, antioxidantes, estimulantes digestivos e substâncias que podem aumentar o desempenho e qualidade dos produtos animais (KARÁSKOVÁ et al., 2015). É importante o desenvolvimento de estudos que avaliem o uso de extratos de plantas em organismos aquáticos para que o conhecimento gerado possa ser aplicado em larga escala na aquicultura (STRATEV et al, 2018; AWAD & AWAD, 2017; REVERTER et al., 2014). Considerando que o Brasil apresenta uma rica diversidade vegetal, existe um elevado potencial de geração de inovação tecnológica para fins do uso de plantas medicinais em organismos aquáticos. *Serjania marginata*, uma planta de ampla distribuição no Cerrado, apresentou efeitos antioxidante (HEREDIA-VIEIRA et al. 2015) e gastroprotetor em camundongos (PÉRICO et al., 2015), com uso do extrato hidroetanólico de suas folhas. Estudos com uso de extratos de *S. marginata* em organismos aquáticos podem indicar os efeitos provocados e potencial uso destes em animais.

Por outro lado, estudos na busca por alimentos e ingredientes alternativos mais baratos (TACON & METIAN, 2008; FAO, 2011; DIETZ & LIEBERT, 2018; NARIMBI et al., 2018; BARONE et al., 2018) também são impulsionados pelo fato das rações comporem o maior custo do sistema de produção (SCORVO FILHO et al., 2010; EL-SAYED, 2013; SONODA et al., 2016). Na dieta da tilápia, durante a fase inicial de seu desenvolvimento, tem sido proposto o uso de alimentos naturais, como organismos planctônicos, visto que podem ser obtidos dentro do próprio sistema de criação a um custo bem menor (BEYRUTH et al, 2004; KNUD-HANSEN et al., 1993; PEREIRA & SILVA, 2012; EL-SAYED, 2013; ISLAM et al., 2017). Para propiciar o desenvolvimento desses organismos aquáticos são utilizados fertilizantes, naturais ou sintéticos, sendo a cama-de-frango bem aceita pelos produtores em função de sua pronta disponibilidade e baixo custo (KUBITZA, 2000; NARIMBI et al, 2018). Entretanto, existem poucas informações a respeito da sua influência no aspecto ambiental. Alguns estudos indicam que a adubação orgânica pode reduzir a qualidade da água em função da possibilidade do acúmulo de matéria orgânica e/ou da menor taxa de oxigênio dissolvido (KUBITZA, 2000) e por meio da contaminação com elementos traço (IRSHAD et al., 2013; KUZIEMSKA et al., 2016). Esses elementos traço podem ser acumulados nos peixes, podendo causar danos à saúde humana (KHAN et al., 2005) e redução na qualidade da água de habitats próximos (DE MOURA et al., 2014). Para que a cama-de-frango possa ser utilizada na produção de peixes é importante conhecer as consequências de seu uso, levando em consideração tanto o aspecto produtivo quanto ambiental.

Assim, a qualidade das rações comerciais, o uso de extratos de plantas e a adubação de viveiros com cama-de-frango são relevantes para otimização da produção da tilápia e redução do impacto ambiental causado pela atividade, constituindo aspectos nutricionais no escopo da aquicultura.

1.2 Nutrição e qualidade de rações para a tilápia-do-Nilo

O uso de rações comerciais como base na produção mundial de tilápia foi intensificado, passando de 70% (1995) para 85% (2010), sendo previsto um aumento deste índice para 95% até 2020 (FAO, 2011). Na formulação dessas rações, com objetivo de reduzir custos, ingredientes mais caros têm sido substituídos por outros mais baratos. Apesar de estudos indicarem que essa substituição pode ser realizada sem causar perda no aspecto

produtivo (FURUYA et al., 2001a,b; BOSCOLO et al., 2002; PEZZATO et al., 2002; EL-SAIDY & GARBER, 2003; KÖPRÜCÜ & ÖZDEMİR, 2005; GUIMARÃES et al., 2008a,b; PONTES et al., 2010; FURUYA E FURUYA, 2010; GUIMARÃES et al., 2012, PEZZATO et al., 2012; SILVA et al., 2016; KOCH et al., 2016; VIDAL et al., 2017; EL-HUSSEINY et al., 2017; MONTOYA-CAMACHO et al., 2018; AL-THOBAITI et al., 2018), deve-se respeitar o limite máximo de inclusão para cada ingrediente, em função dos possíveis efeitos negativos que podem ocorrer nos âmbitos produtivo (AMIRKOLAIE et al., 2005; GATLIN et al., 2007; TRIPATHI & MISHRA, 2007; KAUSHIK; SEILIEZ, 2010; PASTORE et al., 2012; BELGHIT et al., 2014; FIGUEIREDO-SILVA et al., 2015; FERNANDES Jr. et al., 2017; XIE et al., 2017; MICHELATO et al., 2018) e ambiental (PAHLOW et al, 2015; MONTANHINI NETO & OSTRENSKY, 2015; MOURA et al., 2016; RORIZ et al, 2017; DAVID et al., 2018).

Por outro lado, além da substituição de ingredientes na fabricação das rações, diversos outros fatores estão relacionados à sua qualidade, como as condições no processo de fabricação, transporte e armazenamento (CHOW, 1980; KUBITZA, 2009; PASTORE et al., 2012; FREITAS et al., 2016; SOLOMON et al., 2016), os quais podem afetar o aspecto físico e químico das rações. Considerando o aspecto físico, para garantir o consumo da ração pelos peixes com menor perda possível de nutrientes, seria ideal que as rações apresentassem: (i) baixo percentual de heterogeneidade e variação no tamanho de péletes; (ii) baixa quantidade de finos; e (iii) manutenção da flutuabilidade e estabilidade até o efetivo consumo da ração (FREITAS et al., 2016). A padronização no tamanho dos péletes é importante para que os peixes consigam apreender a ração, em função da sua limitação na abertura bucal. A inadequação no tamanho do pélete pode acarretar em desperdício de ração, redução de peso e de saúde dos peixes, problemas com a qualidade de água e consequente prejuízo financeiro ao produtor.

A estabilidade da ração na água e resistência para avaria física (produção de finos) são normalmente afetadas pela combinação da composição dos ingredientes e processamento com o cozimento por extrusão (HILTON et al., 1981; BARROWS & HARDY, 2000; BARROWS et al., 2007). De acordo com Freitas et al. (2016), a baixa dureza e integridade física dos péletes aumentam a quantidade de finos que, por sua vez, tornam os nutrientes mais suscetíveis à lixiviação na água. Os principais responsáveis pela dureza (resistência) dos alimentos extrusados são a extensão do tratamento térmico e da transformação do amido (gelatinização) (BARROWS & HARDY, 2000; MISRA et al.,

2002; BROWN et al., 2015; MORO & RODRIGUES, 2015). A flutuabilidade, por sua vez, está relacionada com a geometria dos péletes e o seu tamanho, os quais dependem dos processos de expansão e secagem (FORTE et al., 2018). De acordo com Moro e Rodrigues (2015), apesar de outros fatores influenciarem a flutuabilidade das rações para organismos aquáticos, a quantidade de amido é um fator crítico para essa característica, sendo 20% de amido o mínimo necessário para garantir boa flutuabilidade. A flutuabilidade dos péletes é necessária até que o peixe consiga detectar, apreender e consumir a ração (FREITAS et al., 2016); e embora não exista um padrão estabelecido para este parâmetro é desejável que pelo menos 95% dos péletes permaneçam flutuando por 20 a 30 minutos (KUBITZA, 2009; PASTORE et al., 2013).

Em outro aspecto, rações comerciais devem atender à exigência nutricional da tilápia, a qual, assim como de outros peixes cultivados, depende de fatores diversos, como linhagem, sexo, fase de desenvolvimento, fatores ambientais, frequência e taxa de arraçoamento, qualidade da dieta e estado de saúde (FURUYA et al., 2012a; FRACALLOSSI et al., 2012). Essa exigência é determinada com base na quantidade, qualidade e balanço de nutrientes e energia, fundamentais para suprir as necessidades nutricionais dos peixes, visando benefício no crescimento, imunidade e/ou qualidade nutricional do peixe, redução do custo de produção, etc. Assim, a exigência pode ser estudada com base na composição da dieta, levando em consideração os nutrientes, como proteína, aminoácidos, lipídios, ácidos graxos, vitaminas e minerais (PEZZATO et al., 2004).

As proteínas (fonte primária de aminoácidos) e os lipídios (principal fonte de energia) são considerados os principais nutrientes no contexto da formulação de rações para peixes, pois representam os nutrientes essenciais mais relevantes para esses animais (TOCHER, 2003). De acordo com Furuya (2010), a tilápia acima de 100 g exige 24,3% de proteína digestível. O nível de proteína também deve suprir as exigências mínimas de cada aminoácido e assegurar a manutenção de uma relação constante entre as suas concentrações (PORTZ & FURUYA, 2012). As tilápias exigem dez aminoácidos na dieta: arginina, fenilalanina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptofano e valina, os quais constituem aqueles mais limitantes (FURUYA et al., 2012a). A exigência pode ser bastante variável com o peso corporal (FURUYA et al., 2004a,b; FURUYA et al., 2005; GONÇALVES et al., 2009; RIGHETTI et al., 2011; FURUYA et al., 2012b; FURUYA et al., 2013; MICHELATO et al., 2015; MICHELATO et al., 2016, 2017; ZAMINHAN et al.,

2018; XIAO et al., 2018), sendo poucos estudos desenvolvidos em cada fase de crescimento (Tabela 1).

Além do balanceamento de aminoácidos é importante que as dietas sejam formuladas em função do ajuste do balanço energético-proteico das rações (FIGUEIREDO-SILVA et al., 2010; ZHENG et al., 2010; NRC, 2011; FERNANDES JR et al., 2016). O balanço energético/proteico para a tilápia-do-Nilo tem sido contemplado em muitos estudos (AL HAFEDH, 1999; ALI et al., 2008; EL-SAYED & TESHIMA, 1992; FERNANDES JR. et al, 2016; HAIDAR et al., 2018; KAUSHIK et al., 1995; LI et al., 2012). De forma geral, assume-se que a relação energia digestível:proteína digestível (ED:PD) ideal para as tilápias seja próxima de 10 kcal g⁻¹ proteína (NRC, 1993, 2011), mas à medida que o peixe se desenvolve, a exigência em proteína é reduzida, aumentando a relação energia:proteína (FURUYA et al., 2012a). Em experimento fatorial, Fernandes Jr. et al. (2016) avaliaram o efeito de 5 níveis de PD (24, 26, 28, 30, e 32%), dois níveis de ED (13,4 e 14,65 MJ ED kg⁻¹ dieta) e dois níveis de colina (0 e 1000 mg kg⁻¹ dieta), em tilápia-do-Nilo (148±6,7g) em sistema de cultivo a campo, com alimentação duas a três vezes ao dia, dependendo da temperatura da água. Os autores concluíram que o melhor desempenho foi obtido com as relações PD:ED de 21,45 g MJ⁻¹ (28,74% PD/ 13,4 MJ ED kg⁻¹) e 18,60 g MJ⁻¹ (27,25% PD/ 14,65 MJ ED kg⁻¹), com base no rendimento de filé e manutenção da homeostase (parâmetros hematológicos, teor lipídico e histologia do fígado), respectivamente.

Em relação à exigência de minerais pelos peixes, o fósforo tem sido o mais estudado (PRABHU et al., 2013). Este mineral constitui a maior parte do tecido esquelético; é considerado essencial para o crescimento e reprodução dos peixes; e participa metabolismo lipídico e de carboidratos (LOVELL, 1988). De acordo com Schamber et al. (2014), a exigência de fósforo disponível (P_d) pela tilápia-do-Nilo (145,87±9,51g) é de 6,12 g kg⁻¹ com base no crescimento, composição corporal e mineralização dos ossos. Para a tilápia em fase de crescimento, Yao et al. (2014) afirmam que a tilápia (46,03±2,14g) requer 8,6 g kg⁻¹ P_d para manutenção de seu desempenho em nível ótimo, enquanto Furuya et al. (2008) observaram que a tilápia de 35 a 100 g apresenta os melhores valores de consumo de ração, conversão alimentar e taxa de eficiência proteica com 3,7; 4,8 e 4,8 g kg⁻¹ P_d, respectivamente.

Tabela 1 Exigência de aminoácidos digestíveis pela tilápia-do-Nilo

Nutriente	Peso dos peixes (g)	Exigência	Alimentação	Tempo experimental (dias)	Fator base	Método de análise	Literatura
Arg		19,50 g kg ⁻¹ (125% Lis)					
Hist		5,40 g kg ⁻¹ (34% Lis)					
Iso		8,80 g kg ⁻¹ (57% Lis)					
Leu		15,0 g kg ⁻¹ (96% Lis)					
Tre	20	14,50 g kg ⁻¹ (93% Lis)	3x dia ⁻¹ , saciedade	57	eficiência de retenção de aminoácidos e proteína	Deleção	DIÓGENES et al. (2016)
Lis		15,60 g kg ⁻¹					
Val		11,8 g kg ⁻¹ (76% Lis)					
Trip		3,70 g kg ⁻¹ (24% Lis)					
Met+Cis		9,9 g kg ⁻¹ (64% Lis)					
Fen+Tir		15,7 g kg ⁻¹ (101% Lis)					
Lis	20,7 e 166	16,9 e 68,68 mg (kg peixe) ⁻⁷ dia ⁻¹	2x dia ⁻¹ , saciedade	56	eficiência de retenção de proteína	Regressão linear	HE et al. (2013)
Met		3,12 e 16,65 mg (kg peixe) ⁻⁷ dia ⁻¹					
Tre	9 a 15	8,3 e 9,9 g kg ⁻¹	3x dia ⁻¹ , saciedade	56	taxas de alimentação de 3,0 e 2,5% peso corporal	Técnica da diluição	LIEBERT & BENKENDORF (2007)
Met		7,3 e 8,8 g kg ⁻¹					
Met+Cis	550 a 700	9,0/ 9,9 g kg ⁻¹	3x dia ⁻¹ , saciedade	30	ganho de peso/ produção de filé	Regressão linear, quadrático ou descontínuo Linear Response Plateau (LRP)	MICHELATO et al. (2013)
Tre	563,3±15,1	11,5 g kg ⁻¹	5x dia ⁻¹ , saciedade	28	produção de filé	Regressão de segunda ordem	MICHELATO et al. (2015)
Lis	274,9±3,3	14,6 g kg ⁻¹ (5,8% Lis)	4x dia ⁻¹ , saciedade	40	produção de filé	Regressão de segunda ordem	MICHELATO et al. (2016)
Lis	87 a 226	1,31; 1,03; 1,16 e 1,31% Lis	NI	45	ganho de peso diário, conversão alimentar, taxa de eficiência proteica e taxa de deposição de proteína	Linear Response Plateau (LRP)	FURUYA et al. (2013) ¹

Lis	5,72±0,10	1,56 e 1,44% Lis	4x dia ⁻¹ , saciedade	42	ganho de peso e conversão alimentar	Linear Response Plateau (LRP)	FURUYA et al. (2006)
Lis	117,9±0,67	1,42% (5,7% PB ou 4,8 mg kg ⁻¹ ED)	3x dia ⁻¹ , saciedade	50	desempenho	Regressão polinomial	FURUYA et al. (2004b)
Hist	4,84±0,04	8,2 g kg ⁻¹ (3,1% Lis)	4x dia ⁻¹ , saciedade	100	ganho de peso	Regressão de segunda ordem	MICHELATO et al. (2017)
Met	5,62±0,13	0,49 % (1,75% Lis)	4x dia ⁻¹ , 4,5 a 6,0% do peso corporal	56	ganho de peso	Regressão, modelo Broken-line	NGUYEN & DAVIS (2009)
Trip	38,2±0,09	2,9; 3,1; 3,1; e 2,9 g kg ⁻¹	3x dia ⁻¹ , saciedade	45	ganho de peso, conversão alimentar, taxa de eficiência proteica e uniformidade do peixe diante dos níveis de Trip	Regressão de segunda ordem	ZAMINHAM et al. (2017)
Val	6,48±0,06	11,5 e 12,7 g kg ⁻¹	100 g kg ⁻¹ dia ⁻¹ (1º mês) e 80 g kg ⁻¹ dia ⁻¹ (2º mês)	54	ganho de peso e eficiência de retenção de proteína	Regressão, modelo Broken-line	XIAO et al. (2018)
Tre:Lis	0,95±0,01	88%	6x dia ⁻¹ , saciedade	30	conversão alimentar	Regressão linear, quadrático ou descontínuo Linear	TAKISHITA (2012)
Trip:Lis	1,16±0,19	19,5%			desempenho	Response Plateau (LRP)	

Nota: Arg=arginina, Hist=histidina, Iso=isoleucina, Leu=leucina, Tre=treonina, Lis=lisina, Val=valina, Trip=triptofano, Met=metionina, Cis=cistina, Fen=fenilalanina, Tir=tirosina, Val=valina, PI=proteína ideal, PB=proteína bruta, NI=não informado. ¹Experimento em tanques-rede.

Além da necessidade de atendimento da exigência nutricional de fósforo disponível, para que não seja afetada eficiência de retenção de fósforo (CHENG et al., 2006; MIRANDA et al., 2000; VIELMA & LALL, 1998) e a disponibilidade de outros minerais (zinco, magnésio e ferro), é necessário o correto balanceamento de cálcio (Ca_d) e fósforo disponíveis (SCHAMBER, 2008; GUIMARÃES et al., 2012). Segundo Furuya et al. (2012a), a relação $Ca_d:P_d$ ideal para a tilápia é de 1:1 a 1:1,5. Por outro lado, Hassan et al. (2013), em experimento fatorial com diferentes relações Ca_d/P_d (0,3:1, 0,6:1 e 0,9:1) e suplementação da dieta da tilápia com três níveis de fitase (0, 500 e 1000 U kg^{-1} da dieta), concluíram que a melhor relação $Ca_d:P_d$ é de 0,6:1 considerando o crescimento dos peixes, digestibilidade, mineralização vertebral, alguns parâmetros sanguíneos da tilápia e suplementação de fitase de 500 ou 1000 U kg^{-1} .

Os demais minerais são pouco estudados na literatura, considerando que a exigência difere entre espécies e fases desenvolvimento. A adequada dose de cobre na dieta é de 4 mg kg^{-1} em sistema contendo 0,98 μg de Cu por litro de água, com base no ganho de peso e retenção de cobre no corpo de híbridos de tilápia (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*) (0,79 \pm 0,03 g) (SHIAU & NING, 2003). De acordo com Lin et al. (2008), a exigência do manganês é de 7 mg kg^{-1} em experimento com híbrido de tilápia (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*) (0,64 \pm 0,02 g), considerando a atividade superóxido dismutase hepática do nutriente e sua retenção corporal. O efeito do magnésio (níveis de 0,07; 0,68; 1,0 e 3,2 g kg^{-1}) em tilápia-do-Nilo (10 g) foi estudado por Dabrowska et al. (1989) em experimento com dois níveis de proteína (24 e 44%). Os autores verificaram que os peixes que receberam as dietas com teor deficiente de magnésio (0,07 e 0,68 g kg^{-1}) apresentaram menor ganho de peso. Além disso, o nível mais elevado de magnésio provocou severo retardo do crescimento quando associado ao baixo teor de proteína (24%), concluindo que o teor ideal de magnésio é de 0,59 a 0,77 g kg^{-1} para ótimo desempenho da espécie.

A exigência de zinco para tilápia-do-Nilo (166,9 \pm 1,3g), por sua vez, foi estimado em 37,2 e 52,1 mg kg^{-1} , com base no ganho de peso e teor de zinco ósseo, respectivamente (ROBINSON et al., 2015). El-Serafy et al. (2007), em estudo com a tilápia (25,36 \pm 0,11g), concluíram que a sua exigência em ferro é de 1200 mg kg^{-1} na forma de sulfato de ferro, com base no ganho de peso diário e retenção de energia. Os autores verificaram que os peixes alimentados com a dieta isenta de ferro e aquela de maior dose (1600 mg kg^{-1}) apresentaram os menores valores na taxa de sobrevivência, concluindo que tanto a

deficiência quanto o excesso deste mineral podem causar aumento na taxa de mortalidade. Conforme estudo desenvolvido por Shiau e Tseng, (2007), a exigência de cálcio para juvenis de híbrido de tilápia (*O. niloticus* x *O. aureus*) é de 3,5 g kg⁻¹ quando cultivado em água isenta deste mineral. Deve-se considerar que as necessidades dietéticas dos peixes são afetadas por sua habilidade em absorver minerais da água, como o cálcio (ROBINSON et al., 1984, 1987), magnésio (SHEARER & ASGARD, 1992) e potássio (WILSON & NAGGAR, 1992).

Tratando-se de carboidratos, os peixes não apresentam exigência específica (WILSON, 1994), mas a habilidade da tilápia em digerir este nutriente somado ao baixo custo do mesmo como fonte de energia (SHIAU & PENG, 1993), com efeito poupador de proteína (BOONANUNTANASARN et al., 2018) e conferência de maior estabilidade à ração (BARROWS & HARDY, 2000; MISRA et al., 2002; BROWN et al., 2015) tem levado ao seu uso na formulação das rações de peixes de água doce. No aspecto da nutrição de peixes, os carboidratos são categorizados como amidos e polissacarídeos não-amiláceos (NSP). Os amidos (dextrina e glicose) são relativamente bem digeridos, enquanto os NPSs (celulose, polissacarídeos pécticos e polímeros não celulósicos) não são muito utilizados (FRANCIS et al., 2001; SINHA et al., 2011). O uso de ingredientes à base de plantas na dieta aumenta o teor de NSPs, podendo causar efeitos anti-nutricionais à tilápia (FRANCIS et al., 2001). Os efeitos anti-nutricionais já observados foram: (i) aumento da viscosidade da digesta, reduzindo a absorção de minerais, (ii) redução da digestibilidade aparente da proteína, do lipídeo e da energia, e (iii) retardo do crescimento (FRANCIS et al. 2001; LEENHOUWERS et al., 2007). De acordo com Boonanuntanasarn et al. (2018), a tilápia é capaz de se adaptar à ingestão de carboidratos, mas em longo prazo (40 semanas) verificou-se que os peixes alimentados com alto teor de carboidrato (50%) concomitante com baixo teor de proteínas, apresentaram pior desempenho que aqueles com médio teor de carboidrato (30%).

Além da composição química, na formulação das rações deve-se considerar que os nutrientes que fazem parte da sua composição não estão disponíveis aos peixes na sua totalidade (quantidade bruta). A biodisponibilidade dos nutrientes é afetada pela matéria-prima utilizada, condições de processamento e interação entre os elementos químicos. A farinha de peixe, por exemplo, constitui a melhor fonte de proteína para os peixes, pois apresenta perfil de aminoácidos próximo àquele requerido pelos peixes, alta digestibilidade e conteúdo em ácidos graxos benéficos (HARDY, 2001). Apesar disso,

outras fontes de proteína são utilizadas na formulação das rações em função da redução do custo e disponibilidade de mercado (NG & ROMANO, 2013). As fontes alternativas de proteínas utilizadas na fabricação podem apresentar deficiência em um ou mais aminoácidos limitantes, devendo neste caso ser realizada a suplementação com aminoácidos sintéticos (EL-SAYED, 1990; EL-SAYED & GARBER, 2003, 2004; FURUYA et al., 2004b, GAYE-SIESSEGER et al., 2007; NGUYEN & DAVIS, 2009; ZHAO et al., 2010; EL-SAYED, 2011; EL-SAYED & SAAD, 2011; AYADI et al., 2012; NGUYEN & DAVIS, 2016; KOCH et al., 2016; AJANI et al., 2016; VIDAL et al., 2017). Dentre as matérias-primas vegetais, a mais utilizada como fonte de proteína para a tilápia é o farelo de soja, mas devido ao alto custo deste ingrediente, outras alternativas têm sido estudadas (farelo de semente de algodão e canola), e o nível de inclusão depende fortemente do país onde o peixe é cultivado (NG & ROMANO, 2013).

A biodisponibilidade de lipídeos também difere entre as diversas fontes do nutriente e a redução do custo, assim como a concorrência de mercado têm levado à substituição do óleo de peixe marinho por outras fontes de menor preço, como o óleo de soja, canola e girassol (HUANG et al., 1998; NG et al., 2001, 2006; BAHURMIZ & NG, 2007; TURCHINI et al., 2009; NG & GIBON, 2011; VIDAL et al., 2017). Entretanto, essa substituição pode afetar a qualidade da dieta (palatabilidade, quantidade de ácidos graxos essenciais, digestibilidade e propriedades durante o armazenamento), qualidade da carne, desempenho dos peixes e eficiência alimentar (TURCHINI et al., 2009). De acordo com Turchini et al. (2009), apesar das rações comerciais para a tilápia e carpa conterem menos que 5% de lipídeos na dieta, a elevada quantidade de sua produção as torna importantes usuárias do óleo de peixe marinho. Estudos demonstram que a tilápia não é afetada pela substituição com óleo de soja (LIM et al., 2012), óleo de côco, óleo de linhaça, ou gordura de aves domésticas (TRUSHENSKI et al., 2009), óleo bruto de palma e de alpiste (NG et al., 2001; BAHURMIZ & NG, 2007; WANG et al., 2006). Entretanto, poucos estudos têm avaliado os efeitos da inclusão de óleo vegetal em longo prazo, particularmente em relação ao sistema imunológico da tilápia (TURCHINI et al., 2009).

Outra questão que deve ser abordada no aspecto da qualidade das rações é a presença de micotoxinas em função do uso de ingredientes contaminados (HARDY, 2001). Micotoxinas são metabólitos sintetizados por fungos que têm seu desenvolvimento propiciado sob condições de alta umidade e dano no produto provocado por insetos (AGAG, 2004). A contaminação com micotoxinas pode aumentar o risco econômico e na

saúde dos animais (AGAG, 2004) e os efeitos da sua presença na dieta dependem da dose e tempo de exposição (HARDY, 2001; MAHFOUZ & SHERIF, 2015). Dentre as micotoxinas destacam-se as aflatoxinas do tipo B1, B2, G1 e G2, pois apresentam maior toxicidade tanto para os humanos como outros animais, como pássaros, peixes e roedores (YU, 2012). Estudos realizados com aflatoxinas B1 em tilápia-do-Nilo (TUAN et al., 2002; SELIM et al., 2013; MAHFOUZ, 2015; MAHFOUZ & SHERIF, 2015) indicam efeitos prejudiciais à saúde a partir de 100 ppb (MAHFOUZ & SHERIF, 2015), entretanto a dose de 250 ppb não induziu a mortalidade para a espécie exposta por 8 semanas em sistema de cultivo controlado (TUAN et al., 2002). O limite máximo estabelecido pela legislação brasileira é de 50 ppb (BRASIL, 1988).

Nota-se que o desempenho do peixe está intimamente relacionado com a qualidade da dieta no que se refere às características físicas da ração, ao atendimento da exigência nutricional, presença de fatores antinutricionais e/ou de micotoxinas. Assim, o desempenho influencia fortemente no retorno econômico da atividade aquícola, sendo sua avaliação de suma importância para toda a cadeia produtiva envolvida.

1.3 Uso de extratos vegetais na dieta da tilápia-do-Nilo

O uso de extratos de plantas na aquicultura apresenta-se vantajoso em função do potencial de ingredientes ativos alternativos com propriedades farmacológicas diversas (GABRIEL et al., 2015; VALLEJOS-VIDAL et al., 2016; AWAD & AWAD, 2017; DU et al., 2018; HAMED & EL-SAYED, 2018; RAHMAN, 2018; STRATEV et al., 2018; SUN et al., 2018; VICO et al., 2018). Além disso, os extratos vegetais são também considerados mais amigáveis ambientalmente (baixo residual), biodegradáveis, biocompatíveis e de baixa toxicidade, dependendo da concentração (AQUAFEED, 2018).

De acordo com Rodrigues e Pinto (2014), extratos ou frações de extratos de espécies do gênero *Serjania* (*S. communis*, *S. triqueta*, *S. salzmanniana*, *S. grammatophora*, *S. cuspidata*, *S. yucatanensis* e *S. caracasana*) são descritas como detentoras de atividades biológicas diversas, como: analgésica, anti-inflamatória, antioxidante, antiprotozoária, anticâncer, bactericida, larvicida, gastroprotetora e repelente de insetos. Entretanto, poucos estudos foram desenvolvidos com *S. marginata* (Figura 1). O extrato etanólico de folhas de *S. marginata* apresentou elevada atividade antioxidante, devido à presença de proantocianidinas (HEREDIA-VIEIRA et al., 2015).

Além disso, Moreira et al. (2019) observaram que a dose letal (DL50) do extrato aquoso de *S. marginata* para camundongos é acima de 2000 mg kg⁻¹, contudo, dosagens menores (30, 150 e 750 mg kg⁻¹) alteraram a quantidade de eritrócitos e nível de albumina; e induziram alterações histológicas no rim dos animais, quando administrado diariamente durante 28 dias. Os autores concluíram que apesar do extrato não ser tóxico após uma exposição aguda (dose única), deve-se tomar precauções com o seu uso por período prolongado. Em outro experimento, Périco et al. (2015), avaliando o extrato hidroalcolólico de folhas de *S. marginata*, constataram o efeito gastroprotetor em camundongos quando administrados na dosagem de 250 mg kg⁻¹. Porém, os autores salientam que o uso prolongado (14 dias) provocou aumento das lesões gástricas em 99% dos animais comparados ao controle.



Figura 1. *Serjania marginata* (HERIDIA-VIEIRA et al., 2015).

Estudos com uso de extratos de plantas do gênero *Serjania* em organismos aquáticos são escassos. Até o presente momento foi relatada apenas ação ictiotóxica de *S. lethalis* e *S. caracasana* (ARAGÃO & VALLE, 1973; CORDEIRO & VALLE, 1975; TEIXEIRA et al., 1984; DUJAK & MARCHI, 2010). Teixeira et al. (1984) testaram substâncias isoladas de frações do extrato do caule de *S. lethalis* em *Poecilia reticulatus* (Lebistes). As substâncias identificadas como serjanosídeos A e B (20 µg/ml) provocaram a morte dos peixes após 5 horas de exposição na água, enquanto o extrato bruto foi duas vezes menos agressivo. Dujak e Marchi (2010) relataram o uso do caule e

córtex de espécies conhecidas popularmente como “timbó” por comunidades indígenas do Paraguai, em função do conhecimento tradicional das mesmas. Entre essas espécies, são citadas: *S. caracasana* (Jacq.) Willd., *S. glabrata* Kunth, *S. hebecarpa* Benth., *S. marginata* Casar., *S. meridionalis* Cambess., *S. perulaceae* Radk. e *S. laruotteana* Cambess. Entretanto, Dujak e Marchi (2010) não desenvolveram estudos para comprovar o efeito tóxico aos peixes.

Por outro lado, o efeito gastroprotetor em peixes através do uso de extratos de plantas foi constatado em alguns trabalhos (HEIDARIEH et al., 2013; MUNGLUE & DASRI, 2015; RAHMAN et al., 2018; TAN et al., 2018). Rahman et al. (2018) avaliaram a influência do extrato bruto de *Echinacea purpurea* (EP) com e sem a vitamina C sobre a histomorfologia intestinal e alguns parâmetros imunológicos da tilápia-do-Nilo. Os peixes alimentados com EP (500 mg kg⁻¹) e vitamina C (400 mg kg⁻¹) apresentaram maiores altura das vilosidades intestinais, número de células caliciformes, linfócitos intraepiteliais e atividade fagocítica, seguido pelo grupo que recebeu apenas a vitamina C e depois pelo que recebeu somente o extrato EP. Os autores concluíram que o extrato pode ser utilizado como aditivo alimentar pelo fato de melhorar a estrutura epitelial da mucosa intestinal e a resposta imunológica da tilápia. Efeitos similares foram observados em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) e *catfish* africano (*Clarias gariepinus*) por meio do uso dos extratos de Aloe vera (*Aloe barbadensis*) e pata-de-vaca (*Bauhinia strychnifolia*), respectivamente (HEIDARIEH et al., 2013; MUNGLUE & DASRI, 2015). Nos trabalhos citados não foram realizadas análises da composição dos extratos.

A proteção do fígado de peixes com uso de extrato de plantas foi observada em estudos com Aloe vera (GABRIEL et al., 2015), própolis (DENG et al., 2011), *Moringa oleífera* (HAMED & EL-SAYED, 2018) e *Allium sativum* (EL-BARBARY, 2016). Gabriel et al. (2015) incorporaram extrato bruto de Aloe vera na ração (0,5; 1; 2; e 4 %), a qual foi administrada na alimentação de juvenis de tilápia-do-Nilo por oito semanas. Os autores verificaram que os peixes alimentados com uso do extrato apresentaram altas atividades de superóxido desmutase, catalase, e glutathione peroxidase no tecido hepático, antes e após o desafio com *Streptococcus iniae* (7,7 x 10⁶ CFU células/mL). Além disso, a suplementação com Aloe vera reduziu as atividades do aspartato sérico (AST) e da alanina aminotransferase (ALT). Deng et al. (2011) avaliaram o efeito do extrato etanólico de própolis (0; 1; 2; e 4 g kg⁻¹) sobre o crescimento e parâmetros bioquímicos

do plasma da truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*). Após 8 semanas de administração dos tratamentos foi observada redução do nível de triglicerídeos plasmáticos e das atividades de AST e ALT indicando o efeito hepatoprotetor do extrato. Hamed e El-Sayed (2018) avaliaram o efeito do extrato etanólico de folhas de *Moringa aloífera* na água de criação da tilápia-do-Nilo (20 mL extrato/ 30 L água de criação) exposta ou não ao herbicida pendimentalina (0,52 mg/L). Após 28 dias de exposição foi constatada melhora significativa do nível dos biomarcadores de estresse oxidativo hepático e redução da porcentagem de fragmentação do DNA hepático nos peixes tratados com o extrato. El-Brabary (2016) testou alho e curcumina, incorporados na dieta (1 e 2%) da tilápia, exposta ou não à aflatoxina B1 (AFB₁, injeção intraperitoneal, 6 mg/kg peso seco). Nos peixes expostos à AFB₁, o alho (1%) induziu à maior expressão do gene GPx; enquanto a curcumina (1%) apresentou regulação decrescente. O GPx faz parte do sistema de defesa antioxidante primário (Arteel e Sies, 2001); e de acordo com Shyamal et al. (2010), as propriedades antioxidantes podem auxiliar na redução do dano causado pela AFB₁. El-Brabary (2016) concluiu que o alho (1%) apresenta melhor resultado de defesa da tilápia contra a toxicidade de AFB₁.

Algumas substâncias podem agir como protetoras gástricas ou até mesmo como estimulantes na produção de enzimas digestivas (AYYAT et al., 2018). O efeito gastroprotetor pode ser avaliado em função da atividade de enzimas digestivas e da histopatologia do fígado e intestino, pelo fato de serem considerados relevantes no processo de digestão e absorção de nutrientes, defesa e desintoxicação (TENGGAROEK et al., 2000; HONORATO et al., 2011; JUTFELT, 2011; PIRARAT et al., 2013; AYYAT et al., 2018; MURASHITA et al., 2018).

1.4 Histopatologia do intestino e fígado da tilápia-do-Nilo

Histologicamente, o intestino anterior de tilápia-do-Nilo caracteriza-se por quatro camadas: mucosa, submucosa, muscular e serosa. A mucosa é constituída por epitélio cilíndrico simples com borda em escova e células caliciformes, com lâmina própria contendo linfócitos intraepiteliais; a submucosa é formada por células, fibras colágenas e vasos sanguíneos; a camada muscular, de músculo liso em disposição circular e externamente à camada serosa, que é caracterizada por tecido conjuntivo e células pavimentosas (Figura 2) (GARGIULO et al., 1998; HONORATO et al., 2011).

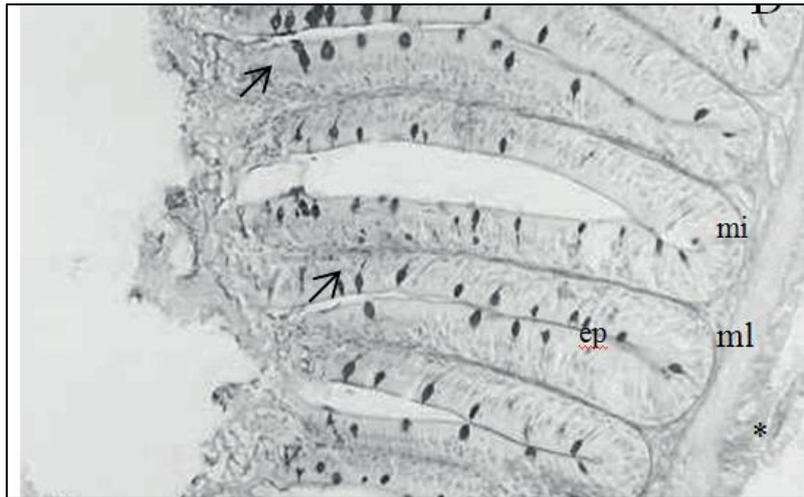
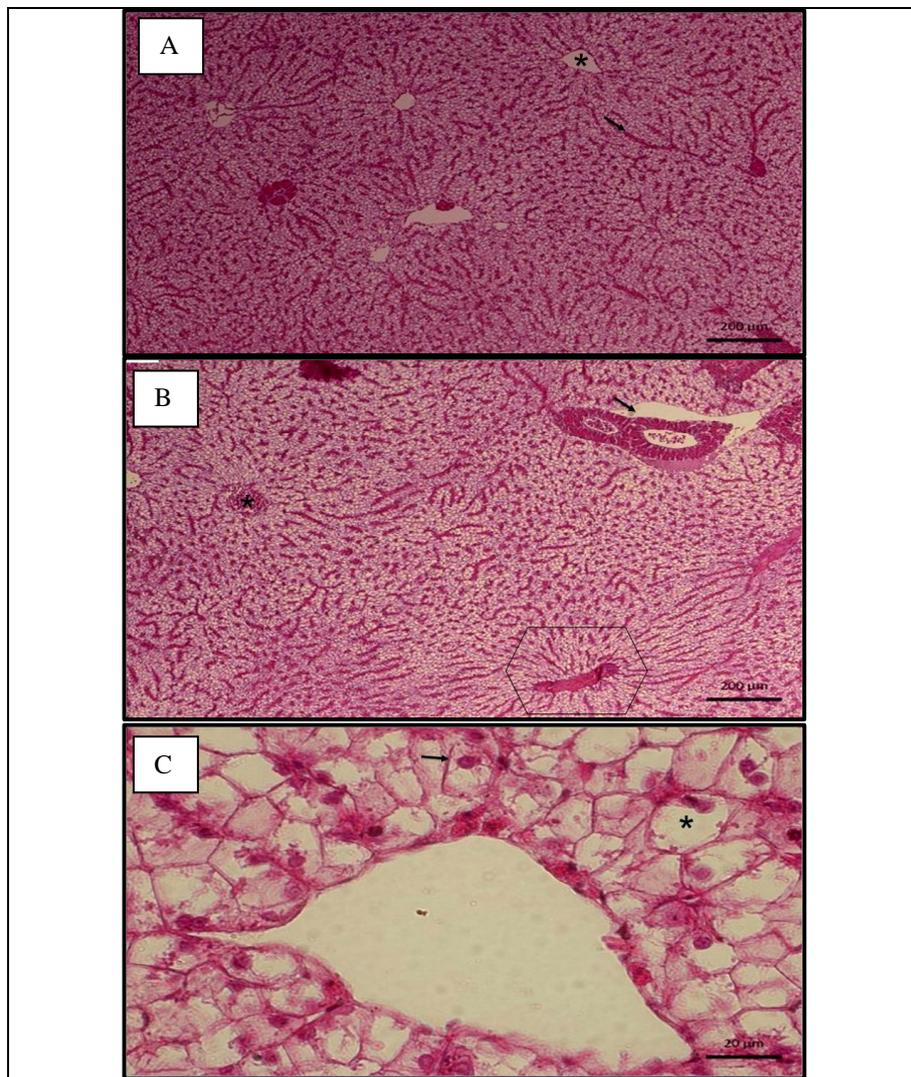


Figura 2. Fotomicrografia de intestino anterior de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Camada muscular longitudinal (ml), camada muscular interna (mi), membrana serosa (*), epitélio da mucosa (ep), células caliciformes glicocônjugas (seta). (X 400) (HONORATO et al., 2011).

A altura das vilosidades intestinais e a quantidade de células caliciformes são consideradas importantes indicadores da eficiência digestiva e da absorção do intestino (GARGIULO et al., 1998; LIU et al., 2009; JUTFELT, 2011; PIRARAT et al., 2013; CARDOSO et al., 2015; TRAN-NGOC et al., 2016). As células caliciformes produzem mucosubstâncias que estão envolvidas em diversos processos fisiológicos, como lubrificação, digestão, promoção da absorção macromolecular, tampão de fluido intestinal, prevenção de danos proteolíticos ao epitélio e defesa contra bactérias e outros agentes patogênicos (DOMENEGHINI et al., 2005). As vilosidades intestinais constituem a borda em escova dos enterócitos (WILSON & CASTRO, 2010), local em que estão localizadas enzimas envolvidas na degradação final do alimento e onde ocorre a absorção e transporte (KUZ'MINA & GELMAN, 1997). Essas vilosidades aumentam a superfície de absorção intestinal e produzem uma série de enzimas, como: fosfatase alcalina, maltase, sacarase e dipeptidases (KUZ'MINA & GELMAN, 1997; RUST, 2002).

O fígado é altamente ramificado por dutos, túbulos e sinusóides compostos principalmente de hepatócitos, com a porção sólida organizada em unidades tubulares ramificadas com vários pâncreas, veias (ou vênulas) e artérias (ou arteríolas) intercalados (RUST, 2002) (Figura 3). O hepatócito é o primeiro alvo de alterações por toxicidade (ZELIKOFF, 1998), apresentando alterações, como: hipertrofia, degeneração vacuolar e acúmulo de lipídeos (STRMAC & BRAUNBECK, 2002; GIARI et al., 2007; TAO et al.,

2018) (Figura 3). No cultivo de peixes, a ração comercial é conhecida por provocar o acúmulo de gordura, degeneração da membrana celular do fígado e vacuolização dos hepatócitos, os quais podem ocasionar distúrbios circulatórios (COZ-RAKOVAC et al., 2005; BILEN & BILEN, 2013). Centros de melanomacrófagos (agregados de macrófagos pigmentados) (BALAMURUGAN et al., 2012) podem se desenvolver em caso de lesões inflamatórias crônicas, agindo na destruição, desintoxicação ou reciclagem de materiais (endógenos e exógenos), servindo como indicadores de estresse ambiental (PULSFORD et al., 1992; AUTHMAN et al., 2012; BALAMURUGAN et al., 2012; MANRIQUE et al., 2014; STEINEL & BOLNICK, 2017) e podem estar relacionados ao desenvolvimento da resposta imunológica à antígenos bacterianos (KRANZ, 1989; AGIUS & ROBERTS, 2003).



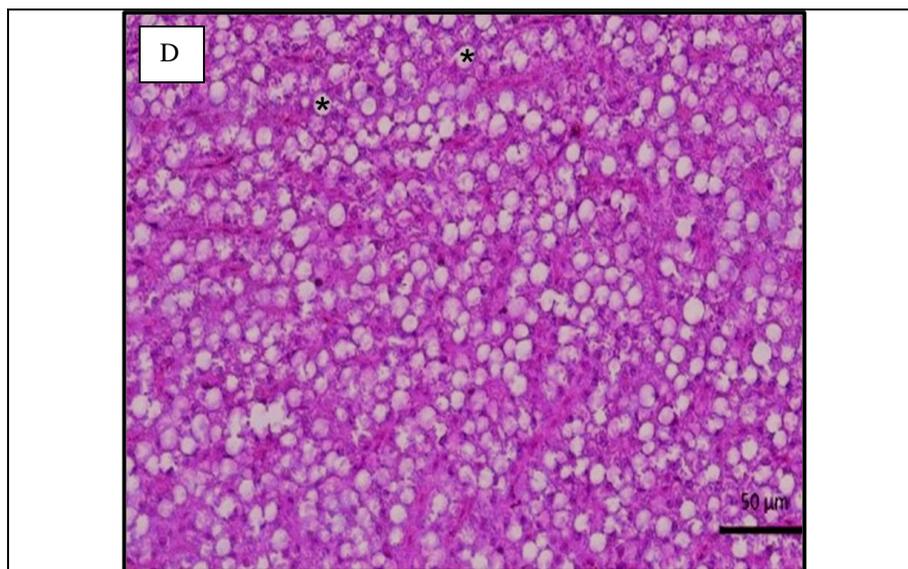


Figura 3. Fotomicrografia do fígado de *Oreochromis niloticus*. A – Vaso sem congestão (asterisco) e congestão sinusoidal (seta); B – Vaso congestionado (asterisco), pâncreas saudável (seta) e manutenção do aspecto cordonal (hexágono); C – Núcleo normal do hepatócito (seta) e hipertrofia dos hepatócitos (asterisco); D – Esteatose severa (asterisco). Coloração H-E (hematoxilina-eosina) (MARTINS et al., 2018).

Na histopatologia, características histoquímicas com uso da coloração PAS (ácido periódico Schiff) indicam a presença de substâncias neutras (PAS positiva) ou ácidas (PAS negativa). Assim, a coloração PAS com reação positiva na borda em escova indica a presença de glicoconjugados neutros que formam o glicocálice (MURRAY et al., 1996). Mucossubstâncias neutras produzidas pelas células caliciformes são menos viscosas que as ácidas (TIBBETS, 1997); promovem a lubrificação do epitélio; combinam-se com a fosfatase alcalina, auxiliando na digestão e absorção de nutrientes; promovem emulsificação do quimo; e fornecem cofatores para atividade enzimática (CLARKE & WITCOMB, 1980; ANDERSON, 1986; GRAU et al., 1992; CARRASSÓN et al., 2006). Por sua vez, as mucossubstâncias ácidas protegem o epitélio intestinal contra a degradação pela ação das glicosidases bacterianas (CARRASSÓN et al., 2006).

A atividade das enzimas digestivas no trato digestório influencia diretamente no aporte para os processos digestivos e efeito aproveitamento da digesta (MURASHITA et al., 2018). No intestino destaca-se a atividade das enzimas: fosfatase alcalina, protease, lipase e amilase. A fosfatase alcalina atua na absorção de lípidos, glicose, cálcio e fosfato inorgânico (TENGGJAROENKUL et al., 2000), tornando-os permeáveis à membrana plasmática (MOSS, 1992). As proteases transformam proteínas em aminoácidos, os quais são convertidos em massa corporal dos peixes (GONZÁLEZ-FÉLIX et al., 2010; PORTZ & FURUYA, 2012). A digestão de carboidratos é realizada por uma série de enzimas,

sendo a mais importante delas a α -amilase, que hidrolisa as ligações glicosídicas, produzindo uma variedade de oligossacarídeos (LOVELL, 1988). Em rações para a tilápia os carboidratos são utilizados como fonte de energia (SHIAU & PENG, 1993), com efeito poupador de proteína (BOONANUNTANASARN et al., 2018) e conferência de maior na estabilidade da ração (BARROWS & HARDY, 2000; MISRA et al., 2002; BROWN et al., 2015), sendo sua digestão relevante no aspecto nutricional. As lipases atuam na digestão de lipídeos, os quais são absorvidos e utilizados em processos biossintéticos ou catabolizados para obtenção de energia (RUST, 2002). No fígado, o aumento da atividade da AST (aspartato aminotransferase) e ALT (alanina aminotransferase) é uma resposta do organismo a estressores e ao metabolismo nutricional; e um indicativo de órgão lesionado ou danificado (MENGA et al., 2018).

1.5 Uso da cama-de-frango em sistema de cultivo da tilápia-do-Nilo

Diferentes tipos de fertilizantes orgânicos são utilizados no cultivo da tilápia com o objetivo de promover o rápido crescimento de organismos aquáticos, os quais servem como alimento natural aos peixes (KANG'OMBE et al., 2006; ABDEL-TAWAB et al., 2008; LIN & DIANA, 2008; RUKERA et al., 2012; ZAHID et al., 2013; ROMANA-EGUIA et al., 2013; LIMBU et al., 2016). De acordo Abdel-Tawwab et al. (2007), o fertilizante orgânico e a decomposição da dieta não consumida pela tilápia estimulam a produção de fitoplâncton nos viveiros de cultivo, levando à melhor taxa de sobrevivência, fator de condição e crescimento.

A cama-de-frango é um sub-produto da produção de aves que pode ser utilizado como adubo orgânico em viveiros de cultivo de tilápia (KUBITZA, 2000). As principais vantagens de seu uso são a pronta disponibilidade em locais onde é desenvolvida a avicultura e o seu baixo custo (KNUD-HANSEN et al., 1993; KUBITZA, 2000; LIN & DIANA, 2008; ROMANA-EGUIA et al., 2013; NARIMBI et al., 2018). O desenvolvimento do alimento natural promovido por esta técnica de manejo na piscicultura pode reduzir o uso do alimento artificial, o qual pode representar mais de 50% dos custos variáveis na aquicultura (VERDAL et al., 2018). Assim, a adubação com a cama-de-frango é uma forma de nutrição de peixes mais acessível aos produtores de baixa renda em sistemas extensivos de produção e pode ainda ser utilizada em sistemas semi-intensivos como estratégia de nutrição complementar ao alimento artificial.

Os fatores mais relevantes que influenciam no sucesso da fertilização são: tipo de solo, qualidade da água, espécies cultivadas e tipo de cultivo, método de aplicação e quantidade dos fertilizantes utilizados (FAO, 2018). A quantidade de adubo a ser aplicado pode variar em função do tipo de sistema de produção (semi-intensivo ou extensivo), densidade de estocagem/biomassa de peixes e tipos de fertilizantes utilizados (orgânicos, inorgânicos ou combinados). De acordo com a FAO (2018), fatores específicos do local que afetam a produtividade primária (por exemplo, clima) dificultam o fornecimento de um guia geral de fertilização em viveiro para a criação de tilápias.

A efetividade do manejo de fertilização de viveiros é monitorada pela avaliação da turbidez da água com auxílio de um disco de Secchi (FAO, 2018; KUBITZA, 2000; Silva et al., 2015), assumindo que a principal fonte de turbidez é proveniente da população de fitoplâncton (FAO, 2018). Tem sido recomendado que a transparência do disco de Secchi fique em torno de 25 (KUBITZA, 2008) a 30 cm (FAO, 2018) e que a taxa de renovação da água seja de aproximadamente 5% ao dia (FAO, 2018).

No estado do Paraná, Brasil, não existe uma quantidade fixa de fertilizante orgânico a ser aplicado nos viveiros de tilápia-do-Nilo, sendo indicada como a melhor forma de fertilização a integração de fertilizantes orgânicos e inorgânicos (SILVA et al., 2015). A cama-de-frango é utilizada na dose de 600 a 800 kg ha⁻¹ e a aplicação é controlada através da observação dos parâmetros qualitativos da água, como turbidez e oxigênio dissolvido (SILVA et al., 2015)

No estado de São Paulo, Brasil, o desenvolvimento do alimento natural foi estimulado pela fertilização com cama-de-frango (150 g m⁻²) a cada 20 dias em viveiros povoados com alevinos de tilápia (15,35±3,59 g) na densidade de 1,7 peixes m⁻² (SCHALCH, 2013). Neste experimento observou-se que os peixes alimentados apenas com o alimento natural apresentaram desempenho produtivo semelhante aos demais tratamentos (rações farelada, extrudada e peletizada) nos dois primeiros meses de criação, indicando importante contribuição do alimento natural nesta fase de desenvolvimento do peixe (SCHALCH, 2013).

Em alguns países do continente Asiático, a adubação com a cama-de-frango foi estudada englobando diferentes estratégias de manejo, sendo utilizada ou não de forma concomitante com uma suplementação da dieta (LIN & DIANA, 2008; ZHAID et al., 2013) ou uso de adubos inorgânicos (KNUD-HANSEN et al., 1993; NARIMBI et al., 2018; ROMANA-EGUIA et al., 2013), em sistemas de mono ou policultivo. Os efeitos

observados com o uso da cama-de-frango em relação aos parâmetros de desempenho dos peixes são contraditórios. Em alguns estudos foram observados efeitos benéficos, como aumento da produtividade (LIN & DIANA, 2008), maior taxa de sobrevivência (ROMANA-EGUIA et al., 2013) e melhor taxa de crescimento específico, conversão alimentar e teores de proteína bruta e lipídios (ZAHID et al., 2013). Por outro lado, alguns estudos indicam que a adubação orgânica não favorece o cultivo da tilápia (KNUD-HANSEN et al., 1993; NARIMBI et al., 2018).

Na Tailândia, Lin & Diana (2008) avaliaram a fertilização de viveiros com cama-de-frango em monocultivo de alevinos de tilápia-do-Nilo, sem suplementação da dieta, em diferentes quantidades de adubo (125, 250, 500, e 1.000 kg ha⁻¹ semana⁻¹) e densidades de estocagem (0,88; 1,0; 2,0 e 3,0 peixes m⁻²). Os autores afirmam que o custo e o rendimento são os fatores mais importantes na escolha da estratégia de fertilização e suplementação da dieta. A produtividade máxima (3.500 kg ha⁻¹ ano⁻¹) foi obtida com cama-de-frango na maior aplicação (1.000 kg ha⁻¹ semana⁻¹), mas o uso de 500 kg ha⁻¹ semana⁻¹ do adubo, de acordo com os autores, pode apresentar maior retorno econômico em função do menor custo, produzindo 3.000 kg ha⁻¹ ano⁻¹.

No cultivo de tilápias nas Filipinas, no sistema de cultivo da tilápia em crescimento são utilizados 30 a 50 sacos de cama-de-frango por hectare, concomitante com a adubação inorgânica com fosfato de amônio (16-20-0), sulfato de amônio (21-0-0), uréia (46-0-0) e/ou nitrogênio/fósforo/potássio (14-14-14), variando o tipo e quantidade de fertilizante entre as províncias (ROMANA-EGUIA et al., 2013). Neste caso, observou-se que a taxa de sobrevivência dos peixes constituiu a diferença primária entre o cultivo intensivo em viveiros-rede (alimentação artificial) e os viveiros de produção semi-intensiva (uso de fertilização com ou sem suplementação de dieta artificial). No sistema intensivo a taxa média de sobrevivência foi de 50%, enquanto no semi-intensivo foi de 60 a 80% (ROMANA-EGUIA et al., 2013).

No Paquistão, o efeito do uso de dois adubos orgânicos (cama-de-frango e esterco de vaca) sobre a tilápia-do-Nilo (2,63 g) foi estudado em experimento com suplementação da dieta utilizando ração (30% PB, 4% do peso do peixe por dia) arraçoada duas vezes ao dia, por 90 dias (ZAHID et al., 2013). Os adubos foram aplicados diariamente, sendo utilizado 10 kg de esterco de vaca (teor de nitrogênio, N=1,02%) e 4 kg de cama-de-frango (N=1,63%). Verificou-se que a taxa de crescimento específico e a conversão alimentar foram maiores (p<0.05) no viveiro adubado (1,52 e 2,4) comparado ao não

adubado (1,22 e 2,1), assim como o teor de proteína bruta e lipídeos dos peixes. Os autores concluíram que em sistema semi-intensivo a tilápia GIFT cresce melhor quando é realizada a adubação (cama-de-frango e esterco de vaca) concomitante com a suplementação artificial.

Na Tailândia, Knud-Hansen e colaboradores (1993) desenvolveram dois experimentos, um para avaliar o efeito da cama-de-frango sobre a produtividade do peixe; e outro, para estimar a quantidade necessária da cama-de-frango para estimular a produção de fitoplâncton. O primeiro experimento (146 dias) foi desenvolvido com cinco doses de cama-de-frango (20, 60, 100, 140, e 180 kg) aplicados em viveiros escavados (280 m²) com uréia e superfosfato triplo (45% P₂O₅), semanalmente, durante três semanas. No segundo experimento (147 dias) foram quatro tratamentos: (i) cama-de-frango, 60 kg ha⁻¹ semana⁻¹; (ii) carbono inorgânico dissolvido, 3-5 kg NaHCO₃ ha⁻¹ semana⁻¹; (iii) cama-de-frango e NaHCO₃ na mesma quantidade dos dois primeiros tratamentos; e (iv) sem adição de adubo orgânico e inorgânico. A adição da fertilização orgânica ou inorgânica não aumentou a produtividade da tilápia; e de acordo com os autores, por comparação econômica simples o uso da cama-de-frango não deve ser encorajado como fonte de nitrogênio e fósforo solúveis para aumento da biomassa de fitoplâncton neste local.

No estudo desenvolvido por Narimbi et al. (2018), os fertilizantes foram aplicados semanalmente, incluindo esterco de galinha (50 g m⁻²), uréia (6,1 g m⁻²) e super fosfato triplo (TSP) (3,5 g m⁻²) (BHUIJEL, 2014). Foram avaliados dois tratamentos: alimentação diária (seis dias semana⁻¹) e semanal (um dia semana⁻¹), em experimento desenvolvido por 90 dias, com alevinos de tilápia cultivados em viveiros escavados (3 peixes m⁻²). Os peixes foram alimentados com ração peletizada a 5% da biomassa (dois primeiros meses) e depois reduzida para 4%. Além disso, 20% de ração extra foi fornecida diariamente para assegurar adequado fornecimento de ração formulada segundo método descrito por Martin-Perez et al. (2013). Em ambos os tratamentos, a alimentação ocorreu às 10:00, 13:00 e 15:30. Análises isotópicas ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$) do tecido muscular dos peixes e de todas fontes potenciais de alimento para a tilápia (esterco de galinha, ração peletizada, algas, fitoplâncton, zooplâncton e matéria orgânica do sedimento) revelaram que houve pouca contribuição do esterco de galinha para a produção de algas e fitoplâncton, visto que tanto o $\delta^{15}\text{N}$ de fitoplâncton quanto o de algas não ocuparam posições muito próximas daquele observado para o esterco. De acordo com os autores, a ausência de assimilação do esterco

por algas, plâncton e tilápia pode ter ocorrido devido à atração dos peixes pelo alimento não digerido ou à impureza do esterco (valor anormal do isótopo). Além disso, os autores afirmaram que a ração peletizada não foi o maior contribuinte para o crescimento da tilápia, devendo-se apresentar esforços para aumentar a disponibilidade de alimentos naturais, levando em consideração diferentes níveis de suplementação do alimento formulado e de densidade de povoamento.

Existem poucas informações a respeito da influência do uso de adubos orgânicos sobre o aspecto ambiental. Alguns estudos indicam que a adubação orgânica pode reduzir a qualidade da água em função da possibilidade do acúmulo de matéria orgânica e/ou da menor taxa de oxigênio dissolvido (KUBITZA, 2000; EL-SAYED, 2013; PUCHER et al., 2016); e por meio da contaminação com elementos traço (IRSHAD et al., 2013; KUZIEMSKA et al., 2016). Para que a cama-de-frango possa ser utilizada na produção da tilápia-do-Nilo é importante conhecer as consequências de seu uso, levando em consideração tanto o aspecto produtivo quanto ambiental.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O presente estudo teve como objetivo avaliar estratégias nutricionais para a tilápia-do-Nilo com base na qualidade de rações comerciais, incorporação do extrato aquoso de folhas de *Serjania marginata* na dieta e abubação de viveiros com cama-de-frango.

2.2 Objetivos específicos

Analisar a qualidade das rações e suas implicações no desempenho produtivo, por meio da inter-relação das avaliações químico, física e biológica e com isso, definir os indicadores de qualidade que devem ser considerados para garantir uma ração que possa ser melhor aproveitada pelas tilápias na fase de engorda.

Avaliar a composição do extrato aquoso das folhas de *Serjania marginata* e os efeitos da sua inclusão na dieta da tilápia-do-Nilo, em relação à toxicidade, teor de enzimas digestivas e do metabolismo hepático, e histopatologia do intestino e do fígado.

Avaliar a influência da adubação com cama-de-frango na produção da tilápia, considerando os aspectos ambiental (qualidade da água e do sedimento) e produtivo (ganho de peso, conversão alimentar e qualidade do filé do peixe).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGAG, B.I. Mycotoxins in foods and feeds 1-aflatoxins. **Ass. Univ. Bull. Environ. Res.**, v.7, n.1, p.173-205, 2004. Disponível a partir de: http://www.aun.edu.eg/env_enc/env%20mar/173-206.PDF. Acessado em 7 de dezembro de 2018.
- AGIUS, C.; ROBERTS, R.J. Melano-macrophage centers and their role in fish pathology. **J. Fish Dis.**, v.26, p.499–509, 2003.
- AJANI, E.K.; ORISASONA, O.; OMITOYIN, B.O.; OSHO, E.F. Total replacement of fishmeal by soybean meal with or without methionine fortification in the diets of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **J. Fish. Aquat. Sc.**, v.11, n.3, p.238-243, 2016.
- AL HAFEDH, Y.S. Effects of dietary protein on growth and body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. **Aquac. Res.**, v.30, p.385–393, 1999.
- ALI, A.; AL-OGAILY, S.M.; AL-ASGAH, N.A.; GODDARD, J.S.; AHMED, S.I. Effect of feeding different protein to energy (P/E) ratios on the growth performance and body composition of *Oreochromis niloticus* fingerlings. **J. Appl. Ichthyol.**, v.24, p.31–37, 2008.
- AL-THOBAITI, A.; AL-GHANIM, K.; AHMED, Z.; SULIMAN, E.M.; MAHBOOB, S. Impact of replacing fish meal by a mixture of different plant protein sources on the growth performance in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) diets. **Braz. J. Biol.**, v.78, n.3, p.525-534, 2017.
- AMIRKOLAIE, A.K.; LEENHOUWERS, J.I.; VERRETH, J.A.J.; SCHRAMA, J.W. Type of dietary fibre (soluble versus insoluble) influences digestion, faeces characteristics and faecal waste production in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **Aquac. Res.**, v.36, n.12, p.1157-1166, 2005.
- ANDERSON, T.A. Histological and cytological structure of the gastrointestinal tract of the luderick, *Girella tricuspidata* (Pisces, Kyphosidae), in relation to diet. **J. Morphol.**, v.190, p.109-119, 1986.
- ARAGÃO, J.A.; VALLE, J.R. Ictiotoxicidade de timbós dos gêneros *Serjania*, *Derris* e *Tephrosia*. **Cienc. Cult.**, v.25, 649, 1973.
- AUTHMAN, M.M.N.; ABBAS, W.T.A.; GAARFAR, A.Y. Metals concentrations in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) from illegal fish farm in Al-Minufiya Province, Egypt, and their effects on some tissues structures. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v.84, p.163–172, 2012.
- AWAD, E.; AWAAD, A. Role of medicinal plants on growth performance and immune status in fish. **Fish Shellfish Immunol.**, v.67, p.40-54, 2017.
- AYADI, F.Y.; ROSENTRATER, K.A.; MUTHUKUMAPRAPPAN, K. Alternative protein sources for aquaculture feeds. **J. Aquac. Feed Sci. Nutr.**, v.4, p.1–26, 2012.
- AYYAT, M.S.; AYYAT, A.M.N.; AL-SAGHEER, A.A.; EL-HAIS, A.E.-A.M. Effect of some safe feed additives on growth performance, blood biochemistry and bioaccumulation of aflatoxin residues of Nile tilapia fed aflatoxin-B1 contaminated diet. **Aquaculture**, v.495, n.1, p.27-34, 2018.

- BAHURMIZ, O.M.; NG, W.K., 2007. Effects of dietary palm oil source on growth, tissue fatty acid composition and nutrient digestibility of red hybrid tilapia, *Oreochromis* sp., raised from stocking to marketable size. **Aquaculture**, 262, 382–392.
- BARONE, R.S.C.; SONODA, D.Y.; LORENZ, E.K.; CYRINO, J.E.P. Digestibility and pricing of *Chlorella sorokiniana* meal for use in tilapia feeds. **Sci. Agr.**, v.75, n.3, p.184-190, 2018.
- BALAMURUGAN, S.; DEIVASIGAMANI, B.; KUMARAN, S.; SAKTHIVEL, M.; RAJSEKAR, T.; PRIYADHARSINI, P. Melanomacrophage centers aggregation in *P. lineatus* spleen as bioindicator of environmental change. **Asian Pac. J. Trop. Dis.**, v.2, p.S635–S638, 2012.
- BARROWS, F.T.; HARDY, R.W. Feed manufacturing technology. In: STICKNEY, R.R. (Ed.), **Encyclopedia of Aquaculture**, John Wiley & Sons Inc, New York, NY, 2000. pp. 354-359.
- BARROWS, F.T.; STONE, D.A.J.; HARDY, R.W. The effects of extrusion conditions on the nutritional value of soybean meal for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.265, p.244-252, 2007.
- BELGHIT, I.; SKIBA-CASSY, S.; GEURDEN, I.; DIAS, K.; SURGET, A.; KAUSHIK, S.; PANSERAT, S.; SEILIEZ, I. Dietary methionine availability affects the main factors involved in muscle protein turnover in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Br. J. Nutr.**, v.112, p.493–503, 2014.
- BEYRUTH, Z.; MAINARDES-PINTO, C.S.R.; FUSCO, S.M.; FARIA, F.C.; SILVA, A.L. Utilização de alimentos naturais por *Oreochromis niloticus* em tanques de terra com arraçamento. **B. Inst. Pesca**, São Paulo, v.30, n.1, p.9-24, 2004.
- BILEN, A.M.; BILEN, E. Effects of diet on the fatty acids composition of cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) liver tissues and histology compared with wild sea bass caught in Aegean Sea. **Mar. Sci. Technol. Bull.**, v.2, p.13–19, 2013.
- BHUJEL, R.C.; YAKUPITIYAGE, A.; TURNER, W.A.; LITTLE, D.C. Selection of a commercial feed for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodfish breeding in a hapain-pond system. **Aquaculture**, v.194, p.303–314, 2001.
- BOONANUNTANASARN, S.; JANGPRAI, A.; KUMKHONG, S.; PLAGNES-JUAN, E.; VERON, V.; BUREL, C.; MARANDEL, L.; PANSERAT, S. Adaptation of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to different levels of dietary carbohydrates: new insights from a long term nutritional study. **Aquaculture**, v.496, p.58–65, 2018.
- BOSCOLO, W.R.; HAYASHI, C.; MEURER, F. Digestibilidade aparente da energia e nutrientes de alimentos convencionais e alternativos para a tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). **R. Bras. Zootec.**, v.31, n.2, p.539-545, 2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria MA/SNAD/SFA No. 07, de 09/11/88 - publicada no Diário Oficial da União de 09 de novembro de 1988 - Seção I, página 21.968, 1988.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 4, de 23 de Fevereiro de 2007. Aprova o regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos fabricantes de produtos destinados à alimentação animal e o roteiro de inspeção. Diário Oficial da União, Brasília, 12 de dezembro de 2007.

BRASIL. Instrução Normativa nº 22, de 2 de Junho de 2009. Regulamenta a embalagem, rotulagem e propaganda dos produtos destinados à alimentação animal. Diário Oficial da União, Brasília, 04 de junho de 2009.

BROWN, M.L.; FALLAHI, P.; MUTHUKUMARAPPAN, K.; SINGHA, P.; SINDELAR, S. A comparative study of the effects of non-starch polysaccharide gums on physical properties of single-screw extruded aquafeed. **J. Food Process. Technol.**, v.6, p.457-465, 2015.

CARDOSO, N.D.N.; FIRMIANO, E.M.D.S.; GOMES, I.D.; NASCIMENTO, A.A.D.; SALES, A.; ARAÚJO, F.G. Histochemical and immunohistochemical study on endocrine cells (5HT, GAS and SST) of the gastrointestinal tract of a teleost, the characin *Astyanax bimaculatus*. **Acta Histochem.**, v.117, p.595-604, 2015.

CARRASSÓN, M.; GRAU, A.; DOPAZO, L.R.; CRESPO, S. A histological, histochemical and ultrastructural study of the digestive tract of *Dentex dentex* (Pisces, Sparidae). **Histol. Histopathol.**, v.21, p.579-593, 2006.

CHENG, K.-M.; HU, C.-Q.; LIU, Y.-N.; ZHENG, S.-X.; QI, X.-J. Effects of dietary calcium, phosphorus and calcium/phosphorus ratio on the growth and tissue mineralization of *Litopenaeus vannamei* reared in low-salinity water. **Aquaculture**, v.251, n.2-4, p.472-483, 2006.

CHOI, M.H.; CECH, J.J. Unexpectedly high mercury level in pelleted commercial fish feed. **Environ. Toxicol. Chem.**, v.17, p.1979-1988, 1998.

CHOW K.W.C. Storage Problems of Feedstuff. In: CHOW, K.W.; PILLAY, T.V.R. (Eds), 1980. **Fish feed technology**. Lecture presented at FAO/UNDP Training course in fish Feed Technology held at college of fisheries, University proceeding of First International Symposium on Tropical Tomato, Asia vegetable Research Development Centre, Taiwan.

CLARKE, A.J.; WITCOMB, D.M. A study of the histology and morphology of the digestive tract of the common eel (*Anguilla anguilla*). **J. Fish Biol.**, v.16, p.159-170, 1980.

ÇOĞUN, H. Y.; YÜZEREROĞLU, T. A.; KARGIN, F. Accumulation of copper and cadmium in small and large Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, n.71, p.1265-1271, 2003.

CORDEIRO, E.A.; VALLE, J.R.. Ictiotoxicidade comparada da rotenona e do serjanosídeo. **Cienc. Cult.**, v.27, n.561, 1975.

COZ-RAKOVAC, R.; STRUNJAK-PEROVIC, I.; HACMANJEK, M.; POPOVIC, N.T.; LIJEP, Z.; SOSTARIC, B. Blood chemistry and histological properties of wild and cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in the North Adriatic Sea. **Vet. Res. Commun.**, v.29, p.677-687, 2005.

CYRINO, J.E.P.; CARNEIRO, P.C.F.; BOZANO, G.L.N.; CASEIRO, A.C. Desenvolvimento da criação de peixes em tanques-rede: uma análise dos fundamentos, viabilidade e tendências, baseada em experiências bem-sucedidas no Sudeste do Brasil. In: Aquicultura Brasil' 98, Recife, 1998. **Anais...** Recife. p.409-433.

DABROWSKA, H.; MEYER-BURGDORFF, K.; GÜNTHER, K.-D. Interaction between dietary protein and magnesium level in tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v.76, n.3-4, p.277-291, 1989.

- DANIEL, N. A review on replacing fish meal in aqua feeds using plant protein sources. **Int. J. Fish. Aquat. Stud.**, v.6, n.2, p.164-179, 2018.
- DAVID, L.H.C.; PINHO, S.M.; GARCIA, F. Improving the sustainability of tilapia cage farming in Brazil: an emergy approach. **J. Clean. Prod.**, v.201, n.10, p.1012-1018, 2018.
- DE MOURA, R.S.T.; LOPES, Y.V.A.; HENRY-SILVA, G.G. Sedimentação de nutrientes e material particulado em reservatório sob influência de atividades de piscicultura no semiárido do Rio Grande do Norte. **Quim. Nova**, v.37, n.8, p.1283-1288, 2014.
- DENG, J.; NA, Q.; BI, B.; WANG, Q.; KONG, L.; TAO, L.; ZHANG, X. Effect of ethanolic extract of propolis on growth performance and plasma biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Fish Physiol. Biochem.**, v.37, p.959–967, 2011.
- DIETZ, C.; LIEBERT, F. Does graded substitution of soy protein concentrate by an insect meal respond on growth and N-utilization in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)? **Aquac. Rep.**, v.12, p.43–48, 2018.
- DIÓGENES, A.F.; FERNANDES, J.B.K.; DORIGAM, J.C.P.; SAKOMURA, N.K.; RODRIGUES, F.H.F.; LIMA, B.T.M.; GONÇALVEVS, F.H. Establishing the optimal essential amino acid ratios in juveniles of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by the deletion method. **Aquac. Nutr.**, v.22, p.435-443, 2016.
- DOMENEGHINI, C.; RADAELLI, G.; BOSI, G.; ARRIGHI, S.; DI GIANCAMILLO, A.; PAZZAGLIA, M.; MASCARELLO, F. Morphological and histochemical differences in the structure of the alimentary canal in feeding and runt (feed deprived) cultured white sturgeons (*Acipenser transmontanus*). **J. Appl. Ichthyol.**, v.18, p.341–346, 2002.
- DU, J.; JIA, R.; CAO, L.-P.; DING, W.; XU, P.; YIN, G. Effects of *Rhizoma alismatis* extract on biochemical indices and adipose gene expression in oleic acid-induced hepatocyte injury in Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). **Fish Physiol. Biochem.**, v.44, p.747–768, 2018.
- DUJAK, M.; MARCHI, P. Plantas utilizadas como barbasco por algunas comunidades indígenas del Paraguay. **Steviana**, v.2, p.31-44, 2010.
- DURMIC, Z.; BLACHE, D. Bioactive plants and plant products: effects on animal function, health and welfare. **Anim. Feed Sci. Technol.**, v.176, p.150–162, 2012.
- EL-BARBARY, M.I. Detoxification and antioxidant effects of garlic and curcumin in *Oreochromis niloticus* injected with aflatoxin B1 with reference to gene expression of glutathione peroxidase (GPx) by RT-PCR. **Fish Physiol. Biochem.**, v.42, p.617–629, 2016.
- EL-HUSSEINY, O.; EL-HAROON, E.R.; GODA, A.; HASSAN, I.; WOODWARD, B.; SULOMA, A. Effects of Lysine and Tryptophan supplementations in plant protein-based diets on the performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **J. Appl. Aquac.**, v.29, n.3-4, p.266-276, 2017.
- EL-SERAFY, S.S.; EL-EZABI, M.M.; SHEHATA, T.M.; ESMAEL, N. Dietary iron requirement of the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings in intensive fish culture. **Egypt. J. Aquat. Biol. Fish.**, v.11, p.165–184, 2007.

EL-SAYDY, D.M.S.D.; GABER, M.M.A. Replacement of fish meal with a mixture of different plant protein sources in juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) diets. **Aquac. Res.**, v.34, p.1119–1127, 2003.

EL-SAYDY, D.M.S.D.; GABER, M.M. Use of cottonseed meal supplemented with iron for detoxification of gossypol as a total replacement of fish meal in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) diets. **Aquac. Res.**, v.35, p.859–865, 2004.

EL-SAYDY, D.M.S.D. Effect of using okara meal, a by-product from soymilk production as a dietary protein source for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) mono-sex males. **Aquac. Nutr.**, v.17, p.380–386, 2011.

EL-SAYDY, D.M.S.D.; SAAD, A.S. Effects of partial and complete replacement of soybean meal with cottonseed meal on growth, feed utilization and haematological indexes for mono-sex male Nile tilapia, (*Oreochromis niloticus* L.) fingerlings. **Aquac. Res.**, v.42, p.351–359, 2011.

EL-SAYED, A.F.M. Long-term evaluation of cotton seed meal as a protein source for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linn.). **Aquaculture**, v.84, p.315–320, 1990.

EL-SAYED, A.-F.M.; TESHIMA, S. Protein and energy requirements of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fry. **Aquaculture**, v.103, p.55–63, 1992.

EL-SAYED, A.-F.M. On-farm feed management practices for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Egypt. In: HASAN, M.R.; NEW, M.B. (Eds.). **On-farm feeding and feed management in aquaculture**. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper, 583, p.101–129. Rome: FAO, 2013.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Demand and Supply of Feed Ingredients for Farmed Fish and Crustaceans – Trends and Prospects. In: TACON, A.G.J.; HASAN, M.R.; METIAN, M. (Eds.). **FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper 564**. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 2011.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). **Aquaculture feed and fertilizer resources information system: fertilizers and fertilization**. Disponível para consulta em: <http://www.fao.org/fishery/affris/species-profiles/nile-tilapia/fertilizers-and-fertilization/en/>. Acessado em 15 de dezembro de 2018.

FERNANDES JR., A.C.; CARVALHO, P.L.P.F.; PEZZATO, L.E.; KOCH, J.F.A.; TEIXEIRA, C.P.; CINTRA, F.T.; DAMASCENO, F.M.; AMORIN, R.L.; PADOVANI, C.R.; BARROS, M.M. The effect of digestible protein to digestible energy ratio and choline supplementation on growth, hematological parameters, liver steatosis and size-sorting stress response in Nile tilapia under field condition. **Aquaculture**, v.456, p.83–93, 2016.

FIGUEIREDO-SILVA, A.C., CORRAZE, G., BORGES, P., VALENTE, L.M.P. Dietary protein/lipid level and protein source effects on growth, tissue composition and lipid metabolism of blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*). **Aquac. Nutr.**, v.16, p.173–187, 2010.

FIGUEIREDO-SILVA, C., LEMME, A., SANGSUE, D., KIRIRATNIKOM, S. Effect of DL-methionine supplementation on the success of almost total replacement of fish meal with soybean meal in diets for hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis mossambicus*). **Aquac. Nutr.**, v.21, p.234–241, 2015.

FORTE, D., FORTE, D., & ASSOCIADOS. Understanding the sink / float phenomenon in aquafeeds. *In: Aquafeed: Advances in processing & formulation*, 10, 2008. Disponível para consulta em: <http://www.aquafeed.com/publications/aquafeed-magazine/>. Acessado em 10 de setembro de 2018.

FRACALOSSO, D.M.; RODRIGUES, A.P.O.; SILVA, T.S.C.; CYRINO, J.E.P. Técnicas experimentais em nutrição de peixes. *In: Fracalossi, D.M. e Cyrino, J.E.P. (Eds.) Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira*. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2012.

FRANCIS, G.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. A review. *Aquaculture*, v.199, p.197–227, 2001.

FREITAS, L.E.L.; RODRIGUES, A.P.O.; MORO, G.V.; LUNDSTEDT, L.M. Práticas para avaliação da qualidade física em rações para peixes. *Embrapa Pesca e Aquicultura, Circular Técnica*, n.3, 2016. Disponível para consulta em: <https://www.embrapa.br/en/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1068269/praticas-para-avaliacao-da-qualidade-fisica-em-racoes-para-peixes>. Acessado em 10 de junho de 2018.

FURUYA, W.M.; PEZZATO, L.E.; PEZZATO, A.C.; BARROS, M.M.; MIRANDA, E.C. Coeficientes de digestibilidade e valores de aminoácidos digestíveis de alguns ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Rev. Bras. Zootec.*, v.30, n.4, p.1143-1149, 2001.

FURUYA, W.M.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; PEZZATO, A.C.; FURUYA, V.R.B.; MIRANDA, E.C. Use of ideal protein concept for precision formulation of amino acid levels in fish-meal-free diets for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquac. Res.*, v.35, p.1110–1116, 2004a.

FURUYA, W.M.; BOTARO, D.; NEVES, P.R.; SILVA, L.C.R.; HAYASHI, C. Exigência de lisina pela Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), na fase de terminação. *Cienc. Rural*, v.34, n.5, p.1571-1577, 2004b.

FURUYA, W.M.; SANTOS, V.G.DOS; BOTARO, D.; HAYASHI, C.; SILVA, L.C.R. Níveis de proteína e fitase em rações de terminação para a tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). *Arq. Ciênc. Vet. Zool.*, v.8, n.1, p.11-17, 2005.

FURUYA, W.M.; SANTOS, V.G.; SILVA, L.C.R.; FURUYA, V.R.B.; SAKAGUTI, E.S. Exigência de lisina digestível para juvenis de tilápia-do-Nilo. *Rev. Bras. Zootec.*, v.35, n.3 (Suppl.), p.937-942, 2006.

FURUYA, W.M.; FUJII, K.; SANTOS, L.D.; SILVA, T.S.C.; SILVA, L.C.R.; MICHELATTO, M. Exigência de fósforo disponível para tilápia-do-nilo (35 a 100 g). *Rev. Bras. Zootec.*, v.37, p.961-966, 2008.

FURUYA, W.M. (Ed.). **Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias**. Toledo: GFM, 2010.

FURUYA, W.M.; FURUYA, V.R.B. Nutritional innovations on amino acids supplementation in Nile tilapia diets. *Rev. Bras. Zootec.*, v.39 (Suppl. spe), p.88-94, 2010.

FURUYA, W.M.; BARROS, M.M.; PESSATO, L.E.; CYRINO, J.E.P. Exigências nutricionais da tilápia. *In: FRACALOSSO, D.M.; CYRINO, J.E.P. (Eds.) Nutriaqua:*

nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2012a.

FURUYA, W.M.; GRACIANO, T.S.; VIDAL, L.V.O.; XAVIER, T.O.; GONGORA, L.D.; RIGHETTI, J.S.; FURUYA, V.R.B. Digestible lysine requirement of Nile tilapia fingerlings fed arginine to lysine balanced diets. **R. Bras. Zootec.** [online], v.41, n.3, p.485-490, 2012.

FURUYA, W.M.; MICHELATO, M.; GRACIANO, T.S.; VIDAL, L.V.O.; XAVIER, T.O.; FURUYA, V.R.B.; MOURA, L.B.DE. Digestible lysine requirement of Nile tilapia from 86 to 227 g fed arginine to lysine balanced diets. **Semin. Cienc. Agrar.**, Londrina, v.34, n.4, p.1945-1954, 2013.

GABRIEL, N.N.; QIANG, J.; MA, X.Y.; HE, J.; XU, P.; LIU, K. Dietary *Aloe vera* improves plasma lipid profile, antioxidant, and hepatoprotective enzyme activities in GIFT-tilapia (*Oreochromis niloticus*) after *Streptococcus iniae* challenge. **Fish Physiol. Biochem.**, v.41, p.1321–1332, 2015.

GARGIULO, A.M.; CECCARELLI, P.; DALL'AGLIO, C.; PEDINI, V. Histology and ultrastructure of the gut of the tilapia (*Tilapia* spp.), a hybrid teleost. **Anat. Histol. Embryol.**, v.27, p.89–94, 1998.

GATLIN, D.M.; BARROWS, F.T.; BROWN, P.; DABROWSKI, K.; GAYLORD, T.G.; HARDY, R.W.; HERMAN, E.; HU, G.; NELSON, R.; OVERTURF, K.; RUST, M.; SEALEY, W.; SKONBERG, D.; SOUZA, E.J.. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. **Aquac. Res.**, v.38, n.6, p.551–579, 2007.

GAYE-SIESSEGGER, J.; FOCKEN, U.; ABEL, H.J.; BECKER, K. Influence of dietary non-essential amino acid profile on growth performance and amino acid metabolism of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.**, v.146A, p.71–77, 2007.

GIARI, L.; MANERA, M.; SIMONI, E.; DEZFULI, B. Cellular alterations in different organs of European sea bass *Dicentrarchus labrax* (L.) exposed to cadmium. **Chemosphere**, v.67, p.1171–1181, 2007.

GLOBE NEWSWIRE. **Animal Feed Additives** Market will register 5% CAGR to beat \$25 Billion by 2024: Global Market Insights, Inc., 2018. Disponível a partir de: <https://globenewswire.com/news-release/2018/05/02/1494759/0/en/Animal-Feed-Additives-Market-will-register-5-CAGR-to-beat-25-Billion-by-2024-Global-Market-Insights-Inc.html>. Acessado em 10 de maio de 2018.

GONÇALVES, G.S.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; HISANO, H.; ROSA, M.J.S. Níveis de proteína digestível e energia digestível em dietas para tilápias-do-nilo formuladas com base no conceito de proteína ideal. **R. Bras. Zootec.**, v.38, n.12, p.2289-2298, 2009.

GRAU, A.; CRESPO, S.; SARASQUETE, M.C.; GONZALES DE CANALES, M.L. The digestive tract of the amberjack *Seriola dumerili* Risso: a light and scanning electron microscope study. **J. Fish Biol.**, v.41, p.287–303, 1992.

GUIMARÃES, T.G.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M. Nutrient digestibility of cereal grain products and by-products in extruded diets for Nile tilapia. **J. World Aquac. Soc.**, v.39, n.6, p.781-789, 2008a.

- GUIMARÃES, T.G.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M. Amino acid availability and protein digestibility of several protein sources for Nile tilapia. **Aquac. Nutr.**, v.14, n.5, p.396-404, 2008b.
- GUIMARÃES, I.G.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; FERNANDES, R.N. Apparent nutrient digestibility and mineral availability of protein-rich ingredients in extruded diets for Nile tilapia. **R. Bras. Zootec.**, v.41, n.8, p.1801-1808, 2012.
- Haidar, M.N.; BLEEKER, S.; HEINSBROEK, L.T.N.; SCHRAMA, J.W. Effect of constant digestible protein intake and varying digestible energy levels on energy and protein utilization in Nile tilapia. **Aquaculture**, v.489, p.28–35, 2018.
- HAMED, H.; EL-SAYED, Y.S. Antioxidant activities of *Moringa oleifera* leaf extract against pendimethalin-induced oxidative stress and genotoxicity in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Fish Physiol. Biochem.**, p.1-12, 2018.
- HARDY, R.W. Nutritional Deficiencies in Commercial Aquaculture: Likelihood, Onset, and Identification. In: Lim, C.; Webster, C.D. (Eds.). **Nutrition and Fish Health**, New York, London: Food Products Press, 2001. pp.131-147.
- HASSAAN, M.S.; SOLTAN, M.A.; AGOUZ, H.M.; BADR, A.M. Influences of calcium/phosphorus ratio on supplemental microbial phytase efficiency for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Egypt. J. Aquat. Res.**, v.39, p.205–213, 2013.
- HE, J.-Y.; TIAN, L.-X.; LEMME, A.; GAO, W.; YANG, H.-J.; NIU, J.; LIANG, G.-Y.; CHEN, P.-F.; LIU, Y.-J. Methionine and lysine requirements for maintenance and efficiency of utilization for growth of two sizes of tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquac. Nutr.**, v.19, n.4, p.629-640, 2013.
- HEIDARIEH, M.; MIRVAGHEFI, A.R.; SEPAHI, A.; SHEIKHZADEH, N.; SHAHBAZFAR, A.A.; AKBARI, M. Effects of dietary *Aloe Vera* on growth performance, skin and gastrointestinal morphology in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Turk. **J. Fish. Aquat. Sci.**, v.13, p.367–373, 2013.
- HEREDIA-VIEIRA, S.C.; SIMONET, A.M.; VILEGAS, W.; MACÍAS, F.A. Unusual C,O-Fused Glycosylapigenins from *Serjania marginata* leaves. **J. Nat. Prod.**, v.78, p.77–84, 2015.
- HILTON, J.W.; CHO, C.Y.; SLINGER, S.J. Effect of extrusion processing and steam pelleting diets on pellet durability, pellet water absorption, and the physiological response of rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). **Aquaculture**, v.25, p.185-194, 1981.
- HONORATO, C.A.; CRUZ, C.; CARNEIRO, D.J.; MACHADO, M.R.F. Histologia e histoquímica do intestino anterior de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com dietas contendo silagem de peixe. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, p.48, n.4, p.281-288, 2011.
- HUANG, C.H.; HUANG, M.C.; HOU, P.C. Effect of dietary lipids on fatty acid composition and lipid peroxidation in sarcoplasmic reticulum of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* X *O. aureus*. **Comp. Biochem. Physiol. B**, p.331–336, 1998.
- IRSHAD, M.; MALIK, A.H.; SHAUKAT, S.; MUSHTAQ, S.; ASHRAF, M. Characterization of heavy metals in livestock manures. **Pol. J. Environ. Stud.**, v.2, n.4, p.1257-1262, 2013.
- ISLAM, M.R.; HASSAN, M.R.; BEGUM, M.; PUNOM, N.J.; BEGUM, M.K.; SULTANA, N.; RAHMAN, M.S. Effects of feeding zooplankton, *Moina macrocopa*

- (Straus, 1820) on the growth of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. **Bangladesh J. Sci. Ind. Res.**, v.52, n.2, p.81-88, 2017.
- JUTFELT, F. Barrier Function of the Gut. *In*: FARRELL, A.P., (ed.). **Encyclopedia of Fish Physiology: From Genome to Environment**, v.2, 2011. San Diego: Academic Press. pp. 1322–1331.
- KAUSHIK, S.J.; DOUDET, T.; MÉDALE, F.; AGUIRRE, P.; BLANC, D. Protein and energy needs for maintenance and growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **J. Appl. Ichthyol.**, v.11, p.290–296, 1995.
- KAUSHIK, S.; SEILIEZ, I. Protein and amino acid nutrition and metabolism in fish: current knowledge and future needs. **Aquac. Res.**, v.41, p.322-332, 2010.
- KHAN, R.; ISRAILI, S.H.; AHMAD, H.; MOHAN, A. Heavy metal pollution assessment in surface water bodies and its suitability for irrigation around the Neyveli Lignite Mines and Associated Industrial Complex, Tamil Nadu, India. **Mine Water Environ.**, v.24, p.155-161, 2005.
- KANG'OMBE, J.; BROWN, J.A.; HALFYARD, L.C. Effect of using different types of organic animal manure on plankton abundance, and on growth and survival of *Tilapia rendalli* (Boulenger) in ponds. **Aquac. Res.**, v.37, n.13, p.1360–1371, 2006.
- KNUD-HANSEN, C.F.; BATERSSON, T.R.; MCNABB, C.D. The role of chicken manure in the production of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquac. Fish. Manag.**, v.24, p.483-493, 1993.
- KOCH, J.F.; RAWLES, S.D.; WEBSTER, C.D.; CUMMINS, V.; KOBAYASHI, Y.; THOMPSON, K.R.; GANNAMD, A.L.; TWIBELL, R.G.; HYDE, N.M. Optimizing fish meal-free commercial diets for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v.452, p.357–366, 2016.
- KÖPRÜCÜ, K.; ÖZDEMİR, Y. Apparent digestibility of selected feed ingredients for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v.250, p.308-316, 2005.
- KRANZ, H. Change in splenic melano-macrophage centers of dab, *Limanda limanda* during and after infection with ulcer disease. **Dis. Aquat. Org.**, v.6, p.167–173, 1989.
- KUBITZA, F. Tilápias: manejo nutricional e alimentar. **Panorama da aquicultura**, v.10, n.60, 2000.
- KUBITZA, F. Manejo na produção de peixes. Parte 3. O preparo dos tanques, estocagem dos peixes e a manutenção da qualidade da água. **Panorama da Aquicultura**, v.18, n.110, 2008.
- KUBITZA, F. Manejo na produção de peixes. Parte 4. Manejo nutricional e alimentar. **Panorama da Aquicultura**, v.19, p.14-27, 2009.
- KUZIEMSKA, B.; JAREMKO, D.; WIEREMIEJ, W. Content of magnesium and heavy metal fractions in selected natural fertilisers. **J. Elem.**, v.21, n.1, p.89-97, 2016.
- KUZ'MINA, V.V.; GELMAN, A.G. Membrane-linked digestion in fish. **Reviews in Fisheries Science**, v.5, p.99-129, 1997.
- LI, Y., BORDINHON, A.M., ALLEN DAVIS, D., ZHANG, W., ZHU, X. Protein: energy ratio in practical diets for Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **Aquac. Int.**, v.21, p.1109–1119, 2012.

- LI, D.; ZHAO, Y.; HAN, P.; YANG, C.; LIANG, X.; LI, L.; CAI, S. Effect of chitosan–Jicama starch coating on changes in qualities of fresh Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets during ice storage. **Int. J. Food Sci. Technol.**, v.53, n.9, p.2220–2228, 2018.
- LIM, C.; YILDIRIM-AKSOY, M.; KLESIUS, P. Lipid and Fatty Acid Requirements of Tilapias. **N. Am. J. Aquac.**, v.73, n.2, p.188–193, 2012.
- LIMBU, S.M.; SHOKO, A.P.; LAMTANE, H.A.; KISHE-MACHUMU, M.A.; JORAM, M.C.; MBONDE, A.S.; MGANA, H.F.; MGAYA, Y.D. Supplemental effects of mixed ingredients and rice bran on the growth performance, survival and yield of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* reared in fertilized earthen ponds. **SpringerPlus**, v.5, n.5, 2016.
- LIN, Y.; DIANA, J.S. Fertilizers and feed. In: YI, Y.; LIN, C.K.; DIANA, J.S. **A manual of fertilization and supplemental feeding strategies for small-scale nile tilapia culture in ponds**. Oregon, USA: Aquaculture CRSP, 2008. pp.6–14.
- LIN, Y.-H.; LIN, S.-M.; SHIAU, S.Y. Dietary manganese requirements of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. **Aquaculture**, v.284, n.1–4, 207–210, 2008.
- LIU, W.Q.; ZHANG, J.; LIU, Y.S. Research progress in immunity of animal alimentary canal mucosa. **Acta Agriculturae Jiangxi**, v.21, p.155–157, 2009.
- LOVELL, R.T. **Nutrition and feeding of fish**. Van Nostrand Reinhold, New York, 1988.
- LUSAS, E.W.; RIAZ, M.N. Soy protein products: processing and use. **J. Nutr.**, v.125, n.3, p.573S–580S, 1995.
- MAHFOUZ, M.E. Ameliorative effect of curcumin on aflatoxin B1-induced changes in liver gene expression of *Oreochromis niloticus*. **Mol. Biol.**, v.49, n.2, p.275–286, 2015.
- MAHFOUZ, M.E.; SHERIF, A.H. A multiparameter investigation into adverse effects of aflatoxin on *Oreochromis niloticus* health status. **J. Basic Appl. Zool.**, v.71, p.48–59, 2015.
- MANRIQUE, W.G.; CLAUDIANO, G.S.; PETRILLO, T.R.; CASTRO, M.P.; FIGUEIREDO, M.A.P.; BELO, M.A.A.; MORAES, J.R.E.; MORAES, F.R. Response of splenic melanomacrophage centers of *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) to inflammatory stimuli by BCG and foreign bodies. **J. Appl. Ichthyol.**, v.30, n.5, p.1–6, 2014.
- MARTIN-PEREZ, M.; FERNANDEZ-BORRAS, J.; IBARZ, A.; FELIP, O.; FONTANILLAS, R.; GUTIERREZ, J.; BLASCO, J. Naturally occurring stable isotopes reflect changes in protein turnover and growth in Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*) juveniles under different dietary protein levels. **J. Agric. Food Chem.**, v.61, p.8924–8933, 2013.
- MARTINS, M.L.; CARDOSO, L.; FURTADO, W.E.; TANCREDO, K.R.; LEHMANN, N.B.; FIGUEREDO, A.B.; STECKERT, L.D.; ADDAM, K., PÁDUA, S.B.; FERREIRA, T.H. **Histopathology guide for freshwater fish**. Florianópolis: Editora UFSC, 2018.
- MICHELATO, M.; FURUYA, W.M.; GRACIANO, T.S.; VIDAL, L.V.O.; XAVIER, T.O.; MOURA, L.B.DE; FURUYA, V.R.B. Digestible methionine + cystine requirement for Nile tilapia from 550 to 700 g. **R. Bras. Zootec.**, v.42, p.7–12, 2013.
- MICHELATO, M.; VIDAL, L.V.O.; XAVIER, T.O.; GRACIANO, T.S.; DE MOURA, L.B.; FURUYA, V.R.B.; FURUYA, W.M. Dietary threonine requirement to optimize

protein retention and fillet production of fast-growing Nile tilapia. **Aquac. Nutr.**, v.22, n.4, p.759-766, 2015.

MICHELATO, M.; VIDAL, L.V.O.; XAVIER, T.O.; MOURA, L.B.DE; ALMEIDA, F.L.A.DE; PEDROSA, V.B.; FURUYA, V.R.B.; FURUYA, W.M. Dietary lysine requirement to enhance muscle development and fillet yield of finishing Nile tilapia. **Aquaculture**, v.457, p.124–130, 2016.

MICHELATO, M.; ZAMINHAN, M.; BOSCOLO, W.R.; NOGAROTO, V.; VICARI, M.; ARTONI, R.F.; FURUYA, V.R.B.; FURUYA, W.M. Dietary histidine requirement of Nile tilapia juveniles based on growth performance, expression of muscle-growth-related genes and haematological responses. **Aquaculture**, v.467, p.63–70, 2017.

MICHELATO, M.; FURUYA, W.M.; GATLIN, D.M. Metabolic responses of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* to methionine and taurine supplementation. **Aquaculture**, v.485, p.66–72, 2018.

MIRANDA, E.C.DE; PEZZATO, A.C.; PEZZATO, L.E.; GRANER, C.F.; ROSA, G.J.; QUINTERO PINTO, L.G. Relação Cálcio/Fósforo Disponível em Rações para Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Rev. Bras. Zootec.**, v.29, n.6, p.2162-2171, 2000.

MISRA, C.K.; SAHU, N.P.; JAIN, K.K. Effect of extrusion processing and steam pelleting diets on pellet durability, water absorption and physical response of *Macrobrachium rosenbergii*. Asian-Australas. **J. An. Sci.**, v.15, p.1354-1358, 2002.

MONTANHINI NETO, R.; OSTRENSKY, A. Evaluation of commercial feeds intended for the Brazil production of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): nutritional and environmental implications. **Aquac. Nutr.**, v.21, p.311-320, 2015.

MONTOYA-CAMACHO, N.; MARQUEZ-RÍOS, E.; CASTILLO-YÁÑEZ, F.J.; LÓPEZ, J.L.C.; LÓPEZ-ELÍAS, J.A.; RUÍZ-CRUZ, S.; JIMÉNEZ-RUÍZ, E.I.; RIVAS-VEJA, M.E.; OCAÑO-HIGUERA, V.M. Advances in the use of alternative protein sources for tilapia feeding. **Rev. Aquac.**, p.1–12, 2018.

MOREIRA, S.S.; TAMASHIRO, L.K.; JORGE, B.C.; BALIN, P.S.; HEREDIA-VIEIRA, S.C.; ALMEIDA, G.L.; CARDOSO, C.A.L.; KASSUYA, C.A.L.; ARENA, A.C. Toxicological safety evaluation in acute and 28-day studies of aqueous extract from *Serjania marginata* Casar. (Sapindaceae) leaves in rats. **J. Ethnopharmacol.**, v.231, n.1, p.197-204, 2019.

MORO, G.V.; RODRIGUES, A.P.O. Rações para organismos aquáticos: tipos e formas de processamento. Palmas: Embrapa Pesca e Aquicultura, 2015. (**Documentos**, 14).

MOURA, R.S.T.; VALENTI, W.C.; HENRY-SILVA, G.G. Sustainability of Nile tilapia net-cage culture in a reservoir in a semi-arid region. **Ecol. Ind.**, v.66, p.574–582, 2016.

MUNGLUE, P.; DASRI, K. Effects of *Bauhinia strychnifolia* Craib leaf extract on growth parameters and intestinal morphology of catfish (*Clarias gariepinus*). Proceeding B. Sakon Nakhon Rajabhat Univ. Int. Conf, 2015. Disponível a partir de: <http://science.snruic.snru.ac.th/wp-content/uploads/2015/06/10-Proceeding-SP023-50-57-final.pdf>. Acessado em 01 de junho de 2018.

MURASHITA, K.; MATSUNARI, H.; FURUITA, H.; RØNNESTAD, I.; OKU, H.; YAMAMOTO, T. Effects of dietary soybean meal on the digestive physiology of red seabream *Pagrus major*. **Aquaculture**, v.493, p.219–228, 2018.

- MURRAY, H.M.; WRIGHT, G.M.; GOFF, G.P. A comparative histological and histochemical study of the post-gastric alimentary canal from three species of Pleuronectid, the Atlantic halibut, the yellowtail flounder and the winter flounder. **J. Fish Biol.**, v.48, p.187–206, 1996.
- NARIMBI, J.; MAZUMDER, D.; SAMMUT, J. Stable isotope analysis to quantify contributions of supplementary feed in Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* (GIFT strain) aquaculture. **Aquac. Res.**, v.49, n.5, p.1866–1874, 2018.
- NG, W.K.; LIM, P.K.; SIDEK, H. The influence of a dietary lipid source on growth, muscle fatty acid composition and erythrocyte osmotic fragility of hybrid tilapia. **Fish Physiol. Biochem.**, v.25, p.301–310, 2001.
- NG, W.K.; GIBON, V. Palm oil and saturated fatty acid-rich vegetable oils. *In*: TURCHINI, G.M.; NG, W.K.; TOCHER, D.R. (Eds). **Fish Oil Replacement and Alternative Lipid Sources in Aquaculture Feeds**. UK: CRC Press, 2011. pp. 99–132.
- NG, W.K.; ROMANO, N. A review of the nutrition and feeding management of farmed tilapia throughout the culture cycle. **Rev. Aquac.**, v.5, p.220–254, 2013.
- NGUYEN, T.N.; DAVIS, D.A. Methionine requirement in practical diets of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **J. World Aquac. Soc.**, v.40, p.410–416, 2009.
- NGUYEN, T.N.; DAVIS, D.A. Comparison of crystalline lysine and intact lysine used as a supplement in practical diets of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v.464, p.331-339, 2016.
- NRC - National Research Council. **Nutrient requirements of fish**. Washington, DC, USA: The National Academy Press, 1993.
- NRC - National Research Council. **Mineral Tolerances of Animals**. National Academies Press, Washington, DC, 2005.
- NRC - National Research Council. **Nutrient requirements of fish and shrimp**. Washington, DC, USA: The National Academy Press, 2011.
- OLIVEIRA, K.F.; LACERDA, L.D.; PERES, T.F.; MARINS, R.V.; SANTOS, J.A. The fate of Cu, Zn and Mn in an intensive fish aquaculture (Tilapia - *Oreochromis niloticus*) in an artificial Reservoir in Northeastern Brazil. **Environ. Process.**, v.4, p.107-121, 2017.
- ONO, E.A. Formação de preços das rações comerciais para peixes. *In*: CYRINO, J.E.P.; MIYADA, V.S.; MENTEN, J.F.M. Simpósio Sobre Manejo e Nutrição de Peixes 2. Colégio Brasileiro de Nutrição Animal [CBNA], Campinas, SP, 1998. **Anais...** Campinas. pp. 172-187.
- OYEWALE, A.O.; MUSA, I. Pollution assessment of lower basin of Lakes Kainji/Jebba, Nigeria: heavy metal status of the waters, sediments and fishes. **Environ. Geochem. Health**, n.28, p.273-281, 2006.
- PAHLOW, M.; OEL, P.R.VAN; MEKONNENA, M.M.; HOEKSTRA, A.Y. Increasing pressure on freshwater resources due to terrestrial feed ingredients for aquaculture production. **Sci. Total Environ.**, v.536, p.847–857, 2015.
- PASTORE, S.C.G.; GAIOTTO, J.R.; RIBEIRO, F.A.S.; NUNES, A.J.P. Boas práticas de fabricação e formulação de rações para peixes. *In*: FRACALOSSO, D.M.; CYRINO, J.E.P (Eds.). **Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**. Florianópolis: Editora Copiart, 2012. pp.255-268.

PEIXEBR. Anuário PeixeBR da Piscicultura 2018. São Paulo: Associação brasileira da piscicultura, 2018.

PEREIRA, A. DA C.; SILVA, R.F. **Produção de tilápias**. Niterói: Programa Rio Rural, 2012. (Manual Técnico, 31).

PÉRICO, L.L.A.; HEREDIA-VIEIRA, S.C.; BESERRA, F.P.; DOS SANTOS, R.C.; WEISS, M.B.; RESENDE, F.A.; RAMOS, M.A.S.; BONIFÁCIO, B.V.; BAUAB, T.M.; VARANDA, E.A.; GOBBI, J.I.F.; ROCHA, L.R.M.; VILEGAS, W.; HIRUMA-LIMA, C.A. Does the gastro protective action of a medicinal plant ensure healing effects? An integrative study of the biological effects of *Serjania marginata* Casar (Sapindaceae) in rats. **J. Ethnopharmacol.**, v.172, n.22, p.312-324, 2015.

PETRINEC, Z.; NEJEDLI, S.; KUZIR, S.; OPACAK, A. Mucosubstances of the digestive tract mucosa in northern pike (*Esox lucius* L.) and european catfish (*Silurus glanis* L.). **Veterinary Archives**, v.75, p.317-327, 2005.

PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C.; BARROS, M.M.; PINTO, L.G.Q.; FURUYA, W.M.; PEZZATO, A.C. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Rev. Bras. Zootec.**, v.31, n.4, p.1595-1604, 2002.

PEZZATO, A.C.; NARVÁEZ-SOLARTE, W.V.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; KOCH, J.F.A.; FERNANDES JUNIOR, A.C. Avaliação nutricional, em tilápias-do-nilo, de farinhas de sangue bovino obtidas por três métodos de processamento. **R. Bras. Zootec.**, v.41, n.3, p.491-500, 2012.

PIRARAT, N.; PINPIMAI, K.; ENDO, M.; KATAGIRI, T.; PONPORNPIKIT, A.; CHANSUE, N.; MAITA, M. Modulation of intestinal morphology and immunity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by *Lactobacillus rhamnosus* GG. **Res. Vet. Sci.**, v.91, n.3, p.e92–e97, 2011.

PONTES, E.C.; OLIVEIRA, M.M.DE; ROSA, P.V.; FREITAS, R.T.F.DE; PIMENTA, M.E.S.G.; RODRIGUES, P.B. Níveis de farinha de peixe em rações para juvenis de tilápia. **R. Bras. Zootec.**, v.39, n.8, p.1626-1632, 2010.

PORTZ, L. E FURUYA, W.M. Energia, proteína e aminoácidos. *In*: FRACALOSSO, D.M.; CYRINO, J.E.P. (Eds.). **Nutriaqua**: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2012.

PRABHU, P.A.J.; SCHRAMA, S.J.; KAUSHIK, J.W. Quantifying dietary phosphorus requirement of fish—a meta analytic approach. **Aquacult. Nutr.**, v.19, p.233–249, 2013.

PUCHER, J.; MAYRHOFER, R.; EL-MATBOULI, M.; FOCKEN, U. Effects of modified pond management on limnological parameters in small-scale aquaculture ponds in mountainous Northern Vietnam. **Aquacult. Res.**, v.47, p.56–70, 2016.

PULSFORD, A.L., RYAN, K.P., NOTT, J.A. Metals and melanomacrophage in flounder *Platichthys flesus* spleen and kidney. **J. Mar. Biol. Assoc.**, v.72, p.483–498, 1992.

PUVAČA, N.; STANAČEV, V.; GLAMOČIĆ, D.; LEVIĆ, J.; PERIĆ, L.; MILIĆ, D. Beneficial effects of phytoadditives in broiler nutrition. **World Poult. Sci. J.**, v.69, p.27–34, 2013.

QIANG, J.; YANG, H.; WANG, H.; KPUNDEH, M. D.; XU, P. Interacting effects of water temperature and dietary protein level on hematological parameters in Nile tilapia

- juveniles, *Oreochromis niloticus* (L.) and mortality under *Streptococcus iniae* infection. **Fish Shellfish Immunol.**, v.34, p.8–16, 2013.
- RAHMAN, A.N.A.; KHALIL, A.A.; ABDALLAH, H.M.; ELHADY, M. The effects of the dietary supplementation of *Echinacea purpurea* extract and/or vitamin C on the intestinal histomorphology, phagocytic activity, and gene expression of the Nile tilapia. **Fish Shellf. Immunol.**, v.82, p.312–318, 2018.
- RIGHETTI, J.S.; FURUYA, W.M.; CONEJERO, C.I.; GRACIANO, T.S.; VIDAL, L.V.O.; MICHELLATO, M. Redução da proteína em dietas para tilápias-do-nilo por meio da suplementação de aminoácidos com base no conceito de proteína ideal. **R. Bras. Zootec.**, v.40, n.3, p.469-476, 2011.
- ROBINSON, E.H.; RAWLES, S.D.; YETTE, H.E.; GREENE, L.W. An estimate of the dietary calcium requirement of fingerling *Tilapia aurea* reared in calcium-free water. **Aquaculture**, v.41, p.389–393, 1984.
- ROBINSON, E.H.; LABOMASCUS, D.; BROWN, P.B.; LINTON, T.L. Dietary calcium and phosphorus requirements of *Oreochromis aureus* reared in calcium-free water. **Aquaculture**, v.64, p.267–276, 1987.
- RODRÍGUES, R.R.; PINTO, A.C. Constituintes químicos e propriedades biológicas de espécies do gênero *Serjania*. **Rev. Virtual Quim.**, v.6, n.6, p.1583-1606, 2014.
- ROMANA-EGUIA, M.R.R.; LARONA, M.A.; CATACUTAN, M.R. On-farm feed management practices for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in the Philippines. In HASAN, M.R.; NEW, M.B. (Eds.). **On-farm feeding and feed management in aquaculture**. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper No. 583, Rome, FAO, 2013. pp. 131–158.
- RORIZ, G.D.; DELPHINO, M.K.V.C.; GARDNER, I.A.; GONÇALVES, V.S.P. Characterization of tilapia farming in net cages at a tropical reservoir in Brazil. **Aquac. Rep.**, v.6, p.43-48, 2017.
- RUKERA, T.S.; MUTANGA, O.; RUGEGE, D.; MICHA, J.-C. Rearing rabbits over earthen fish ponds in Rwanda: effects on water and sediment quality, growth, and production of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **J. Appl. Aquacult.**, v.24, n.2, 170–181, 2012.
- RUST, M.B. Nutritional Physiology. In: HALVER, J.E., HARDY, R. (Eds.). **Fish nutrition**. San Diego: Academic Press, 2002. pp. 367–452.
- SCHAMBER, C.R. **Exigência de fósforo para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) na terminação**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brasil, 2008.
- SCHALCH, S.H.C. Os benefícios do alimento vivo na criação de tilápias nilóticas. **Pesquisa & Tecnologia**, v.10, n.2, 2013.
- SCHAMBER, C.R.; BOSCOLO, W.R.; NATALI, M.R.M.; MICHELATO, M.; FURUYA, V.R.B.; FURUYA, W.M. Growth performance and bone mineralization of large Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed graded levels of available phosphorus. **Aquac. Intern.**, v.22, n.5, p.1711-1721, 2014.
- SCORVO FILHO, J.D.; FRASCÁ-SCORVO, C.M.D.; ALVES, J.M.C.; SOUZA, F.R.A.DE. A tilapicultura e seus insumos, relações econômicas. **R. Bras. Zootec.**, v.39 (Supl. especial), p.112-118, 2010.

- SELIM, K.M.; EL-HOFY, H.; KHALIL, R.H. The efficacy of three mycotoxin adsorbents to alleviate aflatoxin B1-induced toxicity in *Oreochromis niloticus*. **Aquac. Int.**, v.22, n.2, p.523-540, 2013.
- SHARIFI-RAD, J.; SUREDA, A.; TENORE, G.C.; DAGLIA, M.; SHARIFI-RAD, M.; VALUSSI, M.; TUNDIS, R.; SHARIFI-RAD, M.; LOIZZO, M.R.; ADEMILUYI, A.O.; SHARIFI-RAD, R.; AYATOLLAHI, S.A.; IRITI, M. Biological activities of essential oils: from plant chemoeology to traditional healing systems. **Molecules**, v.22, p.70, 2017.
- SHEARER, K.D.; ASGARD, T. The effect of water-borne magnesium on the dietary magnesium requirement of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Fish Physiol. Biochem.**, v.9, p.387–392, 1992.
- SHIAU, S.-Y.; NING, Y.C. Estimation of dietary copper requirements of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. **Anim. Sci.**, v.77, p.287-292, 2003.
- SHIAU, S.Y.; PENG, C.Y. Protein-sparing effect by carbohydrates in diets containing glucose or dextrin. **J. Nutr.**, v.122, p.2030–2036, 1993.
- SHIAU, S.-Y.; TSENG, H.-C. Dietary calcium requirements of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*, reared in fresh water. **Aquac. Nutr.**, v.13, p.298-303, 2007.
- 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, 2015.
- SILVA, R.L.DA; ARAÚJO, E.P.DE; ROCHA, M.K.H.R.; DAMASCENO, F.M.; BARROS, M.M.; PEZZATO, L.E. Valor nutritivo de alimentos energéticos para a Tilápia-do-Nilo. **Bol. Inst. Pesca**, v.42, n.3, p.566-577, 2016.
- SINDIRAÇÕES. **Guia de aditivos: ácidos orgânicos, aminoácidos, enzimas, microminerais, vitaminas**. Gráfica São José: S. J. Rio Preto, SP, 2005. Disponível a partir de: https://www.crq4.org.br/downloads/guia_aditivos.pdf. Acessado em 15 de novembro de 2018.
- SINHA, A.K.; KUMAR, V.; MAKKAR, H.P.S.; BOECK, G.D.; BECKER, K. Non-starch polysaccharides and their role in fish nutrition – a review. **Food Chem.**, v.127, p.1409–1426, 2011.
- SOLOMON, S.G.; TIAMIYU, L.O.; OKOMODA, V.T.; ADAGA, K. Nutrient profile of commercial fish feeds under different storage conditions. **Int. J. Aquac.**, v.6, n.12, 2016.
- SONODA, D.Y.; FRANÇA, E.D.; CYRINO, J.E.P. Modelo de preço de ração para peixe no período de 2001 a 2015. **Revista iPecege**, v.2, n.3, p.57-71, 2016.
- STEINEL, N.C.; BOLNICK, D.I. Melanomacrophage centers as a histological indicator of immune function in fish and other poikilotherms. **Front. Immunol.**, v.8, p.827, 2017.
- STRATEV, D.; ZHELYAZKOV, G.; NOUNDOU, X.S.; KRAUSE, R.W.M. Beneficial effects of medicinal plants in fish diseases. **Aquac. Int.**, v.26, p.289–308, 2018.
- SUN, Z.; TAN, X.; YE, H.; ZOU, C.; YE, C.; WANG, A. Effects of dietary *Panax notoginseng* extract on growth performance, fish composition, immune responses, intestinal histology and immune related genes expression of hybrid grouper (*Epinephelus lanceolatus* ♂ × *Epinephelus fuscoguttatus* ♀) fed high lipid diets. **Fish Shellf. Immunol.**, v.73, p.234–244, 2018.

- TACON, A.G.J.; METIAN, M. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: trends and future prospects. **Aquaculture**, v.285, p.146–158, 2008.
- TAKISHITA, S.S. **Relações de treonina e triptofano com a lisina digestível em rações para alevinos de tilápia do nilo**. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2012.
- TAN, X.; SUN, Z.; ZHOU, C.; HUANG, Z.; TAN, L.; XUN, P.; HUANG, Q.; LIN, H.; YE, C.; WANG, A. Effects of dietary dandelion extract on intestinal morphology, antioxidant status, immune function and physical barrier function of juvenile golden pompano *Trachinotus ovatus*. **Fish Shellf. Immunol.**, v.73, p.197–206, 2018.
- TAO, Y.-F.; QIANG, J.; BAO, J.-W.; CHEN, D.-J.; YIN, G.-J.; XU, P.; ZHU, H.-J. Changes in physiological parameters, lipid metabolism, and expression of microRNAs in genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) with fatty liver induced by a high-fat diet. **Front. Physiol.**, v.9, p.1521, 2018.
- TEIXEIRA, J.R.M.; LAPA, A.J.; SOUCCAR, C.; VALLE, J.R. Timbós: ichthyotoxic plants used by brazilian Indians. **J. Ethnopharmacol.**, v.10, p.311-318, 1984.
- TENGJAROENKUL, B.; SMITH, B.J.; CACECI, T.; SMITH, S.A. Distribution of intestinal enzymes activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. **Aquaculture**, v.182, n.3, p.317– 327, 2000.
- TIBBETTS, I.R. The distribution and function of mucous cells and their secretions in the alimentary tract of *Arrhamphus sclerolepis* krefftii. **J. Fish Biol.**, v.50, p.809–20, 1997.
- TOCHER, D.R. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. **R. Fish. Sci.**, v.11, p.107-184, 2003.
- TRAN-NGOC, K.T., DINH, N.T., NGUYEN, T.H., ROEM, A.J., SCHRAMA, J.W., VERRETH, J.A.J. Interaction between dissolved oxygen concentration and diet composition on growth, digestibility and intestinal health of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v.462, p.101–108, 2016.
- TRIPATHI, M.K.; MISHRA, A.S. Glucosinolates in animal nutrition: A review. **An. Feed Sc. Tech.**, v.132, n.1–2, p.1-27, 2007.
- TRUSHENSKI, J.T.; BOESENBERG, J.; KOHLER, C.C. Influence of grow-out feed fatty acid composition on finishing success in Nile tilapia. **N. Am. J. Aquac.**, v.71, p.242–251, 2009.
- TUAN, N.A.; GRIZZLE, J.M.; LOVELL, R.T.; MANNING, B.B.; ROTTINGHAUS, G.E. Growth and hepatic lesions of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets containing aflatoxin B1. **Aquaculture**, v.212, p.311–319, 2002.
- TURCHINI, G.M.; TORSTENSEN, B.E.; NG, W.K. Fish oil replacement in finfish nutrition. **Rev. Aquac.**, v.1, p.10–57, 2009.
- UNEP. **Global mercury assessment 2013**: sources, emissions, releases and environmental transport. Geneva: UNEP Chemicals Branch, 2013. p.44.
- VALLEJOS-VIDAL, E.; REYES-LÓPEZ, F.; TELES, M.; MACKENZIE, S. The response of fish to immunostimulant diets. **Fish Shell. Immunol.**, v.56, p.34–69, 2016.
- VAN HAI, N. The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture: a review. **Aquaculture**, v.446, p.88–96, 2015.

- VERDAL, H.; KOMEN, H.; QUILLET, E.; CHATAIN, B.; ALLAL, F.; BENZIE, J.A.H.; VANDEPUTTE, M. Improving feed efficiency in fish using selective breeding: a review. **Rev. Aquac.**, v.10, n.4, 2018.
- VICO, G.; GUIDA, V.; CARELLA, F. *Urtica dioica* (Stinging Nettle): A neglected plant with emerging growth promoter/immunostimulant properties for farmed fish. **Front. Physiol.**, v.9, p.285, 2018.
- VIDAL, L.V.O.; XAVIER, T.O.; MOURA, L.B.DE; GRACIANO, T.S.; MARTINS, E.N.; FURUYA, W.M. Apparent digestibility of soybean coproducts in extruded diets for Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquac. Nutr.**, v.23, p.228-235, 2017.
- VIDAL, L.V.O.; XAVIER, T.O.; MOURA, L.B.DE; GRACIANO, T.S.; MARTINS, E.N.; FURUYA, W.M. Apparent digestibility of soybean coproducts in extruded diets for Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquac. Nutr.**, v.23, p.228-235, 2017.
- VIELMA, J.; LALL, J.P. Control of phosphorus homeostasis of Atlantic salmon (*Salmo salar*) in fresh water. **Fish Physiol. Biochem.**, v.19, p.83-93, 1998.
- WEN, C.M. Development and characterization of a cell line from tilapia head kidney with melanomacrophage characteristics. **Fish Shellfish Immunol.**, v.49, p.442-449, 2016.
- WILSON, R.P.; NAGGAR, G.E. Potassium requirement of fingerling channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, 108, 169-175, 1992.
- WILSON, J.M.; CASTRO, L.F.C. Morphological diversity of the gastrointestinal tract in fishes. In: Grosell, M.; Farrell, A.P.; Brauner, C.J. **Fish physiology: the multifunctional gut of fish**. San Diego: Academic Press, 2010.
- WILSON, R.P. Utilization of dietary carbohydrate by fish. **Aquaculture**, v.124, p.67-80, 1994.
- XIE, D.; YANG, L.; YU, R.; CHEN, F.; LU, R.; QIN, C.; NIE, G. Effects of dietary carbohydrate and lipid levels on growth and hepatic lipid deposition of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v.479, n.1, p.696-703, 2017.
- XIAO, W.; LI, D.Y.; ZHU, J.L.; ZOU, Z.Y.; YUE, Y.R.; YANG, H. Dietary valine requirement of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquac. Nutr.**, v.24, n.1, p.315-323, 2018.
- YAO, Y.F.; JIANG, M.; WEN, H.; WU, F.; LIU, W.; TIAN, J.; YANG, C.G. Dietary phosphorus requirement of GIFT strain of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* reared in freshwater. **Aquac. Nutr.**, v.20, p.273-280, 2014.
- YU, J. Current understanding on aflatoxin biosynthesis and future perspective in reducing aflatoxin contamination. **Toxins**, v.4, p.1024-1057, 2012.
- ZAHID, A.; KHAN, N.; NASIR, M.; ALI, M.W. Effect of artificial feed and fertilization of ponds on growth and body composition of genetically improved farmed tilapia. **Pakistan J. Zool.**, v.45, n.3, p.667-671, 2013.
- ZAMINHAN, M.; BOSCOLO, W.R.; NEU, D.H.; FEIDEN, A.; FURUYA, V.R.B.; FURUYA, W.M. Dietary tryptophan requirements of juvenile Nile tilapia fed corn soybean meal-based diets. **An. Feed Sci. Technol.**, v.227, p.62-67, 2017.
- ZAMINHAN, M.; MICHELATO, M.; FURUYA, V.R.B.; BOSCOLO, W.R.; ARAÚJO, F.E.; CRUZ, T.P.; URBICH, A.V.; FURUYA, W.M. Total and available tryptophan

requirement of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fingerlings. **Aquac. Nutr.**, v.24, n.5, p.1553-1562, 2018.

ZELIKOFF, J.T. Biomarkers of immunotoxicity in fish e other non-mammalian sentinel species predictive value for mammals. **Toxicology**, v.129, p.63–71, 1998.

ZHAO, H.; JIANG, R.; XUE, M.; XIE, S.; WU, X.; GUO, L. Fishmeal can be completely replaced by soy protein concentrate by increasing feeding frequency in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* GIFT strain) less than 2 g. **Aquac. Nutr.**, v.16, p.648–653, 2010.

ZHENG, K.K.; ZHU, X.M.; HAN, D.; YANG, Y.X.; LEI, W.; XIE, S.Q. Effects of dietary lipid levels on growth, survival and lipid metabolism during early ontogeny of *Pelteobagrus vachelli* larvae. **Aquaculture**, v.299, p.121–127, 2010.

4. CAPÍTULO - ATIVIDADE HEPÁTICA E GASTROPROTETORA DO EXTRATO AQUOSO DE FOLHAS DE *Serjania marginata* EM TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*)

Atividade hepática e gastroprotetora do extrato aquoso de folhas de *Serjania marginata* em tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)

Hepatic and gastroprotective activity of *Serjania marginata* leaf aqueous extract in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

Resumo

O objetivo deste trabalho foi verificar a composição química do extrato aquoso de folhas de *Serjania marginata* e os efeitos de sua inclusão na dieta da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), abordando a atividade de enzimas digestivas e de enzimas associadas com o metabolismo hepático; e histopatologia do intestino e fígado. Os peixes (peso inicial médio, $54,36 \pm 17,04$ g) foram divididos nos grupos: Jejum (sem alimentação), Controle (ração comercial) e Tratamento (ração comercial com extrato aquoso de folhas de *Serjania marginata*), com cinco indivíduos em cada aquário e alimentação até saciedade aparente por 15 dias. Peixes do grupo Tratamento consumiram em média 224,3 mg de extrato/kg de peixe/dia. Na análise do extrato por espectrometria de massa foram identificados quercitrina, isoquercetrina, proantocianidinas trímico tipo A e ácido quínico. Na atividade enzimática, peixes do Tratamento apresentaram elevado nível de fosfatase alcalina, enquanto os marcadores hepatotóxicos (AST e ALT) e níveis de lipase, amilase e protease não específica não diferiram ($p > 0.05$). Na análise histopatológica do fígado foi observado que os peixes do Tratamento apresentavam estrutura normal, enquanto anormalidades foram associadas com o Controle (fibrose, perda da arquitetura cordonal, hepatócitos vacuolizados com núcleo deslocado para a periferia) e Jejum (redução do tamanho dos hepatócitos e espaço sinusoidal). A histopatologia do intestino evidenciou que o extrato favorece o desenvolvimento de células caliciformes e altura das vilosidades intestinais. Os resultados indicam que o extrato aquoso de folhas de *S. marginata* auxilia na manutenção estrutural do fígado e intestino; e estimula a produção de fosfatase alcalina intestinal na tilápia, sugerindo que as substâncias identificadas agem no fígado e intestino, apresentando efeito hepatoprotetor e estimulante da digestão intestinal.

Palavras-chave: histopatologia – fosfatase alcalina – digestão – metabolismo hepático

Abstract

The aim of this study was to assess the leaf aqueous extract composition of *Serjania marginata* and the effects of its inclusion on the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), with respect to the activity of digestive enzymes and enzymes associated with the metabolism of the liver and intestine and liver histopathology. Fish (initial mean weight, 54.36 ± 17.04 g) were divided into groups: fasting (without feeding), control (commercial feed), and treatment (commercial feed with leaf aqueous extract of *Serjania marginata*), and in each aquarium, there were five individuals and the fish fed *ad libitum*

for 15 days. Treatment fish had ingested on average 224.3 mg of extract/kg of fish/day. In the extract analysis by mass spectrometry, quercitrin, isoquercitrin, A-type proanthocyanidin trimer and quinic acid were identified. In the enzymatic activity, fish from the treatment group showed higher level of alkaline phosphatase, while the hepatotoxic markers (AST and ALT) and levels of lipase, amylase and nonspecific protease did not differ ($p>0.05$). In liver histopathological analysis, it was observed that fish from the treatment showed normal structure, while abnormalities were associated with control (fibrosis, loss of cordonal architecture, vacuolated hepatocytes with nucleus displaced to the periphery) and fasting (reduction in hepatocyte size and sinusoidal space). The intestine histopathology evidenced that the extract favored the development of goblet cells and intestinal fold height. The results indicated that the leaf aqueous extract of *S. marginata* assists in the structural maintenance of the liver and intestine and stimulates intestinal alkaline phosphatase production in Nile tilapia, suggesting that the identified compounds act on the liver and intestine, showing hepatoprotective effects and stimulating intestinal digestion.

Keywords: Histopathology – Alkaline phosphatase – Digestion and Hepatic metabolism

Introduction

Fish is currently the most widely produced animal protein, especially farmed fish, which had a 60% increase in production between 2007 and 2017, representing the greatest growth between commodities of protein sources (OECD/FAO 2017). However, aquaculture is affected by several factors, such as cultivation systems, climate change, water quality and nutrition, which affect fish physiology and may cause loss of homeostasis and reduce productive performance (FAO 2018; Karapanagiotidis et al. 2018; Yuan et al. 2018). Studies have been performed incorporating plant ingredients in fish feed in order to promote benefits to animal (Manaf et al. 2017; Reverter et al. 2014; Quesada et al. 2013; Azaza et al. 2009; Emre et al. 2008; Mandal and Ghosh 2010a, b). However, the effects of plant extracts on aquatic organisms are underexploited, being relevant to understand how plants can affect fish health, as a preliminary step for large-scale use in aquaculture (Stratev et al. 2018; Awad and Awad 2017; Reverter et al. 2014).

Medicinal plants and their derivatives are rich in many active principles that feature a variety of biological activities (Awad and Awad 2017). Among several medicinal plants, the species of the genus *Serjania* (Sapindaceae) stand out, occurring in tropical and subtropical regions (Moreira et al. 2013) and featuring a wide distribution in Brazil, especially in the Pantanal and Cerrado biomes (Souza and Lorenzi 2013; Moreira et al. 2013). Crude extracts from different parts of the plant, such as stem, leaves, and root, of species of this genus exhibit biological activities such as anti-inflammatory (Gomig et al. 2008), antimicrobial (Cardoso et al. 2013; Lima et al. 2006),

gastroprotective (Arruda et al. 2009; Silva et al. 2012), antioxidant (David et al. 2007), and antispasmodic (Silva et al. 2017). However, the effect of genus *Serjania* plants in fish was reported only as ictiotoxic (Andrade et al. 2015; Petrere Jr. 1989; Teixeira et al. 1984). This toxicity was proven for *Serjania lethalis* and *Serjania caracasana* that feature saponins called “serjanosides”, which kill fish by asphyxia (Teixeira et al. 1984; Aragão and Valle 1973; Cordeiro and Valle 1975). On the other hand, studies related to leaf hydroethanolic extract of *Serjania marginata* indicated gastroprotective (Périco et al. 2015) and antioxidant activities (Heredia-Vieira et al. 2015).

Diet formulated with plant extracts contain compounds that can lead to an improvement of the digestive and/or immune system of fish (Hamed and El-Sayed 2018; Du et al. 2018; Hassaan et al. 2018; Gbadamosi et al. 2016; Gabriel et al. 2015; Verma and Nath 2015; Shivashri, Rajarajeshwari and Rajasekar 2013), which feature adaptability of digestive processes, such as the following: enzymatic and profile secretion; absorption and transport of nutrients. In this context, the morphological study reveals the performance of the digestive process, absorption, and metabolism (Lundstedt et al. 2003), besides being a selective barrier allowing nutrient absorption and eliminating many toxic substances (Liquori et al. 2007) and a developer of different adaptations of digestive tract in function of diet offered (Evans et al. 2005). Therefore, histological and enzymatic studies are essential for decision-making regarding the kind of food that can be recommended on fish feeding (Romarheim et al. 2008).

The present study was performed considering the potential displayed by the biological activities of other species of the genus *Serjania* and the gastroprotective and antioxidant activities identified for the leaf extract of *Serjania marginata* and due to lack of information regarding the effect of the use of this species on aquatic organisms. The aim of this study was to assess the leaf aqueous extract composition of *Serjania marginata* and the effects of its inclusion on the diet of Nile tilapia, in relation to digestive enzymes content and hepatic metabolism; and intestine and liver histopathology.

Materials and methods

Plant material

Leaves of *S. marginata* Casar. were collected in the Cerrado (Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil) (21° 59' 41.8 South latitude, 55° 19' 24.9" West longitude, and

429m altitude. Identification was performed by Dr. Arnildo Pott, and an exsiccate was deposited (number 41054) at the CGMS - Herbarium of the Fundação Universidade Federal do Mato Grosso do Sul.

Preparation and chemical analysis of *S. marginata* leaf aqueous extract

The leaves of *S. marginata* were oven-dried (37 ± 2 °C) for 48 h and ground (Wiley-type mill, with a 2-mm mesh sieve). The aqueous extract was obtained by maceration, using 20 mL of distilled water for every 2 g of grounded dry matter. The material remained in the water for 24 h, at room temperature (25°C). Then, the extract was filtered and lyophilized. Solid phase extraction (SPE) cartridges (Strata C18-E, Phenomenex) were activated with methanol. The extract sample (5.0 mg) was solubilized in the least possible amount of mobile phase and subsequently subjected to SPE with methanol (2 mL). The extract was analyzed by direct injection was performed (FIA-ESI-IT-MS in negative mode—Mass spectrometer LTQ XL equipped with an APCI ionization source and linear ion-trap analyzer) to obtain the mass spectra in negative mode $[M-H]^-$, as described by Moreira et al. (2018). The substances identified in this study also were identified in aqueous extract of *S. marginata* by Moreira et al. (2018).

Animals

The *in vivo* assay was performed with juvenile Nile tilapia (54.36 ± 17.04 g), acclimated to the environment for 15 days. Fish were divided into 15 experimental units (20 L water) containing five fish, totaling 25 fish per treatment in recirculating system with photoperiod of 12 h of light. Water quality was monitored during the assay (0.02 $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$ electric conductivity, pH 7.95, 5.70 ± 0.2 mg L^{-1} for dissolved oxygen; water temperature 26.27 ± 1.20 °C, 150 mg/L total hardness as CaCO_3). Fish were fed a commercial feed (32% crude protein and 4275 kcal kg^{-1}) acquired in local market, for a period of 15 days *ad libitum* twice a day. The assay has been approved by the Ethics Committee for Animals Use of Centro Universitário da Grande Dourados (Protocol number 003/14).

Experimental design of hepatic and gastroprotective activity on Nile tilapia

A completely randomized design was used to evaluate the effects of diet on hepatic and gastroprotective activity of Nile tilapia. with three diets and 15 replicates The juvenile Nile tilapia were divided into three diet groups (n = 45): (i) kept without feeding (fasting), (ii) fed with commercial feed (control), and (iii) received feed supplemented with leaf aqueous extract of *S. marginata* (5000 mg kg⁻¹) (treatment). The extract (5.5 g) was incorporated in fish feed (1 kg) after dilution in water:ethanol (1:1), with subsequent evaporation of ethanol. The diets were offered twice a day, up to satiety. At the end of the experiment, fish fed with treatment diet had ingested the dosage of 224.3 mg (extract) kg⁻¹ (fish) day⁻¹, defined based on evidence of protective activity of ethanolic extract of this plant on mice (Périco et al. 2015). The fish tolerance was daily measured by survival to the feeding protocols. On the 15th day, fish were euthanasiated and sampling was done between 09:30 and 10:30 h. The liver and intestine were removed for the assessment of hepatic and gastroprotective activity of *S. marginata* leaf aqueous extract, in Nile tilapia, with histopathological and enzymatic analyses. The collected organs for assays of enzymatic activity from nine samples per treatment from distinct fish were stored at -70 °C until analysis.

Enzymatic analysis

The alkaline phosphatase activity analysis was performed by colorimetry, and the activity of other enzymes was performed by spectrophotometry. Determination of enzymatic activity was take using semi-automatic spectrophotometer (Bioplus S-200). The specific assay conditions for each enzyme were as follows.

Liver tissue (100 mg of each fish) was homogenized with 20 mM sodium phosphate buffer and 10 mM Tris (glycerol v/v, pH 7.0) in Potter–Elvehjem homogenizer for the analysis of metabolic enzymes alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST). The homogenate was centrifuged first at 600xg at 4 °C for 3 min and then the supernatant was subjected to new centrifugation at 6000xg at 4 °C for 8 min. The supernatant was collected for analysis by spectrophotometry determined at 690 nm (Reitman and Frankel 1957).

Tissue from the anterior portion of the intestine (100 mg of each fish) was used for the activity of digestive enzymes. To determine the pH for the nonspecific proteolytic

and amylohydrolytic optimal activity, pH profile was assayed previously over a wide pH range (2, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11 and 12). The homogenization of the intestine tissue was performed in 20 mM sodium phosphate buffer and 10 mM Tris (glycerol *v/v*, pH 7.0) with a Potter-Elvehjem homogenizer. The homogenate was centrifugated (600xg, 4 °C, 3 min) and the supernatant was subjected to new centrifugation (6000xg, 4 °C, 8 min). The supernatant from the second centrifugation was used as the crude enzyme extract in enzyme activity assays.

Nonspecific proteolytic activity was determined by the casein-hydrolysis method (Walter, 1984). A reaction mixture containing an aliquot crude enzyme source and casein at 0.5% (*w/v*) was incubated for 1 h at 25 °C. The reaction was stopped by addition of 7% trichloroacetic acid (TCA). The mixture was maintained in ice bath for 30 min; the precipitate was removed by centrifugation at 14.400xg for 3 min, and the absorbance of supernatant was measured at 280 nm. Tyrosine solution was used as standard.

Lipase activity determination was adapted from Albro et al. (1985). The reaction mixture containing an aliquot of crude enzyme extract and 0.4 mM *p*-nitrophenyl myristate in 24mM ammonium bicarbonate (pH 7.8) with 0.5% Triton X-100 was incubated for 30 min at 25 °C. The reaction was interrupted by addition of 25 mM NaOH and transferred to ice-bath for 15 min. The optical density was registered at 405 nm.

Amylohydrolytic activity was assayed according to Bernfeld (1955). Briefly, a 1.5% starch solution was prepared for use as substrate. The substrate solution, 0.07M citrate/phosphate buffer and 0.028M Cl⁻ as enzyme co-factor, was added to the aliquot of enzyme extract. The mixture was incubated at 25 °C for 30 min and the reaction stopped by addition of 1.0 mL 5% ZnSO₄: 0.3 N Ba(OH)₂ mixture. The precipitate was removed by centrifugation at 11.000xg for 3 min, and free glucose concentration was determined at 690 nm (Park and Johnson, 1949).

The alkaline phosphatase activity was determined according to the method of Subramanian et al. (2007). The substrate solution was incubated with 100mM NH₄HCO₃ and 1mM MgCl₂, pH 7.8, at 30 °C for 15 min. The 4 mM *p*-nitrophenol phosphate substrate (50 µL) was added, and the absorbance was measured at 405 nm over a 30 min period at 30 °C.

Unit (U) of enzyme activity was defined as millimole (mmol) of product generated per minute under the measurement conditions described above and expressed per milligram soluble protein (specific activity). Protein concentration was determined

according to Bradford (1976) using a Sigma-Aldrich (Química, S.L., Sintra, Portugal) protein assay kit (ref. B6916) with bovine serum albumin as standard.

Histopathological analysis of the liver and intestine

Liver and intestine fragments were immersed in Bouin's solution for 24 h and subsequently washed in 70% alcohol. After fixation, the fragments were dehydrated in graded ethanol solutions (70%, 80%, 90% and 96%), diaphonized, and embedded in paraffin with plastic polymer Histosec® (Merck). Microtomy was performed in order to obtain two slices with 5 µm thickness, which were stained by hematoxylin-eosin (HE) and by histochemical method of periodic acid Schiff hematoxylin (PAS-H) (McManus 1948). The microscopic analysis and documentation of the material were performed using a light microscope (Olympus, BX41). First, qualitative histological analyses were done to observe main treatment effects. Based on those observations, quantitative analyses were defined. For the morphometry of the material, seven slices per treatment were selected and seven sections were photographed. Size of the hepatocytes and height of intestinal folds were measured. Intensity of reaction of the goblet cells in the intestine, indicated by PAS-H dyeing (McManus 1948; Ortiz-Delgado et al. 2003), was classified as strong (+ + +), moderate (++) , weak (+), or absent (-). Intestinal fold height was classified as short (+), moderate (++) , or high (+++) (Hirji and Courtney 1982; Gawlicka et al. 1995; Tengjaroenkul et al. 2000; Moretti et al. 2014).

Statistical procedure

Statistical analyses were performed using RStudio software (version 1.1.423 – © 2009–2018 RStudio, Inc.). Data normality and variance homogeneity of gastroprotective and hepatic parameters were checked by the Shapiro–Wilk test, using Bioestat software (version 5.0). It was performed by an analysis of variance (ANOVA), and when differences were significant ($p < 0.05$), the means were compared by Tukey's test. The results were expressed as means \pm standard deviation (SD).

Results

Chemical composition of *S. marginata* leaf aqueous extract

In chemical characterization of aqueous extract of *S. marginata* performed by mass spectrometry, it was possible to identify substances such as quinic acid, quercitrin, isoquercitrin, and A-type proanthocyanidin trimer (Table 1).

Table 1 Substances identified in *Serjania marginata* leaf aqueous extract.

Data obtained in this study [M-H] ⁻ (m/z)	Fragments identified in this study [M-H] ⁻ (m/z)	Fragments described in the literature consulted (m/z)	Substances proposed	Literature consulted
191	85, 93, 127, 173	[M-H] ⁻ 85, 93, 111, 127, 173	Quinic acid	Bastos et al. 2007
447	151, 179, 301	[M-H] ⁻ 151, 179, 301	Quercitrin	Gutzeit et al. 2007; Simirgiotis et al. 2013
463	151, 179, 257, 301	[M-H] ⁻ 151, 179, 257, 301	Isoquercitrin	Gutzeit et al. 2007; Simirgiotis et al. 2013
863	533, 695, 713	[M-H] ⁺ 533, 695, 713	Proanthocyanidin trimer – A-type	Correia et al. 2005

Effect of *S. marginata* leaf aqueous extract on Nile tilapia liver and intestine enzymatic profile

There was no significant differences in the activities of liver metabolic enzymes, ALT (fasting = 121.9, control = 119.7, and treatment = 124.4 mmol min⁻¹ mg protein⁻¹) and AST (fasting = 112.6, control = 104.0, and treatment = 131.4 mmol min⁻¹ mg protein⁻¹).

Regarding intestine digestive enzymes, it was observed that the activity of nonspecific protease, lipase and amylase did not differ between treatment and control (Table 2). On the other hand, tilapia fed with diet treatment showed an increase in alkaline phosphatase activity (Table 2), revealing responsive to the presence of *S. marginata* leaf aqueous extract.

Table 2 Activity of digestive enzymes nonspecific protease, lipase, amylase and alkaline phosphatase in intestine anterior portion Nile Tilapia, under experimental diets.

Enzymes (mmol min ⁻¹ mg protein ⁻¹)	Diet		
	Fasting	Control	Treatment
Nonspecific protease	0.596 ± 0.040 ^b	0.829 ± 0.164 ^{ab}	0.977 ± 0.110 ^a
Lipase	7.33 ± 1.62 ^b	17.25 ± 4.57 ^{ab}	18.42 ± 3.53 ^a
Amylase	0.08 ± 0.01 ^b	14.74 ± 2.96 ^a	14.03 ± 9.76 ^a
Alkaline phosphatase	538.4 ± 83.1 ^b	715.2 ± 131.3 ^b	1411.2 ± 173.1 ^a

Values are mean ± SD (n=9). Values with different superscript letters on the same line of each parameter are significantly different by Tukey's test ($p < 0.05$)

Fasting without feeding, *control* commercial feed, *treatment* commercial feed with *S. marginata* leaf aqueous extract

Effect of *S. marginata* leaf aqueous extract on Nile tilapia histopathological of the morphology liver and intestine

Fish liver histology subjected to fasting showed reduced hepatocyte size with small lipid vacuoles and smaller sinusoidal space (Fig. 1). Fish fed commercial feed showed vacuolized hepatocytes with nucleus displaced to periphery of the cell and increased sinusoidal space. Hepatocellular necrosis has been evidenced, steatosis with discreet inflammatory reaction and septal fibrosis (Fig. 1). Fish fed diet supplemented with *S. marginata* extract showed hepatocytes with centralized nucleus and cordonal arrangement (Fig. 1).

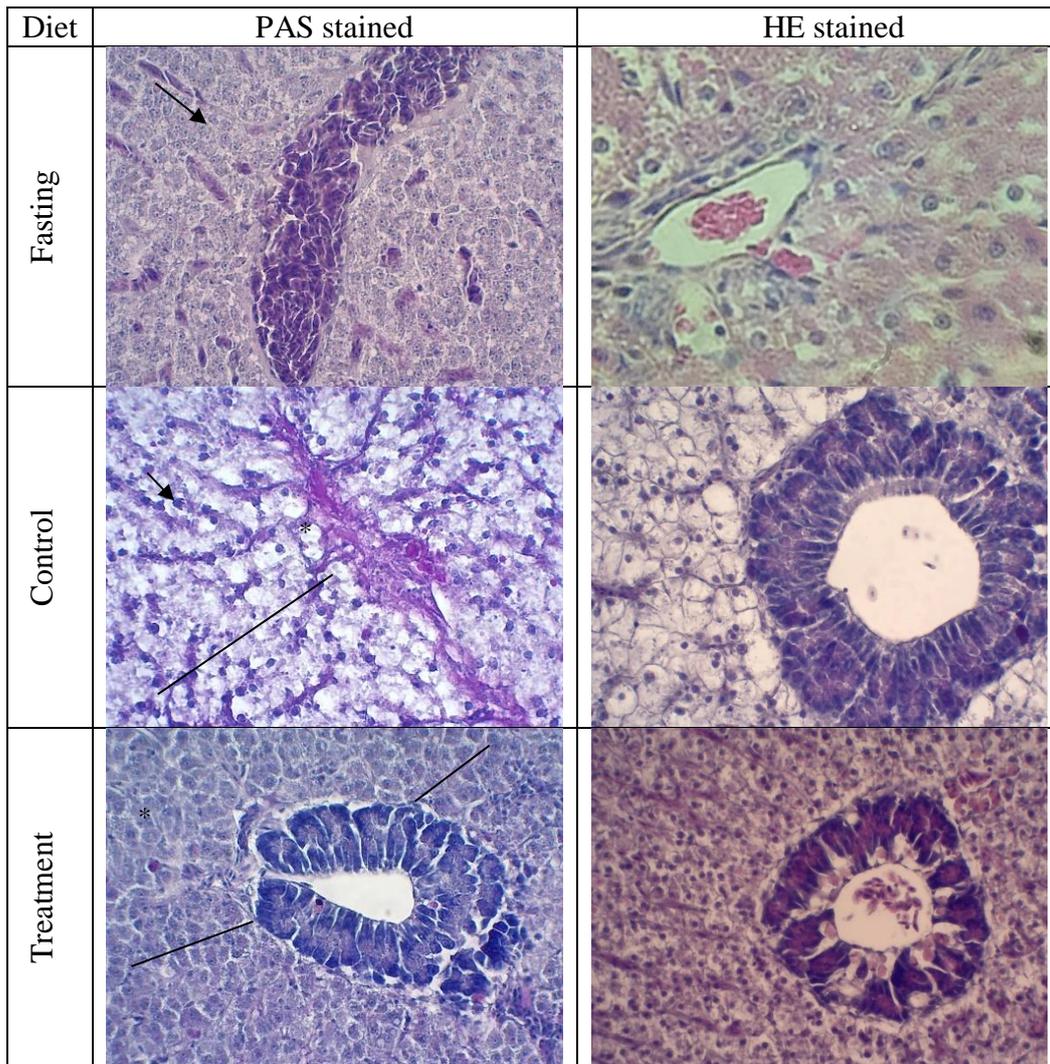


Figure 1 Liver morphology of Nile tilapia subjected to different diets, 400x. Fasting showed reduced cytoplasmic vacuole (arrowhead); Control showed loss of cordonal arrangement of the hepatic cells evidenced (fine trace), nucleus displacement to the periphery of the cell (arrowhead) and vacuolized cells (*); and Treatment showed centralized nucleus (*) and cordonal architecture (fine trace.) Fasting = without feeding, Control = commercial feed, Treatment = commercial feed with *S. marginata* leaf aqueous extract, PAS = periodic acid Schiff hematoxylin, HE = hematoxylin-eosin.

Anterior intestine of Nile tilapia is characterized by four layers: mucosa, submucosa, muscularis and serosa. The mucosa layer is composed of cylindrical epithelium with brush border and enterocytes interspersed by goblet cells, with the lamina propria containing intraepithelial lymphocytes; the submucosa is formed by cells, collagen fibers, and blood vessels; the muscularis layer is composed of circular smooth muscle fibers and externally to the serosa layer, characterized by loose connective tissue (PAS positive) and pavement cells (Fig. 2).

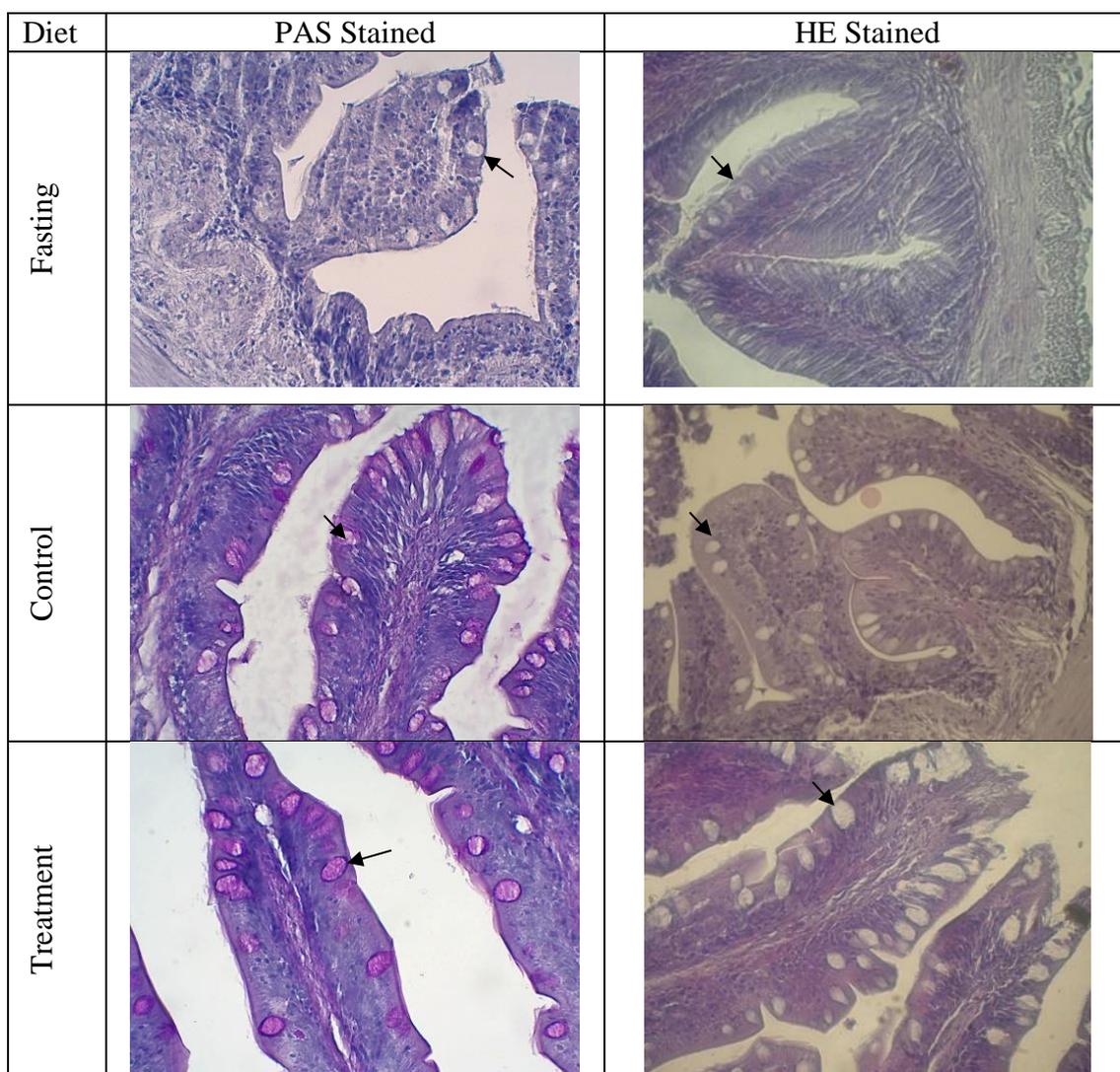


Figure 2 Anterior intestine of Nile tilapia subjected to different diets, 400x. Normal morphology of the anterior portion of intestine. Fish displayed mucosa layer (M) composed of cylindrical epithelium with brush border and enterocytes interspersed by Goblet cells (arrowhead) PAS (positive), with lamina propria (LP) containing intraepithelial lymphocytes. Fasting = without feeding, Control = commercial feed, Treatment = commercial feed with *S. marginata* leaf aqueous extract, PAS = periodic acid Schiff hematoxylin, HE = hematoxylin-eosin.

It was observed that the intestinal fold height, hepatocyte size (Table 3) and variation of intensity of glycoprotein secretion by goblet cells (Table 4) were directly related to the feeding regime. In the intestine of fish fed diets supplemented with *S. marginata*, there was an increase in intestinal fold height and stronger intensity of reaction of goblet cells.

Table 3 Intestinal fold height and hepatocyte area of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) subjected to different diets.

Parameters	Diets		
	Fasting	Control	Treatment
Intestinal fold height (μm)	16.52 (± 5.7) ^c	59.67 (± 7.9) ^b	91.00 (± 12.2) ^a
Hepatocyte area (μm)	146.17 (± 36.93) ^c	287.50 (± 33.47) ^a	210.43 (± 28.69) ^b

Values represent mean \pm SD. Means with different superscripted letters on the same line of each parameter are significantly different by Tukey's test ($p < 0.05$)

Fasting without feeding, *control* commercial feed, *treatment* commercial feed with *S. marginata* leaf aqueous extract.

Table 4 Histochemistry of the goblet cells of the anterior intestine of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) subjected to different diets.

Methods		Diets		
		Fasting	Control	Treatment
HE	N	+	+	++
	A	+	++	-
	C	++	++	+++
PAS	N	+	++	++
	A	-	-	-
	C	-	-	-

Reactions: neutral (N), acid (A) and conjugated (C); and Intensity of reaction: weak (+), moderate (++) , strong (+++), absent (-)

Fasting without feeding, *control* commercial feed, *treatment* commercial feed with *S. marginata* leaf aqueous extract

Discussion

The present study assessed the hepatic and gastroprotective effect of the aqueous extract of *S. marginata* on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), considering the histopathological and biochemical aspects of the liver and intestine and its possible relationship with the identified compounds in the extract, based on studies of the effects reported in the literature. The isoquercitrin, quercitrin, A-type proanthocyanidin trimer and quinic acid are parts of the composition of other plants (Chapman Jr and Horvat 1989; Soares 1997; Roessner et al. 2000; Gutzeit et al. 2007; Santos et al. 2011; Aderogba et al. 2013; Roby et al. 2013; Simirgiotis et al. 2013; Dhonge et al. 2015; Heredia-Vieira et al. 2015; Lucon Júnior 2016; Gopi et al. 2016; Salinas-Sánchez et al. 2017) and have several biological activities (Yokota et al. 2013; Araya et al. 2014; Zhai et al. 2014; Heredia-Vieira et al. 2015; Périco et al. 2015; Salina-Sánchez et al. 2017).

Isoquercitrin was isolated from the pulp of *Hippophaë rhamnoides* L. (Gutzeit et al. 2007), and from methanolic extract 0.1% HCl of leaves and berries of *Luma apiculata* (Simirgiotis et al. 2013). Quercitrin was identified as one of the constituents of *Kalanchoe pinnata* aqueous extract (Lucon Júnior 2016). This compound was also isolated from the methanolic extract fractions of *Euphorbia hirta* (Gopi et al. 2016), extract aerial parts of *Phyllanthus amarus* (Soares 1997), and hydromethanolic (20%) leaf extract of *Croton menyanthii* Pax (Aderogba et al. 2013). The A-type proanthocyanidins trimer was reported as a compound isolated from ethyl acetate extract of *Serjania schiedeana* (Salinas-Sánchez et al. 2017) and of *S. marginata* leaf ethanolic extract (Heredia-Vieira et al. 2015). The quinic acid was detected in aqueous and ethanolic extracts of *Ilex paraguariensis*; and leaf methanolic extract of *Thymus vulgaris* L. (Lamiaceae) and *Salvia officinalis* L. (Lamiaceae) (Roby et al. 2013), methanolic extract of potato tuber (Roessner et al. 2000), and aqueous and methanolic extract of stem bark of *Eucalyptus globulus* Labill. (Santos et al. 2011), among others (Dhondge et al. 2015; Chapman Jr. and Horvat 1989).

The isoquercitrin and quercitrin have not been evaluated as to effect on fish. However, the aglycone of quercitrin, called quercetin, were not toxic to aquatic animals, as observed for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (Plakas et al. 1985); it can be absorbed by tilapia and deposited in the same way (aglycone), and maybe its pharmacological effects are more beneficial (Park et al. 2009). Park et al. (2009) detected the presence of quercetin in tilapia, when fed diets based on cotton seeds, which, however, contain quercetin (0.8%), with the majority in glycosylated form (Dabrowski and Lee 2001; Piccinelli et al. 2007). In addition, hypocholesterolemic and antioxidant effects of quercetin were evidenced, as well as increasing immune function and maintenance of physiological homeostasis of flounder (*Paralichthys olivaceus*) (Shin et al. 2010), and immunostimulant in rainbow trout (Awad et al. 2013). Zhai et al. (2014), studying the effect of quercetin on growth parameters and serum lipid level of tilapia, found that the final mean of body weight, specific growth rate and condition factor were greater in fish that received diet with quercetin, and the crude lipid level in the fish body was reduced by supplementation of quercetin in this study.

The proanthocyanidins from grape seeds (GSPs) may provide beneficial effects on growth and body composition of tilapia fingerlings, under diet of 200 mg kg⁻¹, but the chemical configuration of compounds was not clarified (Zhai et al. 2014). According to

the authors, promoting growth by GSPs may have been a result of increased activity of digestive enzymes and immune and antioxidant capabilities, verified in animals (Zhai et al. 2014). A wide range of biological activities has been reported to the class of the A-type proanthocyanidins (Heredia-Vieira et al. 2015; Périco et al. 2015; Zhai et al. 2014; Yokota et al. 2013; Kresty et al. 2008; Buzzini et al. 2007; Howell 2007; Howell et al. 2005; Cos et al. 2004; Yamakoshi et al. 2002; Foo et al. 2000a, b), encouraging the search for new analogues (Ferreira et al. 2005; Porter 1994). The A-type proanthocyanidins demonstrated anti-inflammatory activity in mice (Salinas-Sánchez et al. 2017), antioxidant (Heredia-Vieira et al. 2015), and gastroprotective (Périco et al. 2015) activities. The activity of A and B-type proanthocyanidins on digestive enzymes of mice was studied by Yokota et al. (2013), who observed that these compounds inhibit pancreatic lipase, showing a specificity of enzymatic inhibition depending on the proportion of bond types A and B, as well as the degree of polymerization. The dimeric forms of proanthocyanidins are found in the bloodstream, and some products of hydrolyte of superior oligomers and polymers are presumably absorbed by the intestinal membrane, and then the absorbed forms can display several physiological and biological functions *in vivo* (Yamakoshi et al. 2002).

The quinic acid was characterized as a pro-metabolite that extends the metabolism of nicotinamide and tryptophan, and also features antioxidant activity in humans (Pero et al. 2009) and inhibition of vascular inflammation (Jang et al. 2017). Arya et al. (2014) found synergistic effects of quercetin and quinic acid, with a significant improvement of hyperglycemia, hyperlipidemia and insulin resistance in diabetic mice and reduced degeneration of the liver, kidney and pancreas at histological level. In a study regarding the effect of methanolic extract from leaves of quince (*Cydonia oblonga* Miller) on catfish (*Clarias gariepinus*), exposed or not to UV-A radiation, Osman et al. (2010) found that quinic acid was responsible for immune system improvement in function of the significant increase in number of white blood cells and lymphocytes, indicating hemotoxic stress prevention in fish exposed to this type of radiation. The leaf ethanolic extract of quince, in the study performed by Abliz et al. (2014), promoted hypolipidemic and hepatoprotective effects in mice, probably due to its antioxidant capacity, lipoprotein metabolism in the liver and inhibition of lipogenesis; however, the authors did not relate with the chemical composition of the extract. On the other hand, the use of quinic acid as active component of the extract C-Med 100 of *Uncaria tomentosa* promoted the same

effect in mice (Akesson et al. 2005) than that observed by Osman et al. (2010) on the white blood cells and lymphocytes of catfish.

The effect of plant extracts on aquatic organisms can vary depending on the dose and composition of the extract, and the organism, besides the exposure time. The dosage of proanthocyanidins, quercitrin, and isoquercitrin used in this study was relatively low, because the crude extract (5000 mg kg^{-1}) was employed, and not an isolated substance. Considering the studies regarding the effect of these compounds on fish, Zhai et al. (2014) tested doses of 0, 200, 400, 600, and 800 mg kg^{-1} of GSPs, stating that the dose of 200 mg kg^{-1} indicated better results in growth and body composition of tilapias. Zhai and Liu (2013) used doses of 0, 200, 400, 800, and 1600 mg kg^{-1} of quercetin, observing that the positive effect on tilapia growth occurred from the dose of 200 mg kg^{-1} , which was also responsible for improvement in the level of high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C). However, in none of these studies, the assessment of the effect of doses of active compounds between 0 and 200 mg kg^{-1} has been included. In addition, the assessment of biological effect caused by the action of a compound is more accurate when it is tested on its pure form because the plant extracts can have complex and synergistic behavior due to the presence of different compounds (Chirumbolo 2010). On the other hand, Arya et al. (2014) evaluated the effect of quercitrin and quinic acid at the dose of 50 and $100 \text{ mg kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$, in the isolated and composed forms, in mice.

The highest level of alkaline phosphatase, greater height of intestinal folds and greater intensity of reaction of goblet cells observed in the present study, in diet with extract of *S. marginata*, indicate greater contribution to the digestive processes and use of digesta (Murashita et al. 2018). The intestinal folds increase the intestinal absorption surface and produce a series of enzymes such as alkaline phosphatase, maltase, sucrose, and dipeptidases (Kuz'mina and Gelman 1997; Rust 2002). Intestinal alkaline phosphatase is involved in the absorption of several nutrients, such as lipids, glucose, calcium, and inorganic phosphate (Malagelada et al. 1977; Roubaty and Portmann 1988; Harris 1989; Dupuis et al. 1991; Mahmood et al. 1994; Tengjaroenkul et al. 2000). This enzyme regulates mainly the absorption of fatty acids and acts as an indicator of the absorption capacity of brush border, and the increase in its activity indicate better absorption of fatty acids by enterocytes, maybe in part due to an increase in the microvilli of enterocytes (Hayes and Volkoff 2014). On the other hand, the presence of goblet cells in fish intestine is related to different feeding conditions, protection against bacterial

activity (Liu et al. 2009; Ellis 2001) and epithelial defense (laminar flow) against food from the stomach, rich in digestive enzymes and pH sharply acid (Cardoso et al. 2015). Similar effect was observed in intestinal histology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum), and African catfish (*Clarias gariepinus*) fed diets supplemented with extracts of *Echinacea purpurea*, Aloe vera (*Aloe barbadensis*), and craib (*Bauhinia strychnifolia*), respectively (Rahman et al. 2018; Heidarieh et al. 2013; Munglue and Dasri 2015).

Despite reports of the ictiotoxic effects of plants belonging to the same group (Teixeira et al. 1984), the toxicity was not observed in the present study with use of the aqueous extract of *S. marginata*, since the mortality of treated fish was null; and levels of AST and ALT enzymes did not differ between treatment and control in gastroprotective activity assay. The content of liver enzymes (AST and ALT) would indicate damage in hepatocytes, since these enzymes are located in this region of the cell, and its rise is associated with acute hepatic lesions. Changes in the content of these enzymes are signs of hepatic injury suffered by animals exposed to toxic substances (Mirmazloomi, Shahsavani and Baghshani 2015), inadequate nutritional balance of the diet, such as protein excess (Abdel-Tawwab et al. 2010), effect of antinutritional factors (Soltan et al. 2008), or type of nutrient source (Ayisi et al. 2018; Ebrahimi et al. 2017), demonstrating enzymatic secretion stimulation and liver overloading. The content of liver enzymes observed in the present study is probably due to the absence or presence in low concentration of ictiotoxic compounds, such as those isolated from *S. lethalis*, called “serjanosides” A and B (Teixeira et al. 1984).

The liver histopathological analysis confirms the modulatory action of hepatic structure in relation to the food supplied with leaf aqueous extract of *S. marginata*. The difference observed in the level of hepatocytes vacuolation between control and treatment indicates that the extract of *S. marginata* possibly showed a modulator effect of lipid metabolism. Hepatocyte vacuolation is generally considered as a temporary storage of lipids, particularly when the level of absorption exceeds the capacity of lipoprotein synthesis (Castro et al. 2016; Figueiredo-Silva et al. 2005). The benefit of the use of plant extracts for liver protection was reported in several studies (Hamed and El-Sayed 2018; Du et al. 2018; Hassaan et al. 2018; Gbadamosi et al. 2016; Gabriel et al. 2015; Verma and Nath 2015; Shivashri, Rajarajeshwari and Rajasekar, 2013). The liver assimilates and stores nutrients; produces bile; keeps body homeostasis by processing of carbohydrates,

proteins, lipids, and vitamins; plays key role in the synthesis of plasma proteins (Genten et al. 2009); and is a central organ in the accumulation and detoxification of contaminants (Al-Yousuf et al. 2000; Köhler 1991). The morphological adaptations in the liver demonstrate the proper functioning of the organ and may reflect the performance of hepatopancreas functionality (Fuentes-Quesada et al. 2018).

The results obtained indicate that the addition of *S. marginata* leaf aqueous extract in the diet of Nile tilapia helps in digestive function by improving the histopathological aspect of the liver and intestine, and stimulation of intestinal alkaline phosphatase production. It is suggested that the extract shows gastroprotective effect, and this can possibly be attributed to the action, isolated or synergistically, of the identified compounds, by antioxidant activities, lipogenesis inhibition, and increase of enzymatic activity. The continuity of studies involving the exposure of fish to different doses of extract and trial duration, in experiments with diverse purposes such as microbiological challenge, hepatotoxicity, performance, and digestibility, should assist in knowledge of the benefits provided by leaf aqueous extract of *S. marginata* and its possible use in aquaculture.

References

- Abdel-Tawwab M, Ahmad MH, Khattab YAE, Shalaby AME (2010) Effect of dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture* 298 267–274. doi:10.1016/j.aquaculture.2009.10.027
- Abliz A, Aji Q, Abdusalam E, Sun X, Abdurahman A, Zhou W, Moore N, Umar A (2014) Effect of *Cydonia oblonga* Mill. leaf extract on serum lipids and liver function in a rat model of hyperlipidaemia. *J Ethnopharmacol* 151(2) 970–974. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2013.12.010>
- Aderogba MA, Ndhkala AR, Rengasamy KRR, Van Staden J (2013). Antimicrobial and selected in vitro enzyme inhibitory effects of leaf extracts, flavonols and indole alkaloids isolated from *Croton menyharthii*. *Molecules* 18 12633–44. doi:10.3390/molecules181012633
- Akesson C, Lindgren H, Pero RW, Leanderson T, Ivars F (2005) Quinic acid is a biologically active component of the *Uncaria tomentosa* extract C-Med 100. *Int Immunopharmacol* 5 219–229. DOI: 10.1016/j.intimp.2004.09.028
- Albro PW, Hall RD, Corbett JT, Schroeder J (1985). Activation of non-specific lipase (EC 3.1.1.) by bile salts. *Biochem Biophys Acta* 835, 477–490. [https://doi.org/10.1016/0005-2760\(85\)90117-1](https://doi.org/10.1016/0005-2760(85)90117-1)

- Al-Yousuf MH, El-Shahawi MS, Al-Ghais SM (2000) Trace metals in liver, skin and muscle of *Lethrinus lentjan* fish species in relation to body length and sex. *Sci Total Environ* 256 87–94. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(99\)00363-0](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(99)00363-0)
- Andrade JN, Costa Neto EM, Brandã, H (2015) Using ichthyotoxic plants as bioinsecticide: a literature review. *Rev Bras Pl Med Campinas* 17 (4) 649–656. http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/13_105
- Aragão JA, Valle JR (1973) Ictiotoxicidade de timbós dos gêneros *Serjania*, *Derris* e *Tephrosia*. *Cienc Cult* 25 649.
- Arruda APCCBN, Coelho RG, Honda NK, Ferrazoli C, Pott A, Hiruma-Loma CAJ (2009) Gastroprotective effect of *Serjania erecta* Radlk (Sapindaceae): involvement of sensory neurons, endogenous nonprotein sulfhydryls, and nitric oxide. *Med Food* 12 1411–1415. DOI: 10.1089=jmf.2008.0269
- Arya A, Al-Obaidi MMJ, Shahid N, Noordin MIB, Looi CY, Wong WF, Khaing SL, Mustafa MR (2014) Synergistic effect of quercetin and quinic acid by alleviating structural degeneration in the liver, kidney and pancreas tissues of STZ-induced diabetic rats: a mechanistic study. *Food Chem Toxicol* 71 183–196. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2014.06.010>
- Azaza MS, Mensi F, Kammoun W, Abdelouaheb A, Brini B, Kraiem MM (2009). Nutritional evaluation of waste date fruit as partial substitute for soybean meal in practical diets of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquac Nutr* 15 262–272. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2008.00591.x>.
- Ayisi CL, Zhao J, Wu J-W (2018) Replacement of fish oil with palm oil: effects on growth performance, innate immune response, antioxidant capacity and disease resistance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *PLoS One* 13(4) e0196100. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196100>
- Awad E, Austin D, Lyndon AR (2013). Effect of black cumin seed oil (*Nigella sativa*) and nettle extract (quercetin) on enhancement of immunity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture* 388–391 193–197. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.01.008>
- Awad E, Awaad A (2017) Role of medicinal plants on growth performance and immune status in fish, *Fish and Shellfish Immunology*. *Fish Shellfish Immunol* 67 40–54. doi: 10.1016/j.fsi.2017.05.034
- Bastos DHM, Saldanha LA, Catharino RR, Sawaya ACHF, Cunha IBS, Carvalho PO, Eberlin MN (2007) Phenolic antioxidants identified by ESI-MS from yerba maté (*Ilex paraguariensis*) and green tea (*Camelia sinensis*) extracts. *Molecules* 12 423–432. doi:10.3390/12030423.
- Bernfeld P (1955) Amylase α and β In: Colowick SP, Kaplan N (Eds). *Methods in Enzymology*. New York: Academic Press., 1955.
- Bradford MM (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72:248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

- Buzzini P, Turchetti B, Ieri F, Goretti M, Branda E, Mulinacci N, Romani A (2007) Catechins and proanthocyanidins: naturally occurring O-heterocycles with antimicrobial activity. In: Khan MTH (Ed.) Topics in Heterocyclic Chemistry, Springer-Verlag: Berlin: Heidelberg. https://doi.org/10.1007/7081_2007_065
- Cardoso NDN, Firmiano EMDS, Gomes ID, Nascimento AAD, Sales A, Araújo FG (2015). Histochemical and immunohistochemical study on endocrine cells (5HT, GAS and SST) of the gastrointestinal tract of a teleost, the characin *Astyanax bimaculatus*. Acta Histochem 117 595–604. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2015.05.007>
- Cardoso CAL, Coelho RG, Honda NK, Pott A, Pavan FR, Leite CQF (2013) Phenolic compounds and antioxidant, antimicrobial and antimycobacterial activities of *Serjania erecta* Radlk. (Sapindaceae). Braz J Pharm Sci 49, 775–782. <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-82502013000400017>
- Castro C, Couto A, Pérez-Jiménez A, Serra CR, Díaz-Rosales P., Fernandes R, Corraze G, Panserat S, Oliva-Teles A (2016) Effects of fish oil replacement by vegetable oil blend on digestive enzymes and tissue histomorphology of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. Fish Physiol Biochem 42 203–217. DOI 10.1007/s10695-015-0130-1
- Chapman Jr, GW, Horvat RJ (1989) Determination of nonvolatile acids and sugars from fruits and sweet potato extracts by capillary GLC and GLC/MS. J Agric Food Chem 37 947–950. DOI: 10.1021/jf00088a026
- Chirumbolo S (2010) The role of quercetin, flavonols and flavones in modulating inflammatory cell function. Inflamm Allergy Drug Targets 9(3) 263-285. DOI: 10.2174/187152810793358741
- Cordeiro EA e Valle JR (1975) Ictiotoxicidade comparada da rotenona e do serjanosídeo. Ciência e Cultura (São Paulo) 27 561.
- Correia H, González-Paramás A, Amaral MT, Santos-Buelga C, Batista MT (2005) Characterisation of polyphenols by HPLC-PADESI/MS and antioxidant activity in *Equisetum telmateia*. Phytochem Anal 16 380–387.
- Cos P, Bruyne Tde, Hermans N, Apers S, Van den Berghe D, Vlietinck AJ (2004) Proanthocyanidins in health care: current and new trends. Curr Med Chem 11 1345-59. DOI : 10.2174/0929867043365288
- David JP, Meira M, David JM, Brandão HN, Branco A, Agra MF, Barbosa MRV, Queiroz LP, Giulietti AM (2007) Radical scavenging, antioxidant and cytotoxic activity of Brazilian Caatinga plants. Fitoterapia 78 215–218. doi:10.1016/j.fitote.2006.11.015
- Dhondge SS, Shende PH, Paliwal LJ, Deshmukh DW (2015) Volumetric and acoustic study of aqueous binary mixtures of quinine hydrochloride, guanidine hydrochloride and quinic acid at different temperatures. J Chem Thermodyn 81 34–43. <https://doi.org/10.1016/j.jct.2014.09.011>
- Dabrowski K, Lee K-J (2001) Quercetin—a new phytochemical in fish diets formulations. Paper presented at the International Triennial Conference & Exposition of Aquaculture, Disney’s Coronado Springs Resort, Lake Buena Vista, Florida, 21–25 January 2001.

- Du J, Jia R, Cao L-P, Ding W, Xu P, Yin G (2018) Effects of *Rhizoma alismatis* extract on biochemical indices and adipose gene expression in oleic acid-induced hepatocyte injury in Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Fish Physiol Biochem* 44 747–768. DOI 10.1007/s10695-017-0428-2
- Dupuis Y, Tardivel S, Poremska Z, Fournier P (1991) Effect of some alkaline phosphatase inhibitors on intestinal calcium transfer. *Int J BioChemPhysics* 23 175–180. [https://doi.org/10.1016/0020-711X\(91\)90186-Q](https://doi.org/10.1016/0020-711X(91)90186-Q)
- Ebrahimi M, Daeman NH, Chong CM, Karami A, Kumar V, Hoseinifar SH, Romano N (2017) Comparing the effects of different dietary organic acids on the growth, intestinal short-chain fatty acids, and liver histopathology of red hybrid tilapia (*Oreochromis* sp.) and potential use of these as preservatives. *Fish Physiol Biochem* 43 1195–1207. DOI 10.1007/s10695-017-0365-0
- Ellis AE (2001) Innate host defense mechanisms of fish against viruses and bacteria. *Dev Comp Immunol* 25 827–839. [https://doi.org/10.1016/S0145-305X\(01\)00038-6](https://doi.org/10.1016/S0145-305X(01)00038-6)
- Emre Y, Sevgili H, Sanli M (2008) A preliminary study on the utilization of hazelnut meal as a substitute for fish meal in diets of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquac Res* 39, 324–328. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01881.x>
- Evans JJ, Pasnik DJ, Peres H, Lim C, Klesius PH (2005) No apparent differences in intestinal histology of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fed heat-treated and non-heat-treated raw soybean meal. *Aquac Nutr* 11 123-129. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2004.00329.x>
- FAO (2018) Impacts of climate change on fisheries and aquaculture: synthesis of current knowledge, adaptation and mitigation options. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper 627. Retrieved 04 november 2018, from www.fao.org/3/I9705EN/i9705en.pdf
- Ferreira D, Slade D, Marais JPJ (2005) Flavans and Proanthocyanidins. In: Andersen M, Markham KR (Eds.) *Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications*. CRC Press, Taylor & Francis Group: Boca Raton, FL. Chapter 11, p 553.
- Figueiredo-Silva A, Rocha E, Dias J, Silva P, Rema P, Gomes E, Valente LMP (2005) Partial replacement of fish oil by soybean oil on lipid distribution and liver histology in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. *Aquac Nutr* 11 147–155. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2004.00337.x>
- Foo LY, Lu Y, Howell AB, Vorsa N (2000a) The structure of cranberry proanthocyanidins which inhibit adherence of uropathogenic P-fimbriated *Escherichia coli* in vitro. *Phytochemistry* 54(2) 173-81. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(99\)00573-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(99)00573-7)
- Foo LY, Lu Y, Howell AB, Vorsa N (2000b) A-type proanthocyanidin trimers from cranberry that inhibit adherence of uropathogenic P-fimbriated *Escherichia coli*. *J Nat Prod* 63 1225-28. DOI: 10.1021/np000128u

- Fuentes-Quesada JP, Viana MT, Rombenso AN, Guerrero-Rentería Y, Nomura-Solís M, Gomez-Called, V, Lazo JP, Mata-Sotrese JA (2018) Enteritis induction by soybean meal in *Totoaba macdonaldi* diets: effects on growth performance, digestive capacity, immune response and distal intestine integrity. *Aquaculture* 495 78–89. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.05.025>
- Gabriel NN, Qiang J, Ma XY, He J, Xu P, Liu K (2015) Dietary Aloe vera improves plasma lipid profile, antioxidant, and hepatoprotective enzyme activities in GIFT-tilapia (*Oreochromis niloticus*) after *Streptococcus iniae* challenge. *Fish Physiol Biochem* 41 1321–1332. DOI 10.1007/s10695-015-0088-z
- Gawlicka A, Teh S, Hung SSO, Hinton E, de Li, Noüe, J (1995) Histological and histochemical changes in the digestive tract of white sturgeon larvae during ontogeny. *Fish Physiol Biochem* 14 357–371. doi: 10.1007/BF00003374
- Gbadamosi OK, Fasakin AE, Adebayo OT (2016) Hepatoprotective and stress - reducing effects of dietary *Moringa oleifera* extract against *Aeromonas hydrophila* infections and transportation-induced stress in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus 1757) fingerlings. *Int J Environ Agric Res* 2(7). Retrieved 22 october 2018, from <http://www.lrrd.org/lrrd29/2/ejay29023.html>
- Genten F, Terwinghe E, Danguy A (2009) Digestive system. In: Genten F., Terwinghe E., Danguy E. (Eds). *Atlas of fish histology*. Science Publishers, Enfield, NH.
- Gomig F, Pietrovski EF, Guedes A, Dalmarco EM, Calderari MT, Guimarães CL, Pinheiro RM, Cabrini DA, Otuki MFJ (2008) Topical anti-inflammatory activity of *Serjania erecta* Radlk (Sapindaceae) extracts. *Ethnopharmacol* 118 220–224. DOI: 10.1016/j.jep.2008.03.017
- Gopi K, Anbarasu K, Renu K, Jayanthi S, Vishwanath BS, Jayaraman G (2016) Quercetin-3-O-rhamnoside from *Euphorbia hirta* against snake venom induced toxicity. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1860(7) 1528-40. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2016.03.031>
- Gutzeit D, Wray V, Winterhalter P, Jerz G (2007) Preparative isolation and purification of flavonoids and protocatechuic acid from sea buckthorn juice concentrate (*Hippophae rhamnoides*) by high-speed counter-current chromatography. *Chromatographia* 65(1-2) 1-7. DOI: 10.1365/s10337-006-0105-6
- Hamed H, El-Sayed YS (2018) Antioxidant activities of *Moringa oleifera* leaf extract against pendimethalin-induced oxidative stress and genotoxicity in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Fish Physiol Biochem* 1-12. <https://doi.org/10.1007/s10695-018-0535-8>
- Harris H (1989) The human alkaline phosphatases: what we know and what we don't know. *Clin Chim Acta* 186 133–150. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(90\)90031-M](https://doi.org/10.1016/0009-8981(90)90031-M)
- Hassaan MS, Mahmoud SA, Jarmolowicz S, El-Haroun ER, Mohammady EY, Davies SJ (2018) Effects of dietary baker's yeast extract on the growth, blood indices and histology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fingerlings. *Aquac Nutr* 1–9. DOI: 10.1111/anu.12805ro

- Hayes J, Volkoff H (2014) Characterization of the endocrine, digestive and morphological adjustments of the intestine in response to food deprivation and torpor in cunner, *Tautoglabrus adspersus*. *Comp Biochem Physiol* 170 46–59. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpa.2014.01.014>
- Heidarieh M, Mirvaghefi AR, Sepahi A, Sheikhzadeh N, Shahbazfar AA, Akbari M (2013) Effects of dietary Aloe Vera on growth performance, skin and gastrointestinal morphology in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Turk. J Fish Aquat Sci* 13 367–373. https://doi.org/10.4194/1303-2712-v13_2_20
- Heredia-Vieira SC, Simonet AM, Vilegas W, Macías FA (2015) Unusual C,O-fused glycosylapigenins from *Serjania marginata* leaves. *J Nat Prod* 78 77–84. <https://doi.org/10.1021/np500715x>
- Hirji KN, Courtney WAM (1982) Leucine aminopeptidase activity in the digestive tract of perch, *Perca fluviatilis* L. *J Fish Biol* 21 615–622. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1982.tb02865.x>
- Howell AB, Reed JD, Krueger CG, Winterbottom R, Cunningham DG, Leahy M (2005) A-type cranberry proanthocyanidins and uropathogenic bacterial anti-adhesion activity. *Phytochemistry* 66 2281-91. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.05.022>
- Howell AB (2007) Bioactive compounds in cranberries and their role in prevention of urinary tract infections. *Mol Nutr Food Res* 51 732-37. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200700038>
- Jang S-A, Park DW, Kwon JE, Song HS, Park B, Jeon H, Sohn E-H, Koo HJ, Kang SC (2017) Quinic acid inhibits vascular inflammation in TNF- α -stimulated vascular smooth muscle cells. *Biomed Pharmacother* 96 563–571. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.021>
- Karapanagiotidis I.T., Psafakis P., Mente E., Malandrakis E., Golomazou E. (2018) Effect of fishmeal replacement by poultry by-product meal on growth performance, proximate composition, digestive enzyme activity, haematological parameters and gene expression of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquac Nutr* 1–12. DOI: 10.1111/anu.12824, 25
- Köhler A (1991) Lysosomal perturbations in fish liver as indicator for toxic effects of environmental pollution. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C. Comparative Pharmacology* 100 123-127. [https://doi.org/10.1016/0742-8413\(91\)90137-I](https://doi.org/10.1016/0742-8413(91)90137-I)
- Kresty LA, Howell AB, Baird M (2008) Cranberry Proanthocyanidins induce apoptosis and inhibit acid-induced proliferation of human esophageal adenocarcinoma cells. *J Agric Food Chem* 56 676-80. DOI: 10.1021/jf071997t
- Kuz'mina VV e Gelman AG (1997) Membrane-linked digestion in fish. *Rev Fish Sci* 5 99-129. <https://doi.org/10.1080/10641269709388595>
- Lima MRF, Luna JS, Santos AF, Andrade MCC, Sant'Ana AEG, Genet JP, Marquez B, Neuville L, Moreau NJ (2006) Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. *Ethnopharmacol* 105 137–147. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.10.026>

- Liquori GE, Mastrodonato M, Zizza S, Ferri D (2007) Glycoconjugate histochemistry of the digestive tract of *Triturus carnifex* (Amphibia, Caudata). *J Mol Histol* 38 191–199. DOI:10.1007/s10735-007-9087-4
- Liu WQ, Zhang J, Liu YS (2009). Research progress in immunity of animal alimentary canal mucosa. *Acta Agriculturae Jiangxi* 21, 155–157. Retrieved 21 october 2018, from en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-JXNY200907051.htm
- Lundstedt LM (2003) Aspectos adaptativos dos processos digestivo e metabólico de juvenis de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) arraçoados com diferentes níveis de proteína e energia. Tese (Doutorado em Genética e Evolução), Universidade Federal de São Carlos.
- Lucon Júnior JF (2016) Estudo da atividade inibitória de extratos vegetais, flavonoides e derivados do ácido cafeico sobre a enzima arginase de *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. Tese (Doutorado), Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo.
- Mahmood A, Yamagishi F, Eliakim R, De Schryver-Kecskemeti K, Gramlich TL, Alpers DH (1994) A possible role for rat intestinal surfactant-like particles in transepithelial triacylglycerol transport. *J Clin Invest* 93 70–80. 10.1172/JCI116986
- Malagelada JR, Linscheer WG, Fishman WH (1977) The effect of fatty acid perfusion on intestinal alkaline phosphatase: II. Studies on the rat. *Am J Digest Dis* 22 516–523. <https://doi.org/10.1007/BF01072504>
- Manaf SR, Hassan MD, Noordin MM, Razak AA, Hayati, RH, Faten AMN, Hamid NH, Geetha MK, Rashidah AR (2017) The effects of dietary supplementation of methanolic extracts of herbal medicine on haematological variable of Red Hybrid Tilapia (*Oreochromis* sp.). *Proceedings of the International Seminar on Livestock Production and Veterinary Technology August 31 Indonesia* 540-548. DOI: <http://dx.doi.org/10.14334/Proc.Intsem.LPVT-2016-p.540-548>
- Mandal S, Ghosh K (2010a) Accumulation of tannin in different tissues of Indian major carps and exotic carps. *Aquac Res* 41 945–948. doi:10.1111/j.1365-2109.2009.02371.x
- Mandal S, Ghosh K (2010b) Inhibitory effect of *Pistia* tannin on digestive enzymes of Indian major carps: an in vitro study. *Fish Physiol Biochem* 36 1171–1180. DOI 10.1007/s10695-010-9395-6
- McManus JFA (1948) Histological and histochemical uses of periodic acid. *StainTechnology* 23,99. <https://doi.org/10.3109/10520294809106232>
- Mirmazloomi S, Shahsavani D, Baghshani H (2015) Studies on the protective effects of ascorbic acid and thiamine on lead-induced lipid and protein oxidation as well as enzymatic alterations in some tissues of *Cyprinus carpio*. *Comp Clin Pathol* 24 1231–1236. DOI 10.1007/s00580-015-2065-4
- Moreira RPM, Batista CS, Guarim Neto G (2013) “Check list” de angiospermas da vegetação marginal da estrada Santo Antônio de Leverger – Mimoso, Pantanal de Mato Grosso. *Flovet* 5, 1–21. Retrieved 21 october 2018, from <http://periodicoscientificos.ufmt.br/ojs/index.php/flovet/article/view/1524>

- Moreira SS, Tamashiro LK, Jorge BC, Balin OS, Heredia-Vieira SC, Almeida GL, Cardoso CAL, Kassuya CAL, Arena AC (2018) Toxicological safety evaluation in acute and 28-day studies of aqueous extract from *Serjania marginata* Casar. (Sapindaceae) leaves in rats. *J Ethnopharmacol*. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.11.024>
- Moretti DB, Nordi WM, Cruz TM, Cyrino JE, Machado-Neto R (2014) Histochemical distribution of intestinal enzymes of juvenile pacu (*Piaractus mesopotamicus*) fed lyophilized bovine colostrum. *Fish Physiol Biochem* 40(5) 1487-93. doi: 10.1007/s10695-014-9942-7.
- Munglue P, Dasri K (2015) Effects of *Bauhinia strychnifolia* Craib leaf extract on growth parameters and intestinal morphology of catfish (*Clarias gariepinus*). *Proceeding B. Sakon Nakhon Rajabhat Univ. Int. Conf*, 2015. Retrieved 20 october 2018, from science.snruic.snru.ac.th
- Murashita K, Matsunari H, Furuita H, Rønnestad I, Oku H, Yamamoto T (2018). Effects of dietary soybean meal on the digestive physiology of red seabream *Pagrus major*. *Aquaculture* 493 219–228. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.05.005>
- OECD/FAO (2017), OECD-FAO Agricultural Outlook 2017-2026, OECD Publishing, Paris. Retrieved 28 july 2018, from http://dx.doi.org/10.1787/agr_outlook-2017-en
- Ortiz-Delgado JB, Darias MJ, Cañavate JP, Yúfera M, Sarasquete C (2003) Organogenesis of the digestive tract in the white seabream, *Diplodus sargus*. *Histological and histochemical approaches*. *Histol Histopathol* 18 1141-1154. Retrieved 04 november 2018, from <http://www.hh.um.es>
- Osman AGM, Koutb M, Sayed AE-DH (2010) Use of hematological parameters to assess the efficiency of quince (*Cydonia oblonga* Miller) leaf extract in alleviation of the effect of ultraviolet – A radiation on African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *J Photochem Photobiol B Biol* 99 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2010.01.002>
- Park, JT, Johnson MJ (1949). A submicro determination of glucose. *J Biol Chem* 181: 149-151. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15390401>
- Park K, de Oca G, Bonello P, Lee KJ, Dabrowski K (2009) Determination of quercetin concentrations in fish tissues after feeding quercetin-containing diets. *Aquacult Int* 17 537-544. <https://doi.org/10.1007/s10499-008-9222-6>
- Périco LLA, Heredia-Vieira SC, Beserra FP, Dos Santos RC, Weiss MB, Resende FA, Ramos MAS, Bonifácio BV, Bauab TM, Varanda EA, Gobbi JIF, Rocha LRM, Vilegas W, Hiruma-Lima CA (2015) Does the gastro protective action of a medicinal plant ensure healing effects? An integrative study of the biological effects of *Serjania marginata* Casar (Sapindaceae) in rats. *J Ethnopharmacol* 172 22 312-324. doi: 10.1016/j.jep.2015.06.025.
- Pero RW, Lund H, Leanderson T (2009) Antioxidant metabolism induced by quinic acid. Increased urinary excretion of tryptophan and nicotinamide. *Phytother Res* 23 335–346. DOI: 10.1002/ptr.2628
- Petrere Jr. M (1989) River fisheries in Brazil: a review. *Regul Rivers Res Manag* 4, 1-16. <https://doi.org/10.1002/rrr.3450040102>

- Piccinelli AL, Veneziano A, Passi S, Simone FDe, Rastrelli L (2007) Flavonol glycosides from whole cottonseed by-product. *Food Chem* 100 344–349. doi:10.1016/j.foodchem.2005.09.053
- Plakas SM, LEL T-C, Wolke RE (1985) Absence of overt toxicity from feeding the flavonol, quercetin, to rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Food Chem Toxicol* 23(12) 1077-1080. [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(85\)90055-9](https://doi.org/10.1016/0278-6915(85)90055-9)
- Porter LJ (1994) Flavans and Proanthocyanidins. In: Harborne, J.B. (Ed.). *The flavonoids: advances in research since 1986*. Chapman & Hall/CRC Press: London. Chapter 2, p 23.
- Quesada SP, Paschoal JAR, Reyes FGR (2013) Considerations on the aquaculture development and on the use of veterinary drugs: special issue for fluoroquinolones—a review. *J Food Sci* 78, 1321–1333. doi: 10.1111/1750-3841.12222
- Reitman S, Frankel S (1957) A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am J Clin Pathol* 28: 56-63. <https://doi.org/10.1093/ajcp/28.1.56>
- Reverter M, Bontemps N, Lecchini D, Banaigs B, Sasal P (2014) Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: Current status and future perspectives. *Aquaculture* 433 50–61. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.05.048>
- Rhaman ANA, Khalil AA, Abdalah HM, ElHady M (2018) The effects of the dietary supplementation of *Echinacea purpurea* extract and/or vitamin C on the intestinal histomorphology, phagocytic activity, and gene expression of the Nile tilapia. *Fish Shellfish Immunol* 82 312–318. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.08.024>
- Roby MHH, Sarhan MA, Selim KA-H, Khalel KI (2013) Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Ind Crop Prod* 43 827– 831. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.08.029>
- Roessner U, Wagner C, Kopta J, Trethewey RN, Willmitzer L (2000) Simultaneous analysis of metabolites in potato tuber by gas chromatography-mass spectrometry. *Plant J* 23(1) 131-142. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.2000.00774.x>
- Romarheim OH, Zhang C, Penn M, Liu Y-J, Tian L-X, Skrede A, Krogdahl A, Storebakken T (2008) Growth and intestinal morphology in cobia (*Rachycentron canadum*) fed extruded diets with two types of soybean meal partly replacing fish meal. *Aquac Nutr* 14 2 174-180. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2007.00517.x
- Roubaty C, Portmann P (1988) Relation between intestinal alkaline phosphatase activity and brush border membrane transport of inorganic phosphate, D-glucose, and D-glucose-6-phosphate. *Pfluegers Arch* 412 482–490. <https://doi.org/10.1007/BF00582536>
- Rust MB (2002) Nutritional physiology. In: Halver, J.E., Hardy, R. (Eds.), *Fish nutrition*. Third (pp. 367–452). San Diego: Academic Press, An imprint of Elsevier Science. Retrieved 14 september 2018, from: www.agrifs.ir/sites/default/files/Fish%20Nutrition.pdf
- Salinas-Sánchez DO, Jiménez-Ferrer E, Sánchez-Sánchez V, Zamilpa A, González-Cortazar M, Tortoriello J, Herrera-Ruiz M (2017) Anti-inflammatory activity of a

polymeric proanthocyanidin from *Serjania schiedeana*. *Molecules* 22 863. DOI: 10.3390/molecules22060863

Santos SAO, Freire CSR, Domingues MRM, Silvestre AJD, Pascoal Neto C (2011) Characterization of phenolic components in polar extracts of *Eucalyptus globulus* Labill. bark by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *J Agric Food Chem* 59 9386–393. [dx.doi.org/10.1021/jf201801q](https://doi.org/10.1021/jf201801q)

Shin HS, Yoo JH, Min TS, Lee K-Y, Choi CY (2010) The effects of quercetin on physiological characteristics and oxidative stress resistance in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Asian-Aust J Anim Sci* 23(5) 588-597. DOI: <https://doi.org/10.5713/ajas.2010.90624>

Shivashri C, Rajarajeshwari T, Rajasekar P (2013) Hepatoprotective action of celery (*Apium graveolens*) leaves in acetaminophen-fed freshwater fish (*Pangasius sutchi*). *Fish Physiol Biochem* 39:1057–1069. DOI 10.1007/s10695-012-9762-6

Silva JLV, Carvalho VS, Silva FL, Barbosa-Filho JM, Rigoni VLS, Nouailhetas VLA (2012) Gastrointestinal property of *Serjania caracasana* (Jacq.) Willd. (Sapindaceae) on rats. *Pharmacologyonline*, 1, 22–26. Retrieved 04 september 2018, from http://pharmacologyonline.silae.it/front/specialissues_2012_1

Silva FL, Silva JLVda, Silva JM, Marcolin LSA, Nouailhetas VLA, Yoshida M, Vendramini PH, Eberlin MN, Barbosa-Filho JM, Moreno PRH (2017) Antispasmodic activity from *Serjania caracasana* fractions and their safety. *Rev Bras Farmacogn* 27 346–352. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjph.2016.12.002>

Simirgiotis MJ, Bórquez J, Schmeda-Hirschmann G (2013) Antioxidant capacity, polyphenolic content and tandem HPLC-DAD-ESI/MS profiling of phenolic compounds from the South American berries *Luma apiculata* and *L. chequén*. *Food Chem* 139 (1-4) 289-99. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.01.089

Soares LAL (1997) Padronização do extrato aquoso e desenvolvimento de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* L. - Euphorbiaceae (quebra-pedra). Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Soltan MA, Hanaf MA, Wafa MIA (2008) Effect of replacing fish meal by a mixture of different plant protein sources in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) diets. *Glob Vet* 2(4) 157-164. Retrieved 17 october 2018, from <https://www.researchgate.net/publication/242486604>

Souza VC, Lorenzi H (2013) Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III. Instituto Plantarum: Nova Odessa, 454–459.

Stratev D, Zhelyazkov G, Noundou XS, Krause RWM (2018) Beneficial effects of medicinal plants in fish diseases. *Aquacult Int* 26 289–308. <https://doi.org/10.1007/s10499-017-0219-x>

Teixeira JRM, Lapa AJ, Souccar C, Valle JR (1984) Timbós: ichthyotoxic plants used by brazilian Indians. *J Ethnopharmacol* 10 311-318. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(84\)90018-7](https://doi.org/10.1016/0378-8741(84)90018-7)

Tengjaroenkul B, Smith BJ, Caceci T, Smith SA (2000) Distribution of intestinal enzymes activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture* 182 3 317– 327. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00270-7](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00270-7)

Verma P, Nath A (2015) Modulatory role of *Withenia somnifera* root extract mixed pelleted feed on pesticide induced hepatic anomalies' in fresh water catfish *Clarias batrachus* (Linn.). *IJPSR* 6(10) 4243-4251. DOI: 10.13040/IJPSR.0975-8232.6(10).4243-51

Walter HE (1984) Proteinases: methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrates. In: Bergmeyer, H.U. (Ed.), *Methods of Enzymatic Analysis*, Verlag Chemie, Weinheim, 5: 270-277

Zhai S-W, Liu S-L (2013) Effects of dietary quercetin on growth performance, serum lipids level and body composition of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Ital J Anim Sci* 12(4) e85. DOI: 10.4081/ijas.2013.e85

Zhai S-W, Lu J-J, Chen X-H (2014) Effects of dietary grape seed proanthocyanidins on growth performance, some serum biochemical parameters and body composition of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Ital J Anim Sci* 13:3357 336-540. <https://doi.org/10.4081/ijas.2014.3357>

Yamakoshi J, Saito M, Kataoka S, Kikuchi M (2002) Safety evaluation of proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. *Food Chem Toxicol* 40 599-607. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(02\)00006-6](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(02)00006-6)

Yokota K, Kimura H, Ogawa S, Akihiro T (2013) Analysis of A-type and B-type highly polymeric proanthocyanidins and their biological activities as nutraceuticals. *J Chem Article ID 352042* 7 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/352042>

Yuan X-Y, Jiang G-Z, Wang C-C, Abasubong KP, Zou Q, Zhou, Y-Y, Liu W-B (2018) Effects of partial replacement of fish meal by yeast hydrolysate on antioxidant capability, intestinal morphology, and inflammation-related gene expression of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Fish Physiol Biochem* 1-11. <https://doi.org/10.1007/s10695-018-0552-7>

5. CAPÍTULO - IMPACTO AMBIENTAL E DESEMPENHO PRODUTIVO NO CULTIVO DE TILÁPIA-DO-NILO COM USO DA CAMA-DE-FRANGO

Impacto ambiental e desempenho produtivo no cultivo da tilápia-do-Nilo com uso da cama-de-frango

Environmental impact and performance of tilapia farming with use of chicken manure

Resumo

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da fertilização com cama-de-frango na acumulação de elementos traço (água, sedimento e filé do peixe) e desempenho (ganho de peso e conversão alimentar) na criação da tilápia-do-Nilo. Foram determinados os teores de elementos traço, nitrogênio e fósforo totais na água (viveiros e fonte de abastecimento), cama-de-frango, ração e filé de peixe, nos períodos inicial e final do ciclo produtivo. Quinze peixes por viveiro foram coletados mensalmente para avaliação da conversão alimentar, ganho em peso e produção em filé. Detectou-se a presença de níquel na composição da cama-de-frango. O teor de fósforo na água dos viveiros de cultivo foi influenciado pela adubação, quantidade de ração ofertada, conversão alimentar, teor de fósforo na ração e a fase de desenvolvimento do animal. Houve interação do período do ciclo produtivo com o teor de elementos químicos da água (Zn, Cd, Pb, Cr, Cu e Fe, N e P), do sedimento (Fe, Cu, Zn, Pb e Cr) e do filé de peixe (Cu, Ni, Pb e Cr). Com base nos padrões de referência legais, constatou-se que os teores de Cu, Fe, Ni e P na água dos viveiros ficaram fora do padrão exigido pela Resolução 357/2005 do CONAMA, entretanto os teores de Ni e P apresentaram-se mais elevados na água de abastecimento dos viveiros. Apesar disso, a quantidade de fósforo descartada por tonelada de peixe produzida ficou abaixo do valor médio citado em outros estudos. Os resultados indicam que a adubação com cama-de-frango não influenciou no desempenho da tilápia; e o seu uso pode levar à contaminação do ambiente aquático. A qualidade da água de abastecimento dos viveiros constituiu um fator relevante no aspecto ambiental, evidenciando a influência de fatores externos.

Palavras-chave: fertilização, fósforo, elementos traço, nitrogênio.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effects of the fertilization with chicken manure on heavy metals accumulation (i.e. water, sediment and fish fillet) and performance (i.e. weight gain and feed conversion rate) in Nile tilapia farming. The content of trace metals, total nitrogen and phosphorus in the water (nurseries and source of supply), chicken manure, fish feed and fish fillet were determined in the initial and end of the productive cycle. Fifteen fish per pond were collected monthly to evaluate the feed conversion, weight gain and fillet production. Nickel (Ni) were detected in chicken manure

composition. The content of phosphorus in the water in fish ponds was influenced by fertilization, amount of feed offered, feed conversion, phosphorus feed content and the animal development stage. There was interaction of productive cycle period with content of water chemical elements (Zn, Cd, Pb, Cr, Cu and Fe, N and P), sediment (Fe, Cu, Zn, Pb and Cr) and fish fillet (Cu, Ni, Pb and Cr). Based on legal limits, it was observed that Cu, Fe, Ni and P contents in water tanks were not within the required by Resolution 357/2005 of the CONAMA; however, Ni and P contents were higher in the water's supply of fish ponds. Despite this, the amount of phosphorus discarded per tonne produced fish was below the mean value reported in other studies. The results indicate that fertilization with chicken manure did not influence on tilapia performance; and its use may lead to contamination of the aquatic environment. The quality of the water supply of ponds was an important factor in the environmental aspect, highlighting the influence of external factors.

Keywords: fertilization, phosphorus, trace metals, nitrogen.

1 INTRODUÇÃO

A tilápia é a quarta espécie mais produzida mundialmente entre os peixes ducícolas cultivados, apresentando quantidade de criação com crescimento contínuo nos últimos anos (FAO, 2018). Na produção mundial da espécie, o Brasil ocupa a quarta posição, sendo 99% do volume produzido consumido pelo mercado interno (OECD-FAO, 2017). Assim como em outros países em desenvolvimento, no Brasil, é comum entre os produtores de peixes a fertilização orgânica e/ou inorgânica de tanques escavados em sistemas extensivo e semi-intensivo (Abdel-Wahed et al., 2017; Narimbi et al., 2018; Oo et al., 2015; Purcher et al., 2016; Silva et al., 2015).

A fertilização é utilizada como forma de promoção do desenvolvimento de organismos aquáticos (Narimbi, Mazumder, & Sammut, 2018), os quais complementam a dieta dos peixes cultivados (El-Sayed, 2013; Knud-Hansen, Battersson, & McNabb, 1993; Pereira & Silva, 2012). O manejo com matéria orgânica, como a cama-de-frango, também apresenta outras vantagens, como o auxílio na impermeabilização do fundo na fase inicial da criação, reduzindo a perda de água por infiltração; baixo custo no fornecimento de micro e macronutrientes; pronta disponibilidade do adubo; e uma alternativa para descarte de resíduos (Kubitza, 2000).

Por outro lado, o uso de fertilizantes apresenta riscos relativos à redução da qualidade da água, em função da possibilidade do acúmulo de matéria orgânica, da menor taxa de oxigênio dissolvido (Kubitza, 2000) e/ou da contaminação com elementos traço (Irshad, Malik, Shauka, Mushtaq, & Ashraf, 2013; Kuziemska, Jaremko, & Wieremiej, 2016). Devido à grande variabilidade de fontes e teores de nutrientes na matéria-prima, a

composição química dos fertilizantes orgânicos é incerta e a presença de elementos traço é uma preocupação ambiental (Cajamarca et al., 2019).

No Brasil ainda não há uma norma técnica específica que estabeleça os níveis aceitáveis de elementos traço na cama-de-frango, sendo incluída apenas a aceitabilidade ou não da presença desses elementos pela Instrução Normativa 25/2009 (Brasil, 2009b). De acordo com esta normativa, os fertilizantes orgânicos destinados à agricultura devem ser classificados de acordo com as matérias-primas utilizadas na sua produção, sendo que os elementos traço tóxicos não devem estar presentes nos da Classe "A", mas são aceitos nos de Classe "B". Entretanto, o seu uso na piscicultura não tem levado em consideração esta classificação, seja por falta de conhecimento técnico ou baixo poder aquisitivo dos comercializadores para realização de análise pertinente.

Os íons metálicos são altamente reativos, bioacumuláveis e absolutamente não degradáveis (Porto & Ethur, 2009). Sua acumulação nos peixes pode ocorrer através da dieta ou da água, podendo chegar a uma concentração de até centenas de vezes maior que aquela presente nos demais compartimentos ambientais, como água e sedimento (Osman, Wuertz, Mekawy, & Kirschbaum, 2007), causando danos também à saúde humana (Khan, Israili, Ahmad, & Mohan, 2005). O impacto negativo na qualidade da água, se instalado, pode ainda ser propagado para habitats próximos provocando efeitos adjacentes (De Moura, Lopes, & Henry-Silva, 2014). A redução da riqueza total na comunidade bentônica, o aumento de organismos tolerantes à poluição e a alteração na estrutura trófica têm sido reportados como impactos decorrentes dos sistemas de produção de peixes (Camargo, 1992; Doughty and McPhail, 1995; Loch et al., 1996; Guilpart et al., 2012; Rosa et al., 2013; Egessa, Pabire, & Ocaya, 2018; Milošević et al., 2018).

O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência da adubação com cama-de-frango na produção da tilápia, considerando os aspectos ambiental (qualidade da água e do sedimento) e produtivo (ganho em peso, conversão alimentar e qualidade do filé do peixe).

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Local, período experimental e manejo da produção

O estudo foi conduzido na região da Grande Dourados, no final da primavera até o início do outono, em viveiros (200 m³) recém escavados, sem aeração e com renovação de água (5% ao dia). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em

esquema fatorial ($n=2$) e com duas repetições (quatro viveiros). Os fatores foram: (i) o tempo, de acordo com o ciclo de produção (início e fim); e (ii) a adubação com cama-de-frango (com ou sem). Os viveiros adubados receberam $0,33 \text{ kg m}^{-2}$ de cama-de-frango, uma semana antes da distribuição dos peixes; e aplicações sucessivas foram realizadas com base na transparência da água (Kubitza, 2008), totalizando ao final do ciclo $0,45 \text{ kg}$ de cama-de-frango por m^3 de água. Os peixes utilizados foram juvenis de tilápia-do-Nilo masculinizados (peso inicial médio de $3,2 \pm 0,2 \text{ g}$), sendo estocados $2,2$ peixes por m^2 . Os peixes foram alimentados com ração comercial extrudada, fornecida quatro vezes por dia em taxa fornecida pelo fabricante. O experimento foi revisado e aprovado pela Comissão de Ética para Uso de Animais (CEUA) da Embrapa Agropecuária Oeste (Protocolo 4/2016), e está de acordo com os preceitos da legislação brasileira.

2.2 Amostragem de água, sedimento e peixes

As coletas foram realizadas mensalmente, para avaliação dos parâmetros produtivos; e em dois períodos do ciclo produtivo (inicial e final), para avaliação do teor de elementos traço, nitrogênio e fósforo. Os períodos inicial e final referem-se à data de distribuição dos peixes e ao sétimo dia anterior à despesca, respectivamente. A amostragem para análise da qualidade da água foi realizada em cinco pontos aleatórios por viveiro, a 2 m da margem; e na entrada da água de abastecimento dos viveiros. O sedimento foi avaliado por uma amostra composta coletada de três pontos aleatórios de cada viveiro, com auxílio de draga de Petersen. Os peixes ($n=15$ por viveiro e por coleta) utilizados para avaliação do desempenho produtivo e contaminação por elementos traço foram coletados com auxílio de uma rede de arrasto, sendo retirados ao acaso.

2.3 Análise dos parâmetros de qualidade da água, sedimento, cama-de-frango e filé de tilápia

Os parâmetros físicos e químicos da água dos viveiros foram aferidos mensalmente ($n=6$). O pH, temperatura, oxigênio dissolvido, turbidez, condutividade elétrica, dureza e alcalinidade foram aferidos com auxílio de uma sonda multiparamétrica (Horiba, U-52, Kyoto, Japan), oxímetro (YSI, 55/12 FT, Ohio, EUA); a transparência da água com um disco de Secchi; e os teores de nitrito (mg L^{-1}) e amônia (mg L^{-1}) analisados por teste colorimétrico (Alfakit, Trindade, Florianópolis, SC, Brasil). O oxigênio dissolvido nos viveiros experimentais foi de $6,0 \pm 1,5 \text{ mg L}^{-1}$; temperatura

20,0 ± 1,2 °C; pH 7,0 ± 0,4; condutividade elétrica 0,07 ± 0,01 μS cm⁻¹; turbidez 12,7 ± 9,8 NTU; transparência 46,8±10,6 cm; dureza, alcalinidade, nitrato e amônia foi de 29,6 ± 5,2 CaCO₃; 32,1 ± 6,1 mg L⁻¹ CaCO₃, 0,81 ± 1,0 mg L⁻¹ NO₃ e 0,73 ± 0,78 mg L⁻¹ NH₃OH, respectivamente.

As análises do teor de elementos traço, nitrogênio (N) e fósforo (P) totais foram realizadas apenas no primeiro e último mês do ciclo produtivo. As amostras de água foram digeridas em digestor assistido por Micro-ondas (Matthews, Mars 6 230/60, NC, USA), na presença de persulfato de potássio (K₂S₂O₈) para a determinação do nitrogênio e fósforo totais (adaptado de APHA, 1998; Gross & Boyd, 1998). O nitrogênio foi determinado pelo método de Griess, em espectrofotômetro molecular a 543 nm acoplado a um sistema FIA (FIALab, FIALyzer – 1000, Seattle, USA) (Griess, 1879; Shinn, 1941); e o fósforo pelo método do molibdato de amônio, em espectrofotômetro molecular (Micronal, B342II, São Paulo, SP, Brasil) a 885 nm (Wetzel & Likens, 2000). As rações foram analisadas com relação ao teor de P, de acordo com os procedimentos da AOAC (2012).

Os elementos traço zinco (Zn), cádmio (Cd), chumbo (Pb), cromo (Cr), cobre (Cu), níquel (Ni) e ferro (Fe) foram quantificados nos seguintes materiais: água (Ferreira, Horta, Da Cunha 2010), cama de frango, solo, ração (Betemps & Sanches-Filho, 2012) e peixe (Eneji, Sha'Ato, & Annune, 2011). A determinação dos elementos ocorreu por digestão nitro-perclórica e espectrometria de absorção atômica (Perkin Helmer) (Welz & Sperling, 1999).

2.4 Desempenho produtivo

Foram analisados 15 peixes por viveiro, em cada coleta a campo para a avaliação das variáveis de ganho em peso (GP) e conversão alimentar (CA), calculadas conforme Glencross, Rutherford & Jones (2011) e Jobling (2001), respectivamente, como segue: GP= peso médio final (g) - peso médio inicial (g) e CA = consumo da dieta (g)/ ganho em peso (g).

2.6 Análise estatística

A normalidade e homogeneidade da variância dos dados foi verificada pelos testes de D'Agostino Pearson (n>50) e Shapiro-Wilk (n<50), em programa Bioestat (versão 5.0). Posteriormente, os parâmetros da água, do sedimento e do filé de peixe foram

analisados pelo teste de Scheirer-Ray-Hare para verificar o efeito da adubação com cama-de-frango (C=com e S=sem) e do período do ciclo produtivo (mês de cultivo, sendo i= inicial e f=final) sobre os elementos. *A posteriori*, quando detectadas diferenças significativas ($p < 0,05$), aplicou-se o teste de Dunn para averiguar a interação e a variabilidade entre e dentre os fatores.

Na avaliação do desempenho produtivo foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis; e a conversão alimentar foi também analisada pelo teste de Scheirer-Ray-Hare por período, sendo: 1=27, 2=59, 3=98, 4=119 e 5=160 dias após a instalação do experimento. As análises dos efeitos foram realizadas em Programa RStudio (versão 1.1.423 – © 2009-2018 RStudio, Inc.).

A partir dos dados das análises de N, P e elementos traço foram calculados a média e o desvio padrão de cada elemento, por matriz, tratamento e período. O resultado obtido foi analisado com base nos padrões de referência para análise de qualidade: i) da água, os critérios recomendados pela resolução 357/05 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) para águas doces Classe II, as quais podem ser destinadas à aquicultura e à atividade de pesca, entre outras atividades (Brasil, 2005); ii) do filé de peixe, o estabelecido pela Portaria ANVISA 685/1998 (Brasil, 1998); e iii) do sedimento, a conformidade de acordo com a Resolução CONAMA 420/2009 (Brasil, 2009a).

Os dados referentes à ração (quantidade ofertada e teor de P) e à fração indisponível de 62,3% (resultado pessoal de outro estudo ainda não publicado), foram utilizados para estimar a quantidade de P não aproveitada no sistema de produção (kg de P indisponível). O índice de ganho em peso (Ganho de peso no período / Ganho de peso total) de cada período do ciclo produtivo, a conversão alimentar, o teor de fósforo da ração e a fração indigestível de P foram utilizados para estimar a quantidade de P descartada para cada tonelada de peixe produzida (P_{desc}), segundo as equações (1 a 4). O resultado foi apresentado de acordo com o tempo do ciclo de produção, após a instalação do experimento (27, 98, 59, 119 e 160 dias).

$$P_{desc} = (I_{GP} * P_{ind})/100 \quad (1)$$

$$I_{GP} = GP_i/GP_T \quad (2)$$

$$P_{ind} = (P_1 * 62,3)/100 \quad (3)$$

$$P_1 = CA * P_r \quad (4)$$

Em que: I_{GP} = índice em ganho de peso (%); P_{ind} = fração de fósforo indigestível (kg); GP_i = ganho em peso (g) no período em análise (i) (Glencross, Rutherford, & Jones, 2007); GP_T = ganho em peso total; P_1 = quantidade de fósforo oferecida na forma de alimento, para produzir uma tonelada de tilápia; CA = conversão alimentar (Jobling, 2001); P_r = teor de fósforo na ração (%).

3. RESULTADOS

3.1 Efeito da adubação dos viveiros com cama-de-frango nas variáveis físicas e químicas

Os elementos Cu, Fe, Zn, N e P foram detectados tanto na ração quanto na cama-de-frango, em diferentes concentrações; enquanto o Ni foi observado apenas na cama-de-frango; e os demais (Cd, Pb e Cr) ficaram abaixo do limite de detecção (Tabela 1). Na água que abastece os viveiros foram detectados todos os elementos (Tabela 1).

TABELA 1 Teor de elementos traço, nitrogênio e fósforo na cama-de-frango, ração e água da nascente.

Elementos	Cama-de-frango	Ração	Água de abastecimento (mg L ⁻¹)
Cu	0,009±0,001 mg kg ⁻¹	13,32±3,37 mg kg ⁻¹	0,015±0,001
Fe	3,98±0,002 mg kg ⁻¹	532,93±73,99 mg kg ⁻¹	0,378±0,005
Zn	1,27±0,01 mg kg ⁻¹	132,29±42,01 mg kg ⁻¹	0,114±0,003
N	2,61±0,040 g kg ⁻¹	32,6±4,1 g kg ⁻¹	0,011±0,030
P	14,95±0,63 g kg ⁻¹	17,33±5,43 g kg ⁻¹	0,034±0,006
Ni	0,12±0,001 mg kg ⁻¹	<LD	0,088±0,001
Cd	<LD	<LD	0,0007±0,0001
Pb	<LD	<LD	0,001±0,0001
Cr	<LD	<LD	0,001±0,0001

Observações

<LD= abaixo do limite de detecção.

Valores representam média ± desvio padrão de cinco repetições.

Na água de criação, observou-se que o teor da maioria dos elementos traço (Pb, Cd, Cr, Cu, Ni, Fe e Zn) foi influenciado apenas pelo período do ciclo produtivo (Figura 1). Pelo teste de Dunn, os teores de Fe (Figura 1, A1), Ni (Figura 1, D1), Zn (Figura 1, E1), Cr (Figura 1, G1), e N (Figura 2B), entre os períodos diferiram para ambos os tratamentos (C e S); enquanto os de Cd e Cu diferiram apenas em viveiros adubados (Figura 1, B1 e C1). Por outro lado, foi observado o efeito da adubação dos viveiros para o teor de fósforo, apenas no período inicial, apresentando maior valor o tratamento com

adubação (Figura 2A). Além disso, o teor de P apresentou interação significativa com o período do ciclo produtivo (Figura 2A).

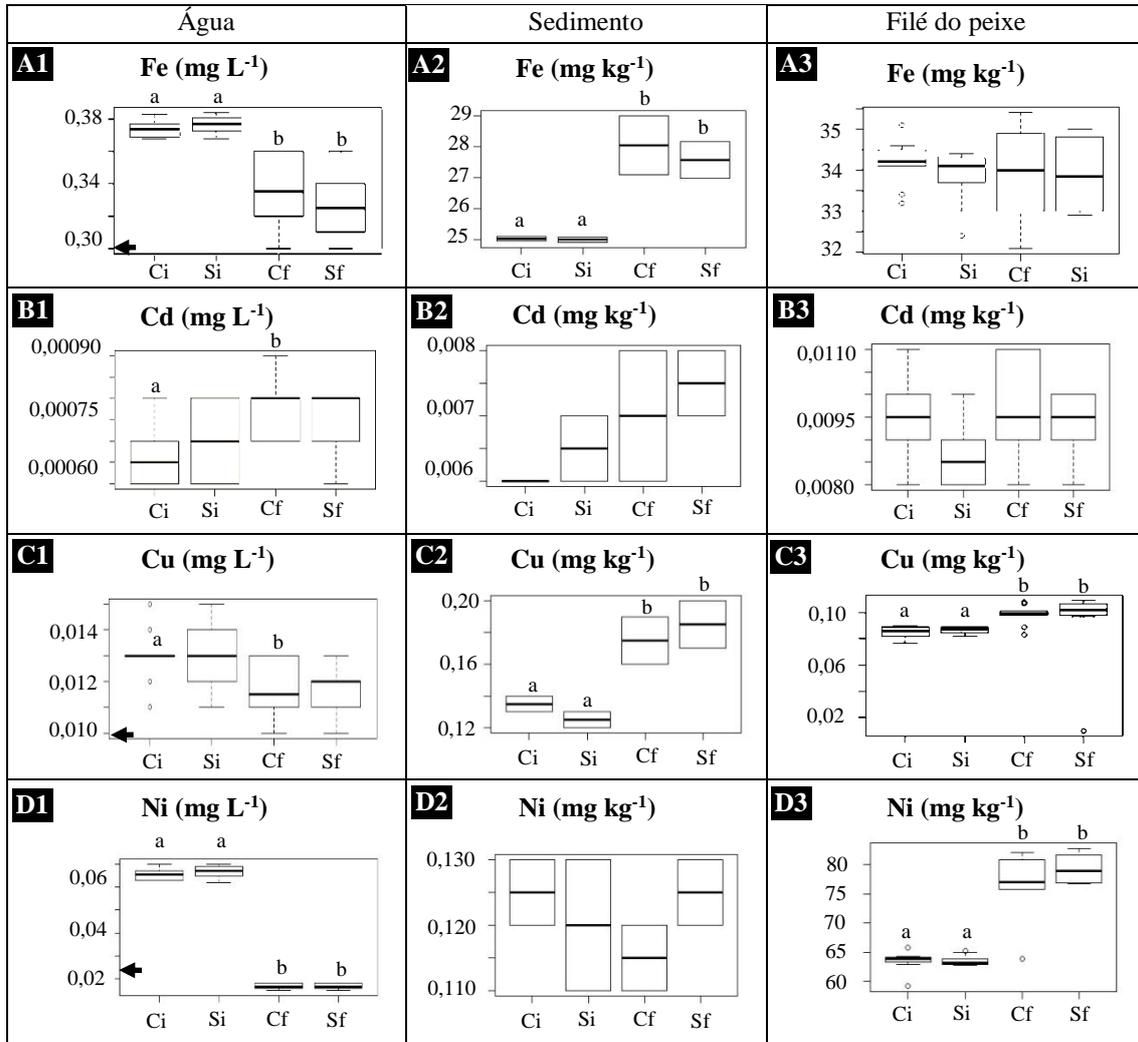


FIGURA 1 Efeito do manejo dos viveiros com cama-de-frango (C=com; S=sem) e período do ciclo produtivo (i=inicial e f=final) no teor dos elementos traço na água (coluna 1), sedimento dos viveiros de cultivo (coluna 2) e filé do peixe (coluna 3) pelo teste de Scheirer-Ray-Hare.

Observação

Seta (◄) = valor máximo permitido pela Resolução CONAMA 357/2005 (Brasil, 2005).

Letras acima do box-plot representam o efeito entre períodos. Valores no mesmo gráfico com diferentes letras diferem pelo teste de Dunn ($p < 0,05$).

(continua...)

(...continuação)

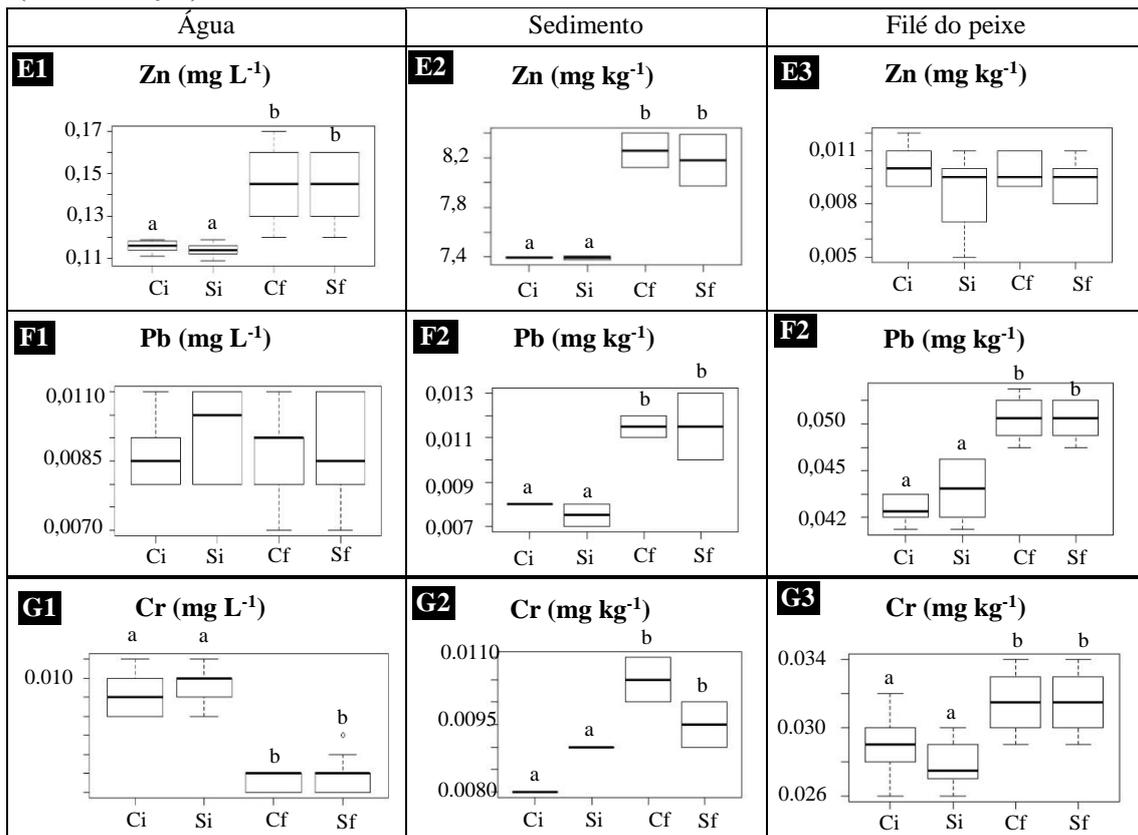


FIGURA 1 Efeito do manejo dos viveiros com cama-de-frango (C=com; S=sem) e período do ciclo produtivo (i=inicial e f=final) no teor dos elementos traço na água (coluna 1), sedimento dos viveiros de cultivo (coluna 2) e filé do peixe (coluna 3) pelo teste de Scheirer-Ray-Hare.

Observação

Seta (◀) = valor máximo permitido pela Resolução CONAMA 357/2005 (Brasil, 2005).

Letras acima do box-plot representam o efeito entre períodos. Valores no mesmo gráfico com diferentes letras diferem pelo teste de Dunn ($p < 0,05$).

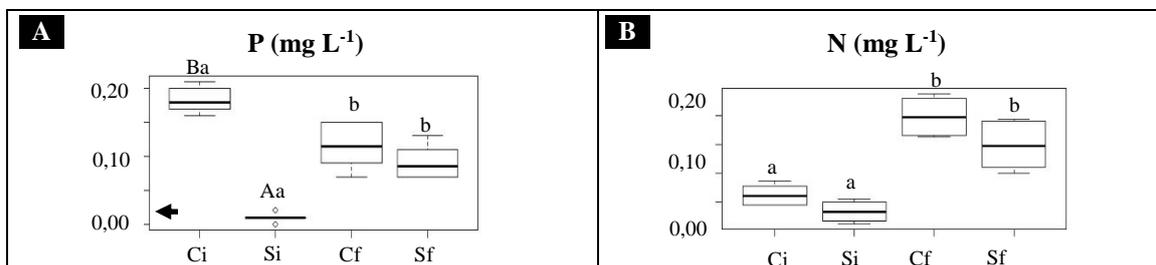


FIGURA 2 Efeito do manejo dos viveiros com cama-de-frango (C=com; S=sem) e período do ciclo produtivo (i=inicial e f=final) no teor de fósforo (A) e nitrogênio (B) na água dos viveiros de cultivo, de acordo com o teste de Scheirer-Ray-Hare.

Observação

Seta (◀) = valor máximo permitido pela Resolução CONAMA 357/2005 (Brasil, 2005).

Letras acima do box-plot representam o efeito entre períodos (letras minúsculas) e adubação com cama-de-frango (letras maiúsculas). Valores no mesmo gráfico com diferentes letras diferem pelo teste de Dunn ($p < 0,05$).

No sedimento e filé da tilápia, observou-se que a adubação não influenciou no teor dos elementos, mas o período do ciclo produtivo foi significativo para Cu (Figura 1, C2 e C3), Pb (Figura 1, F2 e F3) e Cr (Figura 1, G2 e G3), em ambas as matrizes; Ni, no filé (Figura 1, D3); e Fe (Figura 1, A2) e Zn (Figura 1, E2), no sedimento. A interação com o

período do ciclo produtivo, nestes casos, foi positiva tanto para os viveiros com (C) quanto para os sem (S) adubação.

A maioria dos elementos apresentou teor mais elevado no final do ciclo produtivo em viveiros com ou sem o uso da cama-de-frango, como constatou-se para o sedimento (Pb, Fe, Zn, Cu e Cr), água (Zn), e filé (Pb, Ni, Cu e Cr). Apenas na água observou-se maior teor no período inicial, para: Ni, Fe e Cr.

Os valores dos elementos traço no peixe e sedimento observados em ambos os tratamentos estão em conformidade com a legislação. Na água, os teores de Fe (Figura 1, A1), Cu (Figura 1, C1), Ni (Figura 1, D1) e P (Figura 2A) ficaram fora do padrão estabelecido pela Resolução CONAMA 357/2005 (Brasil, 2005), com exceção do Ni no período final do ciclo de produção. Entretanto, os teores desses elementos estavam próximos (Cu e Fe) ou mais elevados (Ni e P) ao valor da água de abastecimento (Tabela 2). O valor máximo admitido pelo CONAMA é de 0,009 de Cu; 0,3 de Fe; 0,02 de P; e 0,025 de Ni, em $\mu\text{g L}^{-1}$.

Analisando a quantidade de ração ofertada, o teor médio de fósforo na ração e a fração de P indisponível (62,3%), verifica-se que a quantidade de fósforo não aproveitada pelos peixes, neste ciclo de produção, foi de 4,7 e 4,3 kg, nos viveiros com e sem adubação, respectivamente. Além disso, a cama-de-frango contribuiu com a entrada de 2,7 kg de fósforo nos viveiros adubados, considerando o teor do elemento na matriz e a quantidade de adubo aplicada. Com base no índice de ganho em peso em cada período do ciclo produtivo, na conversão alimentar, no teor de fósforo da ração e na fração indigestível de P, verifica-se que para cada tonelada de peixe produzida, nessas condições, seriam descartados 9,7 e 10,0 kg de fósforo, nos viveiros com e sem adubação, respectivamente (Tabela 2).

TABELA 2 Teor de fósforo nas rações, quantidades absorvida pela tilápia-do-Nilo e descartada para o ambiente, de acordo com o manejo dos viveiros (com ou sem adubação de cama-de-frango) no decorrer do tempo (27, 59, 98, 119 e 160 dias após a instalação do experimento).

Tempo após a instalação do experimento (dias)	27		59		98		119		160	
	com	sem								
Manejo da adubação com cama-de-frango										
Teor de P nas rações (%)	2,22	2,22	2,50	2,50	1,00	1,00	1,49	1,49	1,69	1,69
Quantidade de P (kg) em 1 ton de ração	22,16	22,16	25,02	25,02	10,01	10,01	14,85	14,85	16,87	16,87
Índice de conversão Alimentar médio (kg ração kg ⁻¹ ganho em peso do peixe)	0,58	0,67	0,86	0,94	1,04	1,06	1,04	1,03	1,40	1,05
Quantidade de P (kg) adicionado na forma de alimento para produção de 1 ton de tilápias	12,85	14,85	19,06	20,83	23,05	23,49	23,05	22,82	23,05	22,82
Descarte de P (kg) por ton de peixe produzida [†]	0,38	0,38	2,52	2,39	1,85	1,71	2,11	2,18	2,83	3,34

Observação. [†] Cálculo com base na conversão alimentar, teor de fósforo na ração (%), quantidade de fósforo oferecida como alimento (kg) para produzir uma tonelada de tilápia, fração indisponível de fósforo de 62,3% (resultado pessoal de outro estudo ainda não publicado) e índice de ganho de peso, em função do tempo decorrido do ciclo de produção (27, 59, 98, 119 e 160 dias) e adubação com cama-de-frango (com ou sem).

3.2 Efeito da adubação dos viveiros com cama-de-frango no desempenho produtivo da tilápia

O desempenho produtivo não diferiu entre os tratamentos no ganho em peso total, consumo de ração total e conversão alimentar (Tabela 3).

TABELA 3 Resultado do teste de Kruskal-Wallis para o ganho de peso total, consumo de ração total e conversão alimentar em tilápias, nos viveiros com e sem adubação.

Tratamento	Ganho em peso total (g)	Consumo de ração total (kg)	Conversão alimentar (kg de peixe kg de ração ⁻¹)
Com adubação	688,5±23,47 ^{ns}	54,74±12,60 ^{ns}	1,00±0,31 ^{ns}
Sem adubação	718,1±1,69 ^{ns}	50,23±15,10 ^{ns}	0,90±0,26 ^{ns}

Observação

^{ns}: efeito não significativo entre os tratamentos.

A conversão alimentar média final foi de 0,98 e 0,95 em viveiros com e sem adubação, respectivamente. No período inicial do ciclo de produção, a conversão alimentar foi melhor, com ou sem o uso da adubação (Figura 3).

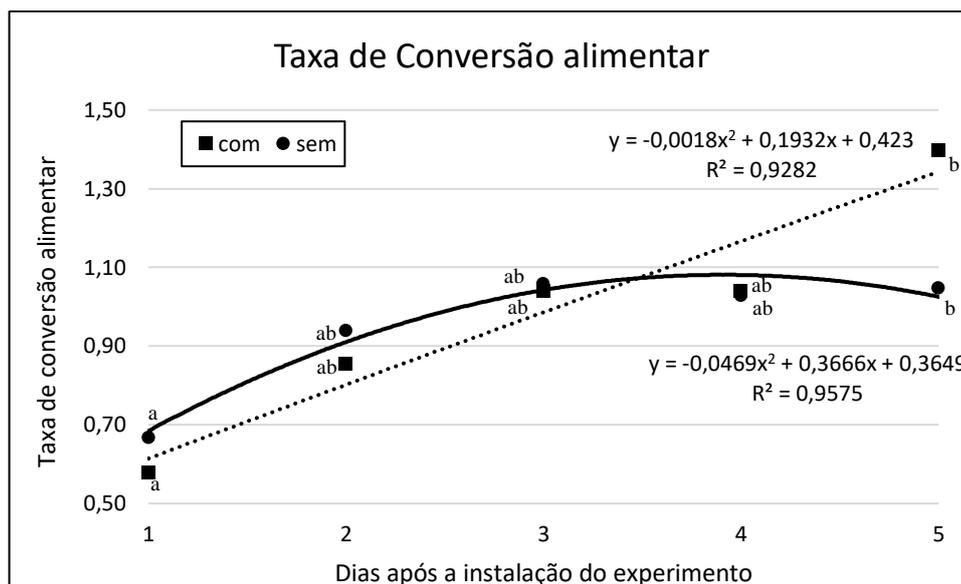


FIGURA 3 Efeito da cama-de-frango (COM e SEM) e do período do ciclo produtivo (dias após a instalação do experimento, sendo 1=27, 2=59, 3=98, 4=119 e 5=160 dias) sobre a conversão alimentar média das tilápias, analisado pelo teste de Scheirer-Ray-Hare.

Observações

Letras ao lado do média representam o efeito entre períodos, sendo que os valores no mesmo gráfico com diferentes letras diferem entre si pelo teste de Dunn *post hoc* ($p < 0.05$).

4 DISCUSSÃO

No presente estudo foi constatado que a adubação e a água de abastecimento dos viveiros foram fontes de contaminação por níquel no sistema de produção aquícola. No Brasil, estudos têm reportado o impacto ambiental decorrente da piscicultura abrangendo a eutrofização (Moura, Valenti, & Henry-Silva, 2016), existindo uma lacuna do conhecimento a respeito dos elementos traço (Oliveira et al., 2015). Em outros países, a contaminação por elementos traço no cultivo de peixes tem sido atribuída ao uso de ração contaminada (Martins, Eding & Verreth, 2011; Kalantzi et al., 2013; Quadir et al., 2017) ou à antropização, especialmente das atividades de mineração, instalações industriais (Meador, Ernest, & Kagley, 2005) e da agricultura (Qiu et al., 2011). Por outro lado, elementos traço foram detectados em alguns estudos com adubos orgânicos derivados da pecuária (Irshaid et al., 2013; Kuziemska et al., 2016; Tan & Yin, 2017). Como a norma técnica brasileira permite a presença de elementos traço na cama-de-frango (Brasil, 2009b), seria relevante também estabelecer níveis aceitáveis de cada elemento em função da finalidade de uso.

O córrego que abastece os viveiros do presente estudo fica a 500 m da área experimental, em área agrícola com domínio de culturas anuais, em Latossolo Vermelho

Escuro (Semade, 2015). O manejo em áreas agrícolas pode levar à contaminação do meio ambiente com elementos traço (Boyd & Massaut, 1999; Nouri et al., 2008; Qiu et al., 2011; Rocha et al., 2018). No monitoramento do córrego “Curral de Arame”, em Dourados (MS), foram relatados elevados níveis de elementos traço no ambiente aquático, provavelmente devido à interferência de agroquímicos (Rocha et al., 2018). Por outro lado, esses elementos podem ocorrer em sistemas aquáticos superficiais e subsuperficiais mesmo que não haja perturbação antrópica (Kabata-Pendias & Pendias, 2001). Entretanto, informações sobre a qualidade do solo e da água de nascentes, córregos e rios na região do presente trabalho são escassas, sendo necessário um estudo mais detalhado para verificar a origem desses elementos na água do córrego deste trabalho.

Os teores de Cu, Fe (em todos os períodos e viveiros analisados) e Ni (apenas no período inicial do ciclo) na água dos viveiros ficaram acima do limite estabelecido pela Resolução do Conama 357/2005 (Brasil, 2005). A sobredose de minerais traço é uma preocupação para as populações de animais aquáticos (Fernandes et al., 2008), e o excesso de certos elementos em tecidos animais também podem representar um risco para a saúde dos seres humanos que consomem carne contaminada (Nguyen et al., 2019). Além disso, cobre e zinco em concentrações ligeiramente acima daquelas usualmente presentes em ambientes naturais (Meylan, Behra, & Siig, 2003; Santos, Melão, & Lombardi, 2008) podem ser tóxicos à biota aquática (Tonietto et al., 2015) e afetar a comunidade local (Milesi et al., 2008; Solomon, 2009; Khounnavongsa & Iwai, 2016; Fu et al., 2016).

A interação positiva observada entre os teores dos elementos químicos do sedimento (Cu, Zn, Pb e Cr) e filé de peixe (Cu, Ni, Pb e Cr) com o período do ciclo produtivo se deve à sua permanência no solo e bioacumulação nos peixes, apresentando maior teor com o decorrer do tempo. Cobre, zinco e ferro são considerados elementos essenciais à nutrição dos peixes; e a sua inclusão na ração comercial pode ser a principal fonte de contaminação no sistema produtivo, visto que apresentam uma tendência de dosagem elevada de minerais (Nguyen et al., 2019). Por outro lado, alguns estudos indicam outras fontes de bioacumulação de elementos traço nos peixes e no sedimento, como o uso de esterco suíno (Nunes et al., 2016) ou água e sedimento contaminados (Qiu et al., 2011).

Apesar dos elementos traço no filé de peixe e sedimento estarem em conformidade com o valor exigido por lei, o aumento do teor de Pb no filé (18,5%) e sedimento (43,7%), no decorrer do tempo, constitui um indício de acumulação do elemento traço nessas

matrizes, o que a longo prazo tende a se agravar, especialmente no solo, considerando que a cada final de ciclo os peixes são despescados do sistema para comercialização. O teor de Pb no sedimento do presente estudo foi similar ao valor (45,2%) encontrado no estudo desenvolvido por Marengoni et al. (2014) no sedimento de viveiros de produção de tilápia e no seu filé. A presença de Pb pode estar relacionada com processos pedogenéticos, mas o crescente aumento de seus teores no solo e sua presença no ambiente tem sido frequentemente atribuída à contaminação antrópica, proveniente de diversos ramos industriais, como o de fertilizantes, pesticidas, combustões de carvão e óleo, fundição, resíduos urbanos e industriais (Munhoz, 2010).

A atividade piscícola, por sua vez, está intimamente relacionada com o teor de P e N, visto que o P é disponível em excesso na ração (31,3%) e apresenta a menor digestibilidade média (51,2%); e o N apresenta índices entre os aminoácidos essenciais longe dos valores recomendados, levando à excreção de aproximadamente metade da proteína digestível na dieta após o metabolismo dos aminoácidos, em rações comercializadas para a tilápia nilótica no Brasil (Montanhini Neto & Ostrensky, 2015).

A respeito da quantidade de fósforo não aproveitada no sistema de produção, constatou-se que a quantidade descartada para o meio ambiente está relacionada com fatores diversos, como a quantidade de ração ofertada, o índice de conversão alimentar, o teor de fósforo na ração, e a fase de desenvolvimento do animal; como observado por Osti, Moraes, Carmo, & Mercante (2017), com tilápia-do-nilo em viveiro escavado. Os autores verificaram que o maior aporte de nitrogênio e fósforo gerado pelo sistema e exportado (via efluente) ocorreu nas fases III (574 a 569 g) e IV (569-663 g), em função das respectivas taxas de conversão alimentar obtidas, quantidade de ração ofertada e pelo metabolismo dos peixes. O maior descarte de fósforo no final do ciclo de produção pode ser observado na análise da qualidade da água dos viveiros, independente da adubação, visto que, o teor desse nutriente na água, estava mais elevado no final do ciclo. Por outro lado, nos viveiros do presente estudo, a porcentagem média de P total descartado foi 87,0% acima do período inicial, o qual foi mais elevado que aquele observado por Osti et al. (2017), provavelmente devido à diferente composição da dieta.

Nos viveiros adubados, apesar da quantidade aplicada da cama-de-frango ter sido realizada como recomendado (Kubitza, 2008), seu uso levou ao maior teor de fósforo na água, sendo por isso observado teor mais elevado de P na água no período inicial de cultivo. Entretanto, a quantidade estimada de fósforo da dieta descartada no presente

estudo foi próxima entre os viveiros com (4,7 kg) e sem (4,3 kg) adubação, correspondendo a 62,3% do total do nutriente oferecido na forma de alimento, valor próximo ao de 55%, observado por Osti et al. (2017) com uso de 0,9% de fósforo na dieta formulada. A quantidade total de fósforo indisponível na ração (9,7 e 10,0 kg nos viveiros com e sem adubação, respectivamente), por tonelada de peixe produzida, ficou abaixo do valor de 14,26 kg estimado por Montanhini & Ostrensky (2015). A digestibilidade de fósforo pode estar relacionada à forma de processamento da ração, quantidade de fósforo disponibilizado na dieta, bem como à qualidade do ingrediente. Montanhini Neto & Ostrensky (2015) relatam que a principal causa dessa menor habilidade da tilápia em absorver fósforo é a inclusão de ingredientes de origem vegetal, na formulação das rações. Entretanto, no caso de excesso de P na dieta, como observado para as rações brasileiras, a fração solúvel excretada é significativamente mais poluidora ao ambiente aquático que a fração indigesta (fitato-ligada) devido à maior solubilidade e dispersão das substâncias de fósforo excretados (Cowey, 1995). Neste caso, além de perdas por indisponibilidade, o excesso de P disponível, em comparação com os níveis recomendados em alimentos de tilápia-do-Nilo, pode agravar o potencial poluente deste nutriente em ambientes aquáticos adjacentes às fazendas (Montanhini Neto & Ostrensky, 2015). Apesar dos tanques apresentarem uma habilidade notável de assimilar o nitrogênio e o fósforo através de processos físicos, químicos e biológicos (Schwartz & Boyd, 1994a), muitas vezes têm concentrações de nutrientes, plâncton e sólidos suspensos maiores do que exigem os corpos aquáticos nos quais são descarregados (Schwartz & Boyd, 1994b), constituindo os efluentes, potenciais fontes de poluição nas águas receptoras (Ottinger et al., 2016). Além disso, um desequilíbrio entre os aminoácidos essenciais digestíveis pode reduzir significativamente o crescimento do peixe, causando redução da produção animal e perdas econômicas que são incompatíveis com a rentabilidade de empreendimentos de aquicultura (Kaushik & Seiliez, 2010).

O maior teor de nitrogênio total na água no final do cultivo, em ambos os tratamentos, ocorre devido ao maior aporte de nitrogênio advindo da ração, da qual o N é excretado (75%), permanecendo deste, 62% na forma dissolvida (amônia) e 13% como sólidos particulados (Hargreaves, 1998). A ração não consumida, assim como a mineralização da matéria orgânica e difusão molecular dos sedimentos também contribuem para o aumento na concentração de nitrogênio na água (Moura et al., 2013), embora a fixação do nitrogênio pelas cianobactérias e a deposição atmosférica sejam

ocasionalmente importantes (Hargreaves, 1998; Boyd & Queriroz, 2001; Rodrigues et al., 2010). Os sumidouros principais para amônia incluem a nitrificação e absorção de fitoplâncton (Hargreaves, 1998), sendo a última relacionada diretamente com a biomassa dos organismos (Esteves & Amado, 2011). Apesar do uso de nutrientes pela comunidade fitoplanctônica, o contínuo aporte de nutrientes no ecossistema pode produzir mais matéria orgânica do que o mesmo é capaz de consumir, provocando profundas mudanças no metabolismo de todo o ecossistema e nas concentrações de oxigênio nas camadas superiores, devido à decomposição bacteriana da matéria orgânica no sedimento (Hutchinson, 1975, Margalef, 1983, Wetzel, 2001).

No aspecto produtivo, a conversão alimentar média obtida no presente estudo dentro do valor considerado aceitável (0,9:1) para a produção de tilápia, em sistema de cultivo com fertilização e alimentação (Bhujel, 2014). A melhor taxa inicial está relacionada com a fase de desenvolvimento do peixe, como verificado também por Osti et al. (2017).

Como em sistema semi-intensivo de produção da tilápia, a ração chega a representar mais da metade do custo efetivo total (El-Sayed, 2013), estudos posteriores são relevantes para que seja avaliada a viabilidade de uma adubação química ou outro tipo de adubo orgânico, concomitante com a redução da taxa de arraçoamento nos viveiros, nos dois primeiros meses de cultivo. A redução do custo de produção, que venha a ser proporcionada pelo melhor aproveitamento da alimentação natural na fase inicial de desenvolvimento da espécie, pode apresentar-se vantajosa no aspecto econômico e/ou produtivo. Outro aspecto a ser considerado é a qualidade da água de abastecimento, a qual pode contribuir com a entrada de nutrientes e/ou contaminantes, devendo ser levada em consideração na avaliação do aspecto ambiental no sistema de produção.

Conclui-se, no presente estudo, que o uso da cama-de-frango pode levar à contaminação do ambiente aquático pela presença de níquel em sua composição e pelo aumento do teor de fósforo na água do viveiro, devendo-se também levar em consideração o aspecto ambiental como forma de avaliar o custo-benefício e a sustentabilidade proporcionados por este tipo de manejo. Apesar disso, a quantidade de fósforo descartado por tonelada de peixe produzida, se encontra abaixo do valor médio citado em outros trabalhos. A cama-de-frango não influenciou no aspecto produtivo de cultivo da tilápia-do-Nilo. Verificou-se que os teores de Cu, Fe, Ni e P ficaram acima do padrão estabelecido com base nos padrões de referência legais para cada matriz.

Deve-se considerar que a qualidade da água de abastecimento dos viveiros constituiu um fator relevante no aspecto ambiental, evidenciando a influência de fatores externos. Com intuito de evitar uma descarga além da capacidade de suporte do meio ambiente é necessário um controle da quantidade de elementos traço nas dietas formuladas para os peixes. Estudos são necessários para avaliar a qualidade da cama-de-frango proveniente de outras fontes de comercialização.

REFERÊNCIAS

Abdel-Wahed, R.K.; Shaker, I.M.; Elnady, M.A.; Soliman, M.A.M. (2017). Impact of fish- farming management on water quality, plankton abundance and growth performance of fish in earthen ponds. *Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries*, 22(1), 49- 63. DOI: 10.21608/ejabf.2018.7705.

AOAC (Association of Official Analytical Chemistry) (2012). *The Official methods of analysis* (19th ed.). Association of Official Agricultural Chemists International, Gaithersburg, MD, USA.

APHA (American Public Health Association) (1998). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (20th ed.). American Public Health Association: Washington, D.C. (Method 4500-N C. Persulfate Method).

Barroso, R.M.; Munoz, A.E.P.; Tahim, E.F.; Tenório, R.A.; Muehlmann, L.D.; Silva, F.M.; Barreto, L.E.G.S.; Hein, G. (2018). *Dimensão socioeconômica da tilapicultura no Brasil*. Brasília, DF: Embrapa.

Betemps, J.R., & Sanches-Filho, P.J. (2012). Estudo sazonal de metais pesados no sedimento do Saco do Laranjal – Pelotas-RS. *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology*, 7 (2), 79-84. [https://doi: 10.5132/jbse.2012.02.012](https://doi.org/10.5132/jbse.2012.02.012).

Boyd, C.E., & Queiroz, J.F. (2001). Nitrogen, phosphorus loads vary by system: USEPA should consider system variables in setting new effluent rules. *Global Aquaculture Advocate*, 4 (6), 84-86. Retrieved from <https://www.researchgate.net/>

Boyd, C.E., & Massaut, L. (1999). Risks associated with the use of chemicals in pond aquaculture. *Aquacultural Engineering*, 20, 113-132. [https://doi: 10.1016/S0144-8609\(99\)00010-2](https://doi.org/10.1016/S0144-8609(99)00010-2).

Bhujel, R.C. (2014). *Manual for Tilapia Business Management*. Oxfordshire, UK: CAB International (CABI).

Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (1998). Aprova o Regulamento Técnico: "Princípios Gerais para o Estabelecimento de Níveis Máximos de Contaminantes Químicos em Alimentos" e seu Anexo: "Limites máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos". (Portaria nº 685, de 27 de agosto de 1998). *Diário Oficial da União*.

Brasil, Conselho Nacional do Meio Ambiente CONAMA (2005). Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. (Resolução n.357, de 18 de março de 2005). *Diário Oficial da União*.

Brasil, Conselho Nacional do Meio Ambiente CONAMA (2009a). Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. (Resolução n.420, de 28 de dezembro de 2009). *Diário Oficial da União*.

Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento/Secretaria de Defesa Agropecuária (MAPA/SDA) (2009b). Aprova as normas sobre as especificações e as garantias, as tolerâncias, o registro, a embalagem e a rotulagem dos fertilizantes orgânicos simples, mistos, compostos, organominerais e biofertilizantes destinados à agricultura, na

forma dos Anexos à presente Instrução Normativa. (Instrução Normativa n.25, de 23 de julho de 2009). *Diário Oficial da União*.

Brasil, Ministério da Pesca e Aquicultura (2013). *Censo Aquícola Nacional, ano 2008*. Brasília: República Federativa do Brasil.

Cajamarca, S.M.N.; Martins, D.; Silva, J.da; Fontenelle, M.R.; Guedes, Í.M.R.; Figueiredo, C.C.de; Lima, C.E.P. (2019). Heterogeneity in the chemical composition of biofertilizers, potential agronomic use, and heavy metal contents of different agro-industrial wastes. *Sustainability*, 11, 1995-2008. doi:10.3390/su11071995.

Camargo, J.A. (1992). Structural and trophic alterations in macrobenthic communities downstream from a fish farm outlet. *Hydrobiologia*, 242, 41-49. <https://doi.org/10.1007/BF00017642>.

CNA (Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil) (2018). Impactos do tabelamento do frete no custo da ração e na aquicultura. Projeto Campo Futuro. Retrieved from <https://www.cnabrazil.org.br/boletins/aquicultura-impactos-do-tabelamento-do-frete-no-custo-da-ra%C3%A7%C3%A3o-e-na-aquicultura>.

Cowey, C.B. (1995). Intermediary metabolism in fish with reference to output of end products of nitrogen and phosphorus. *Water Science & Technology*, 31, 21–28. [https://doi.org/10.1016/0273-1223\(95\)00423-K](https://doi.org/10.1016/0273-1223(95)00423-K).

De Moura, R.S.T., Lopes, Y.V. De A., Henry-Silva, G.G. (2014). Sedimentação de nutrientes e material particulado em reservatório sob influência de atividades de piscicultura no semiárido do Rio Grande do Norte. *Química Nova*, 37 (8), 1283-1288. <https://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20140203>.

Doughty, C.R.; McPhail, C.D. (1995). Monitoring the environmental impacts and consent compliance of freshwater fish farms. *Aquaculture Research*, 26, 557-565. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.1995.tb00946.x>.

Egessa, R., Pabire, G.W.; Ocaya, H. (2018). Benthic macroinvertebrate community structure in Napoleon Gulf, Lake Victoria: effects of cage aquaculture in eutrophic lake. *Environmental Monitoring and Assessment*, 190, 112. <https://doi.org/10.1007/s10661-018-6498-5>.

El-Sayed, A.-F.M. (2013). On-farm feed management practices for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Egypt. In: Hasan, M.R., New, M.B. (Eds.). On-farm feeding and feed management in aquaculture. *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper*, 583, 101–129. Rome: FAO.

Eneji, I.S.; Sha’Ato, R.; Annune, P.A. (2011). Bioaccumulation of Heavy Metals in Fish (*Tilapia Zilli* and *Clarias Gariepinus*) Organs From River Benue, North - Central Nigeria. *Pakistan Journal of Analytical & Environmental Chemistry*, 12.

Esteves, F.A. & Amado, A.M. (2011). Nitrogênio. In ESTEVES, F.A. (Coord.), *Fundamentos de Limnologia* (3rd ed., pp. 239-258). Rio de Janeiro: Interciência.

FAO (2018). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals*. Rome. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. Retrieved from www.fao.org/3/i9540en/i9540en.pdf.

Fernandes, D.; Zanuy, S.; Bebianno, M.J.; Porte, C. (2008). Chemical and biochemical tools to assess pollution exposure in cultured fish. *Environmental Pollution*, 152, 138-146. doi:10.1016/j.envpol.2007.05.012.

- Ferreira, A.P.; Horta, M.A.P.; Da Cunha, C.L.N. (2010). Avaliação das concentrações de metais pesados no sedimento, na água e nos órgãos de *Nycticorax nycticorax* (Garça-da-noite) na Baía de Sepetiba, RJ, Brasil. *Revista da Gestão Costeira Integrada*, 10, 2, 229-241. <https://doi.org/10.5894/rgci186>.
- Fitzsimmons, K. (2000). Future trends of tilapia aquaculture in the Americas. In *Tilapia Aquaculture in the Americas* (2nd ed., pp. 252–264). Baton Rouge, Louisiana, United States: The World Aquaculture Society. Retrieved from <https://www.researchgate.net/>.
- Fu, Z.; Wu, F.; Chen, L.; Xu, B.; Feng, C.; Bai, Y.; Liao, H.; Sun, S.; Giesy, J.P.; Guo, W. (2016). Copper and zinc, but not other priority toxic metals, pose risks to native aquatic species in a large urban lake in Eastern China. *Environmental Pollution*, 219, 1069-1076. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2016.09.007>.
- Glencross, B., Rutherford, N., Jones, B. (2011). Evaluating options for fishmeal replacement in diets for juvenile barramundi (*Lates calcarifer*). *Aquaculture Nutrition*, 17, 722-732. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2010.00834.x>.
- Guilpart, A.; Roussel, J.-M.; Aubin, J.; Caquet, T.; Marle, M.; Bris, H.L. (2012). The use of benthic invertebrate community and water quality analyses to assess ecological consequences of fish farm effluents in rivers. *Ecological Indicators*, 23, 356–365. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolind.2012.04.019>.
- Griess, P.B.D. (1879). Bemerkungen zu der Abhandlung der HH: Weseley und Benedikt “Über eibige Azoverbindungen. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 12, 426-428. <https://doi.org/10.1002/cber.187901201117>.
- Gross, A., & Boyd, C.E. (1998). A digestion procedure for the simultaneous determination of total nitrogen and total phosphorus in pond water. *Journal of the World Aquaculture Society*, 29, 300-303. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1998.tb00650.x>.
- Hargreaves, J.A. (1998). Nitrogen biogeochemistry of aquaculture ponds (Review). *Aquaculture*, Amsterdam, 166, 181-212. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00298-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00298-1).
- Hutchinson, G.E. (1975). *A Treatise on Limnology: Limnological Botany* (3rd ed.). New York: John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.4319/lo.1976.21.6.0929>.
- IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) (2016). *Pesquisa Pecuária Municipal: produção da aquicultura, por tipo de produto*. Rio de Janeiro: IBGE. Retrieved from <https://sidra.ibge.gov.br/tabela>.
- Irshad, M.; Malik, A.H.; Shaukat, S.; Mushtaq, S.; Ashraf, M. (2013). Characterization of heavy metals in livestock manures. *Polish Journal of Environmental Studies*, 2, 4, 1257-1262.
- Jobling, M. (2001). Feed composition and analysis. In Houlihan, D.; Boujard, T.; Jobling, M. (Eds.), *Food intake in fish*. Malden, MA, USA: Blackwell Science. <https://doi.org/10.1002/9780470999516.ch1>.
- Kabata-Pendias, A., & Pendias, H. (2001). *Trace elements in soil and plants* (3rd ed.). CRC Press: Boca Raton.
- Kaushik, S.J., & Seiliez, I. (2010). Protein and amino acid nutrition and metabolism in fish: current knowledge and future needs. *Aquaculture Research*, 41, 322–332. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02174.x>.

- Khan, R.; Israili, S.H.; Ahmad, H.; Mohan, A. (2005). Heavy metal pollution assessment in surface water bodies and its suitability for irrigation around the Neyveli Lignite Mines and Associated Industrial Complex, Tamil Nadu, India. *Mine Water and the Environment*, 24, 155-161. <https://doi.org/10.1007/s10230-005-0087-x>.
- Kalantzi, I.; Shimmiel, T.M.; Pergantis, S.A.; Papageorgiou, N.; Black, K.D.; Karakassis, I. (2013). Heavy metals, trace elements and sediment geochemistry at four Mediterranean fish farms. *Science of the Total Environment*, 444, 128–137. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.11.082>.
- Knud-Hansen, C.F.; Battersson, T.R.; McNabb, C.D. (1993). The role of chicken manure in the production of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture and Fisheries Management*, 24, 483-493. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.1993.tb00623.x>.
- Khounavongsa, N.; Iwai, C.B. (2016). Influence of water hardness on ecotoxicology of copper on aquatic biota: implication for the revision of water quality standardization in Lao PDR. *International Journal of Environmental and Rural Development*, 7(2), 12-17. Retrieved from: http://www.iserd.net/?page_id=975.
- Kubitza, F. (2000). Tilápias: manejo nutricional e alimentar. *Panorama da aquicultura*, 10, 60. Retrieved from www.acquaimagem.com.br/docs/Pan60_Kubitza.pdf.
- Kubitza, F. (2008). Manejo na produção de peixes: a conservação e o uso da água. *Panorama da Aquicultura*, 108. Retrieved from: www.acquaimagem.com.br/docs/Pan108_Kubitza.pdf.
- Kuziemska, B.; Jaremko, D.; Wieremiej, W. (2016). Content of magnesium and heavy metal fractions in selected natural fertilisers. *Journal of Elementology*, 21, 1, 89-97. <https://doi.org/10.5601/jelem.2015.20.2.837>.
- Loch, D.D.; West, J.L.; Perlmutter, D.G. (1996). The effect of trout farm effluent on the taxa richness of benthic macroinvertebrates. *Aquaculture*, 147, 37-55. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(96\)01394-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(96)01394-4).
- Margalef, R. (1983). *Limnologia*. Barcelona: Omega.
- Marengoni, N.G.; Wild, M.B.; Gonçalves Junior, A.C.; Vivian, M.M.P.S.; Moura, M.C.de. (2014). Bioacumulação de metais pesados em tilápia do nilo e retenção no solo e sedimento dos viveiros com adição de probióticos na dieta. *Bioscience Journal*, Uberlandia, 30, 4, 1158-1167.
- Martins, C.I.M.; Eding, E.H.; Verreth, J.A.J. (2011). The effect of recirculating aquaculture systems on the concentrations of heavy metals in culture water and tissues of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Food Chemistry*, 126, 1001–1005. doi:10.1016/j.foodchem.2010.11.108.
- Meador, J.P.; Ernest, D.W.; Kagley, A.N. (2005). A comparison of the non-essential elements cadmium, mercury, and lead found in fish and sediment from Alaska and California. *Science of the Total Environment*, 339, 189–205. doi:10.1016/j.scitotenv.2004.07.028.
- Meylan, S.; Behra, R.; Sigg, L. (2003). Accumulation of copper and zinc in periphyton in response to dynamic variations of metal speciation in freshwater. *Environmental Science & Technology*, 37(22), 5204–5212. Retrieved from: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es034566%2B>.

- Milesi, S.V.; Biasi, C.; Restello, R.M.; Hepp, L.U. (2008). Efeito de metais Cobre (Cu) e Zinco (Zn) sobre a comunidade de macroinvertebrados bentônicos em riachos do sul do Brasil. *Acta Scientiarum Biological Science*, Maringá, 30(3), 283-289. DOI: 10.4025/actascibiolsci.v30i3.677.
- Milošević, D.; Stojanović, K.; Djurdjević, A.; Marković, Z. Piperac, M.S.; Živić, M.; Živić, I. (2018). The response of chironomid alpha taxonomic and functional diversity to fish farm effluent pollution in lotic systems. *Environmental Pollution*, 242(Part B), 1058-1066. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.07.100>.
- Montanhini Neto, R.; Ostrensky, A. (2015). Evaluation of commercial feeds intended for the Brazil production of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): nutritional and environmental implications. *Aquaculture Nutrition*, 21, 311-320. <https://doi.org/10.1111/anu.12154>.
- Moura e Silva, M.S.G.; Losekann, M.E.; Hisano, H. (2013). Aquicultura: manejo e aproveitamento de efluentes. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente. (*Documentos/Embrapa Meio Ambiente*, 95).
- Moura, R.S.T.; Valenti, W.C.; Henry-Silva, G.G. (2016). Sustainability of Nile tilapia net-cage culture in a reservoir in a semi-arid region. *Ecological Indicators*, 66, 574–582. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.01.052>.
- Munhoz, P. M. (2010). *Monitoramento ambiental em região contaminada por chumbo*. (Tese de Doutorado). Retrieved from <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/101274>.
- Narimbi, J., Mazumder, D., & Sammut, J. (2018). Stable isotope analysis to quantify contributions of supplementary feed in Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* (GIFT strain) aquaculture. *Aquaculture Research*, 49(5), 1866–1874. <https://doi.org/10.1111/are.13642>.
- Nguyen, L.; Kubitzka, F.; Salem, S.M.R.; Hanson, T.R.; Davis, D.A. (2019). Comparison of organic and inorganic microminerals in all plant diets for Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 498, 297–304. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.08.034>.
- Nouri, J.; Mahvi, A.H.; Jahed, G.R. (2008). Regional distribution patter of groundwater heavy metals resulting from agricultural activities. *Environmental Geology*, 55, 1337-1343. <https://doi.org/10.1007/s00254-007-1081-3>.
- NRC - National Research Council. (2011). *Nutrient requirements of fish and shrimp*. Washington, DC, USA: The National Academy Press.
- Nunes, G.C.; Jerônimo, G.T.; Vicente, L.R.M.; Madi, R.R.; Valladão, G.M.R.; Martins, M.L. (2016). Trace elements and parasitism in Nile tilapia farmed in the southern Brazil. *Boletim do Instituto de Pesca*, 42(3), 578-589. Doi 10.20950/1678-2305.2016v42n3p578.
- OECD-FAO. (2017). *Globefish highlights: a quarterly update on world seafood markets* (4th ed). Retrieved from www.fao.org/3/a-i8204e.pdf.
- Oliveira, K.F.; Lacerda, L.D.; Peres, T.F.; Bezerra, M.F.; Dias, F.J.S. (2015). Emission factor and balance of mercury in fish farms in an artificial reservoir in NE Brazil. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 22, 18278–18287. DOI 10.1007/s11356-015-5102-6.
- Oliveira, K.F.; Lacerda, L.D.; Peres, T.F.; Marins, R.V.; Santos, J.A. (2017). The Fate of Cu, Zn and Mn in an Intensive Fish Aquaculture (Tilapia - *Oreochromis niloticus*) in an

Artificial Reservoir in Northeastern Brazil. *Environmental Processes*, 49(1), 107–121. DOI 10.1007/s40710-016-0206-7.

Oo, M.T.; Shahabuddin, A.M.; Thakur, D.P.; Mon, A.A.; Yakupitiyage, A.; Bart, A.N.; Bhujel, R.C.; Diana, J.S. (2015). Optimization of phosphorus fertilizer in supplemental feed-fed based Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) ponds. *Aquaculture Research*, 46, 2859–2870 doi:10.1111/are.12444.

Osman, A.; Wuertz, S.I.; Mekkawy, H.E.; Kirschbaum, F. (2007). Lead induced malformations in embryos of the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *Environmental Toxicology*, 22, 375-389. [https://doi: 10.1002/tox.20272/full](https://doi:10.1002/tox.20272/full).

Osti, J.A.S.; Moraes, M.A.B.; Carmo, C. F.; Mercante, C.T.J. (2017). Nitrogen and phosphorus flux from the production of Nile tilapia through the application of environmental indicators. *Brazilian Journal of Biology*, 10. [https://doi: 10.1590/1519-6984.02116](https://doi:10.1590/1519-6984.02116).

Ottinger, M.; Clauss, K.; Kuenzerb, C. (2016). Aquaculture: Relevance, distribution, impacts and spatial assessments – A review. *Ocean & Coastal Management*, 119, 244-266. [https://doi: 10.1016/j.ocecoaman.2015.10.015](https://doi:10.1016/j.ocecoaman.2015.10.015).

Pereira, A. DA C.; Silva, R.F. (2012). *Produção de tilápias*. Niterói: Programa Rio Rural. (Manual Técnico, 31).

Porto, L.C.S.; Ethur, E.M. (2009). Elementos-traço na água e em vísceras de peixes da Bacia Hidrográfica Butuí-Icamaquã, Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*, Santa Maria, 39, 9, 2512-2518. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782009005000213>.

Pucher, J.; Mayrhofer, R.; El-Matbouli, M.; Focken, U. (2016). Effects of modified pond management on limnological parameters in small-scale aquaculture ponds in mountainous Northern Vietnam. *Aquaculture Research*, 47, 56–70 doi:10.1111/are.12465.

Qiu, Y.-W.; Lin, D.; Liu, J.-Q.; Zeng, E.Y. (2011). Bioaccumulation of trace metals in farmed fish from South China and potential risk assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74, 284–293. doi:10.1016/j.ecoenv.2010.10.008.

Rocha, M.P.da, Dourado, P.L.R., Cardoso, C.A.L., Cândido, L.S., Pereira, J.G., Oliveira, K.M.P.de, Grisolia, A.B. (2018). Tools for monitoring aquatic environments to identify anthropic effects. *Environmental Monitoring and Assessment*, 190, 61-74. <https://doi.org/10.1007/s10661-017-6440-2>.

Rodrigues, C.J.; Mercante, C.T.J.; Carmo, C.F.; Oosti, J.A.S.; Di Genaro, A. (2010). Diurnal dynamic of nitrite and ammonia gas in a Nile tilapia fish pond in subtropical region. *Limnetica*, 5, 1-9.

Rosa, R.S.; Aguiar, A.C.F.; Boëchat, I.G.; Gücker, B. (2013). Impacts of fish farm pollution on ecosystem structure and function of tropical headwater streams. *Environmental Pollution*, 174, 204-213. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2012.11.034>.

Santos, M.A.P.F.; Melão, M.G.G.; Lombardi, A.T. (2008) The effects of humic substances on copper toxicity to *Ceriodaphnia silvestrii* Daday (Crustacea, Cladocera). *Ecotoxicology*, 17(6), 449–454. <https://doi.org/10.1007/s10646-008-0196-y>.

Sarker, Md.S.; Quadir, Q.F.; Hossen, Md.Z.; Nazneen, T.; Rahman, A. (2017). *Asian-Australasian Journal of Food Safety and Security*, 1(1), 74-81. Retrieved from: www.ebupress.com/journal/aajfss.

- Schulter, E.P.; Vieira Filho, J.E.R. (2017). Texto para discussão/ Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada. Rio de Janeiro: Ipea. Retrieved from repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/8043/1/td_2328.pdf.
- Schwartz, M.F.; Boyd, C.E. (1994a). Channel catfish pond effluents. *Progressive Fish-Culturist*, 56, 273–281. [https://doi.org/10.1577/1548-8640\(1994\)056<0273:CCPE>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8640(1994)056<0273:CCPE>2.3.CO;2).
- Schwartz, M. F.; Boyd, C. E. (1994b). Effluent quality during harvest of channel catfish from watershed ponds. *Progressive Fish-Culturist*, 56, 25-32. [https://doi.org/10.1577/1548-8640\(1994\)056<0025:EQDHOC>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8640(1994)056<0025:EQDHOC>2.3.CO;2).
- Semade (Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Desenvolvimento Econômico) (2015). *Estudo da Dimensão Territorial do Estado de Mato Grosso do Sul: regiões de planejamento*. Retrieved from www.semade.ms.gov.br/estudo-da-dimesao/
- Shinn, M.B. (1941). Colorimetric method for determination of nitrite. *Engineering Chemistry Analytical Edition*, 13, 33-35. <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/i560089a010>.
- 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, 2015. Retrieved from <https://gia.org.br/portal/wp-content/uploads/2017/12/Livro-pronto.pdf>.
- Solomon, F. (2009). Impacts of Copper on Aquatic Ecosystems and Human Health. *Environment & Communities*. Retrieved from: <http://magazine.mining.com/Issues/0904/ImpactsCopperAquaticEcosystemsHumanHealth.pdf>.
- Tan, B.; Yin, Y. (2017). Environmental Sustainability Analysis and Nutritional Strategies of Animal Production in China. *Annual Review of Animal Biosciences*, 5, 16.1–16.14. doi: 10.1146/annurev-animal-022516-022935.
- Tonietto, A.E.; Lombardi, A.T.; Choueri, R.B.; Vieira, A.A.H. (2015). Chemical behavior of Cu, Zn, Cd, and Pb in a eutrophic reservoir: speciation and complexation capacity. *Environmental Science Pollution Research*, 22, 15920–15930. DOI 10.1007/s11356-015-4773-3.
- Welz, B.; Sperling, M. (1999). *Atomic absorption spectrometry*. Weinheim: Wiley-VCH.
- Wetzel, R.G. (2001). *Limnology: lake and river ecosystems*. (3rd ed.) San Diego: Academic Press.
- Wetzel, R.G.; Likens, G.E. (2000). *Limnological analysis*. (3rd ed.). New York: Springer Verlag. DOI: 10.1002/1521-3773(20010316)40:6<9823: AID-ANIE9823>3.3.CO;2-C.

6. CAPÍTULO – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste estudo acrescentam conhecimentos acerca dos aspectos nutricionais da tilápia-do-Nilo, auxiliando na definição dos melhores parâmetros de avaliação da qualidade das rações comerciais; contribuindo com a verificação da toxicidade e do potencial gastroprotetor do extrato aquoso de *S. marginata* sobre a tilápia; e destacando os efeitos do uso da cama-de-frango sobre o teor de metais pesados, nitrogênio e fósforo na água e no sedimento dos viveiros de cultivo e no filé do peixe.

Com base nos resultados obtidos, sugere-se que dentre os parâmetros avaliados nas rações comerciais, com a finalidade de indicação da qualidade, sejam considerados: i) os valores digestíveis dos nutrientes (proteína, aminoácidos, energia e fósforo), como forma de garantir do atendimento da exigência nutricional da espécie e um melhor aproveitamento dos nutrientes; e ii) o efeito sobre o desempenho dos peixes, com a finalidade de estreitar a sua relação com a produtividade e lucratividade.

O uso do extrato aquoso de folhas de *Serjania marginata* incorporado à dieta da tilápia demonstrou melhoria nos processos de digestão e absorção dos nutrientes, visto que o extrato estimulou a atividade da fosfatase alcalina intestinal; auxiliou na manutenção da arquitetura histológica do fígado e intestino; provocou intensidade de reação mais forte das células caliciformes intestinais (PAS-positiva); e promoveu o desenvolvimento das vilosidades do intestino (altura). Os efeitos observados podem ser atribuídos à ação das substâncias identificados no extrato (ácido quínico, quercitrina, isoquercitrina e proantocianidina trímico tipo A), de forma isolada ou sinérgica.

A adubação dos viveiros com cama-de-frango na produção da tilápia apresentou-se ineficaz como ferramenta de redução do uso da ração ou de promoção do ganho de peso e da conversão alimentar dos peixes. A cama-de-frango e a água de abastecimento dos tanques constituíram fontes de contaminação do ambiente e do filé do peixe, pela presença do níquel. Com base nos padrões de referência legais para cada matriz (sedimento, água e filé do peixe), verificou-se que os teores de Cu, Fe, Ni e P na água ficaram acima do padrão máximo estabelecido. Apesar disso, a quantidade de fósforo descartado por tonelada de peixe produzida, se encontra abaixo do valor médio citado em outros trabalhos.

Salienta-se que a melhoria do aproveitamento dos nutrientes, seja pela qualidade das rações comerciais ou uso do extrato aquoso das folhas de *S. marginata*, podem promover a saúde dos peixes e reduzir a quantidade de substâncias químicas derivada do cultivo da tilápia. Além disso, apesar da cama-de-frango não ter apresentado melhores parâmetros produtivos da tilápia, é relevante a busca por outras alternativas que possibilitem a redução do uso de ração, principalmente na fase inicial de desenvolvimento da tilápia, na qual o alimento vivo apresenta-se como importante fonte de nutrientes.