



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E
ENGENHARIA DE PESCA

CRISTIAN ZWETZCH DO NASCIMENTO

Efeito da adição de nucleotídeos em dietas de parentais e prole de tilápia do Nilo sobre a saúde, crescimento e resistência da progênie

Toledo

2018

CRISTIAN ZWETZCH DO NASCIMENTO

Efeito da adição de nucleotídeos em dietas de parentais e prole de tilápia do Nilo sobre a saúde, crescimento e resistência da progênie

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca – Nível de Mestrado, do Centro de Engenharias e Ciências Exatas, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Área de concentração: Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Orientador: Prof. Dr. Robie Allan Bombardelli
Co-orientadora: Prof. Dr^a. Silvia Romão

Toledo

2018

DEDICATÓRIAS

Dedico este trabalho:

Aos meus pais; Cleuza de
Fátima Zwetich e Valmir Dias
do Nascimento.

Meus irmãos: Laline e Lucas.

Aos meus Avós Edolin e
Erondina.

E a todos que contribuíram
para sua realização.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a toda minha família: pai, mãe, irmãos, avós, tios e primos, pelo incentivo e a motivação para execução do trabalho.

Ao meu orientador, Robie Allan Bombardelli, pela oportunidade da realização do mestrado e orientações no decorrer do período.

A minha co-orientadora, Silvia Romão (segunda mãe) pela ajuda nas coletas, paciência nos treinamentos para realização das análises, pelos conselhos, motivação e orientação durante o mestrado.

Aos amigos e colegas: Josiel, Samara, Eder, João, Diego, Simone, Giovano, Prof.^a Luiza, Prof.^a Ana tereza, Ahiana, Vanessa, Gustavo, Lucas, Micheli, Thaianne, Samara, Henrique, Juliano, Antônio, Thais, Thiago, Silvana, Júlio, Ricácio, Vinícius, Patrícia, Robby, Seu José, Bruna, Rogério, Rogério (Bangu) e Jeferson pela ajuda nas biometrias e coletas dos experimentos e as Pitica's Brothers pela companhia.

Ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca pelas amizades, oportunidade e conhecimento adquirido durante a execução do mestrado.

A NutriQuest-Technofeed pela colaboração e apoio na realização desta pesquisa e pela doação do produto Ascogen[®].

À Piscicultura Sgarbi, por meio do Sr. Ari Sgarbi e da Sr.^a. Ariane Sgarbi pela colaboração e apoio para a realização desta pesquisa e pela doação das matrizes e reprodutores de tilápia utilizados nos experimentos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa, por meio dos processos CNPq no 311658/2016-4 e CNPq no 429239/2016-5.

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

Muito Obrigado.

FOLHA DE APROVAÇÃO

CRISTIAN ZWETZCH DO NASCIMENTO

Efeito da adição de nucleotídeos em dietas de parentais e prole de tilápia do Nilo sobre a saúde, crescimento e resistência da progênie

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca – Nível de Mestrado, do Centro de Engenharias e Ciências Exatas, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Robie Alan Bombardelli
(Presidente)

Prof. Dr. Paulo Vanderlei Sanches
Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Prof. Dr. Fabio Meurer
Universidade Federal do Paraná

Aprovado em: 27 de agosto de 2018.

Local de defesa: Sala 15, /Campus de Toledo.

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Nascimento, Cristian Zwetzch do

Efeito da adição de nucleotídeos em dietas de parentais e prole de tilápia do Nilo sobre a saúde, crescimento e resistência da progênie / Cristian Zwetzch do Nascimento; orientador(a), Robie Allan Bombardelli; coorientador(a), Sílvia Romão, 2018.

45 f.

Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Toledo, Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Graduação em Engenharia de Pesca Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, 2018.

1. progênie de tilápia. 2. nucleotídeos . 3. correlação de nutrição de parentais e prole . 4. resistência . I. Bombardelli, Robie Allan . II. Romão, Sílvia. III. Título.

Efeito da adição de nucleotídeos em dietas de parentais e prole de tilápia do Nilo sobre a saúde, crescimento e resistência da progênie

RESUMO

O efeito da adição de nucleotídeos na dieta de parentais e prole de tilápia do Nilo sobre a saúde, crescimento e resistência da prole foi avaliado. Os parentais foram alimentados por quatro meses com dietas contendo 28 % de proteína digestível (PD) e 2800 kcal de energia digestível (ED) por kg^{-1} de ração, com três níveis de inclusão de nucleotídeos (0 g, 2,5 g e 5 g kg^{-1} de ração). A prole foi alimentada durante 100 dias, pós-larvas alimentadas com rações contendo 38,6 % PD e 3800 kcal ED kg^{-1} (40 dias) e juvenis com rações contendo 32 % PD e 3200 kcal ED kg^{-1} (60 dias), todas com quatro níveis de inclusão de nucleotídeos (0 g, 2,5 g, 5 g e 7,5 g kg^{-1} de ração). Foram avaliados os parâmetros de desempenho zootécnico em pós-larvas e juvenis de ganho de peso, ganho de crescimento, ganho de biomassa, total de ração consumido, fator de condição, conversão alimentar aparente e coeficiente de crescimento diário. Parâmetros hematológicos; percentual de hemoglobina, microhematócrito, hemoglobina corpuscular média, concentração de hemoglobina corpuscular média. atividade de lisozima no plasma, parâmetros bioquímicos no fígado, constituídos de atividade de catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), lipoperoxidação (LPO), alanina aminotransferase (TGP) e aspartato aminotransferase (TGO). A sobrevivência foi analisada após desafio de transporte em juvenis. No desafio com a bactéria *Aeromonas hydrophila* a sobrevivência dos juvenis foi avaliada após 15 dias e os parâmetros bioquímicos já citados foram avaliados no quinto dia de desafio. Os parâmetros hematológicos não foram alterados pela inclusão de nucleotídeos nas dietas ($P > 0,05$). Alimentação dos parentais com 5 g de nucleotídeos kg^{-1} proporcionou uma melhor sobrevivência da prole ($P < 0,05$) no desafio de transporte. A inclusão de 2,5 g de nucleotídeos kg^{-1} na dieta de parentais e prole proporcionou efeito interativo proporcionando maior peso final ($P < 0,01$). Ganho de biomassa e consumo de ração de pós-larvas e juvenis ($P < 0,05$) apresentaram efeito da alimentação de parentais e prole ($P < 0,05$). Inclusão de 2,5 g de nucleotídeos kg^{-1} na dieta de parentais proporcionou menores níveis de LPO ($P < 0,05$) em fígado de juvenis. No desafio contra bactéria maior sobrevivência foi encontrada no tratamento onde parentais e prole receberam 2,5 g AS kg^{-1} na dieta. A adição de nucleotídeos na dieta de parentais e prole apresentou efeito benéfico no desenvolvimento, resistência e crescimento da progênie, sendo recomendado a utilização de 2,5 g AS kg^{-1} na dieta de parentais e prole.

Palavras-chave: Nutrição de tilápia, Ascogen[®], Nucleotídeos dietéticos, *Aeromonas hydrophila*.

Effect of nucleotide addition on diets of parental and Nile tilapia offspring on progeny health, growth and resistance

ABSTRACT

The effect of the addition of nucleotides in the diet of parental and offspring on the health, growth and resistance of the offspring was evaluated. The parents were fed diets containing 28% digestible protein (PD) and 2800 kcal digestible energy (ED) per kg⁻¹ of feed, with three levels of inclusion of nucleotides (0 g, 2.5 g and 5 g). The offspring were fed for 100 days, post-larvae fed diets containing 38.6% PD and 3800 kcal ED kg⁻¹ (40 days) and juveniles with diets containing 32% PD and 3200 kcal ED kg⁻¹ (60 days) all with four nucleotide inclusion levels (0 g, 2.5 g, 5 g and 7.5 g). The parameters of zootechnical performance in post-larvae and juveniles, hematological parameters, plasma lysozyme activity, biochemical parameters in the liver, catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), lipoperoxidation (LPO), alanine aminotransferase (TGP) and aspartate aminotransferase (TGO) in juveniles. Survival was analyzed after transport challenge in juveniles. In the challenge with the bacterium *Aeromonas hydrophila* the survival was evaluated after 15 days and the biochemical parameters already mentioned were evaluated in the fifth day of challenge. The hematological parameters were not altered by the inclusion of nucleotides in the diets ($P > 0.05$). Feeding of the parents with 2.5 and 5 g kg⁻¹ nucleotides provided better offspring survival ($P < 0.05$) in the challenge of transport. The inclusion of 2.5 g of kg⁻¹ nucleotides in the parental and offspring diet provided an interactive effect provided greater final weight ($P < 0.01$), biomass gain and feed intake of post-larvae and juveniles ($P < 0.05$). Inclusion of 2.5 and 5 g of kg⁻¹ nucleotides in the parental caused lower LPO levels ($P < 0.05$) In the challenge against bacteria provided greater survival was found in the treatment where parental and offspring received 2.5 g AS kg⁻¹ in the diet. The addition of nucleotides in the parental and offspring diet had a beneficial effect on progeny development, resistance and growth, and the use of 2.5 g AS kg⁻¹ in the diet of parental and offspring was recommended.

.Key words: Nutrition of tilapia. Ascogen[®]. Dietary nucleotides. *Aeromonas hydrophila* nucleotides.

Trabalho redigido em formato de artigo, nas
normas da revista Animal Feed Science and
Technology disponíveis:

[https://www.elsevier.com/journals/animal-
feed-science-and-technology/0377-
8401/guide-for-authors](https://www.elsevier.com/journals/animal-feed-science-and-technology/0377-8401/guide-for-authors)

LISTA DE FIGURAS

- Fig. 1. Efeito da inclusão de nucleotídeos na dieta da prole sobre Peso final de pós-larvas após 40 dias de criação em laboratório. *g AS (gramas de Ascogen[®] por kg de ração), valores expressos em média \pm erro padrão, letras diferentes indicam efeito da alimentação da prole (P=0,000). 24
- Fig. 2. Efeito da inclusão de nucleotídeos na dieta da prole sobre CCD e CPF em pós-larvas após 40 dias de criação em laboratório. *g AS (gramas de Ascogen[®] por kg de ração), valores expressos em média \pm erro padrão, letras diferentes indicam diferença para alimentação da prole CPF (P=0,038) e CCD (P=0,000)..... 25
- Fig. 3. Efeito da inclusão de nucleotídeos na dieta da prole sobre biomassa final e dos parentais e prole para total de ração fornecida para pós-larvas após 40 dias de criação em laboratório. *g AS (gramas de Ascogen[®] por kg de ração), valores expressos em média \pm erro padrão, letras minúsculas diferentes indicam efeito pela alimentação da prole BF (P=0,008) e TRF (P=0,013) e letras maiúsculas diferentes indicam efeito da alimentação dos parentais TRF (P=0,033)..... 25
- Fig. 4. Efeito da inclusão de nucleotídeos na dieta dos parentais sobre a sobrevivência de pós-larvas após 40 dias. *g AS (gramas de Ascogen[®] por kg de ração), valores expressos em média \pm erro padrão, letras maiúsculas diferentes indicam efeito pela alimentação dos parentais (P=0,000)..... 26
- Fig. 5. Percentual de sobrevivência de juvenis de tilápia do Nilo em simulação ao transporte durante 30 horas. *g AS (gramas de Ascogen[®] por kg de ração), valores expressos em média \pm erro padrão, letras maiúsculas diferentes indicam efeito pela inclusão de nucleotídeos na dieta dos parentais (P=0,000). 27
- Fig. 6. Efeito da inclusão de nucleotídeos na dieta de parentais e prole sobre o peso médios de juvenis após 100 dias de vida. *g AS (gramas de Ascogen[®] por kg de ração), valores expressos em média \pm erro padrão, letras diferentes indicam efeito interativo da alimentação de parentais e prole (P=0,005). 29
- Fig. 7. Efeito da inclusão de nucleotídeos na dieta de parentais e prole sobre a biomassa total e o total de ração fornecida para juvenis após 100 dias de vida. *g AS (gramas de Ascogen[®] por kg de ração), valores expressos em média \pm erro padrão, letras maiúsculas indicam efeito pela inclusão de nucleotídeos na dieta dos parentais e letras minúsculas pela inclusão de nucleotídeos na dieta prole BF (P=0,039 e P=0,047) e TRF (P=0,002 e P=0,038). 30
- Fig. 8. Efeito da adição de nucleotídeos na dieta de parentais sobre médias de LPO em fígado de juvenis de tilápia do Nilo após 100 dias de cultivo. * g AS (gramas de Ascogen[®] por kg de ração), valores expressos em média \pm erro padrão, letras maiúsculas diferentes indicam efeito pela inclusão de nucleotídeos na dieta de parentais (P=0,010). 33
- Fig. 9. Efeito da adição de nucleotídeos na dieta dos parentais e prole sobre a sobrevivência após 15 de desafio bacteriano. *g AS (gramas de Ascogen[®] por kg de ração), valores

expressos em média \pm erro padrão, letras diferentes indicam diferença pela inclusão de nucleotídeos na dieta de parentais e prole (P=0,002). 35

Fig. 10. Efeito da adição de nucleotídeos na dieta dos parentais e prole sobre a Atividade da enzima superóxido dismutase em fígado de juvenis de tilápia com e sem desafio bacteriano. *g AS (gramas de Ascogen[®] por kg de ração), valores expressos em média \pm erro padrão, letras diferentes indicam diferença pela inclusão de nucleotídeos na dieta de parentais e prole (P=0,034). 36

Fig. 11. Efeito da adição de nucleotídeos na dieta dos parentais e prole sobre a Atividade da enzima alanina aminotransferase em fígado de juvenis de tilápia com e sem desafio bacteriano. *g AS (gramas de Ascogen[®] por kg de ração), valores expressos em média \pm erro padrão, letras diferentes indicam diferença pela inclusão de nucleotídeos na dieta de parentais e prole (P=0,029). 36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Composição de ingredientes e valor nutricional das rações experimentais contendo diferentes níveis de nucleotídeos utilizadas na alimentação de reprodutores e matrizes de tilápia do Nilo.	16
Tabela 2 Composição de ingredientes e valor nutricional das rações experimentais contendo diferentes níveis de nucleotídeos utilizadas na dieta de pós-larvas e juvenis de tilápia do Nilo.	19
Tabela 3 Efeito da adição de nucleotídeos na dieta de parentais, prole e sua interação sobre o desempenho zootécnico de pós-larvas de tilápia do Nilo após 40 dias de alimentação experimental e sobrevivência ao transporte após 60 dias de cultivo.	28
Tabela 4 Efeito da adição de nucleotídeos na dieta de parentais, prole e sua interação sobre o desempenho zootécnico da prole após 100 dias de cultivo.	31
Tabela 5 Efeito da adição de nucleotídeos na dieta de parentais e prole sobre os índices hematológicos de juvenis de tilápia do Nilo após 100 dias de cultivo.	32
Tabela 6 Parâmetros bioquímicos em fígado de juvenis de tilápia do Nilo.	33
Tabela 7 Índices hematológicos após inoculação com <i>Aeromonas hydrophila</i> e soro fisiológico em juvenis de tilápia do Nilo.	34
Tabela 8 Sobrevivência e parâmetros bioquímicos em fígado e plasma de juvenis de tilápia do Nilo pré e pós inoculação com <i>Aeromonas hydrophila</i> e soro fisiológico.	37

SUMÁRIO

1. Introdução	15
2. Material e Métodos.....	16
2.1. Obtenção das proles e delineamento experimental.....	16
2.2. FASE 1 Adição de nucleotídeos na dieta de pós-larvas até 40 dias.....	17
2.3. FASE 2: Adição de nucleotídeos na dieta de juvenis até 100 dias.....	18
2.4. Análises laboratoriais	21
2.4.1. Parâmetros de estresse oxidativo em fígado de juvenis de tilápia do Nilo	21
2.4.2. Atividade das enzimas Aspartato Aminotransferase (TGO) e Alanina Aminotransferase (TGP) em fígado de juvenis de tilápia do Nilo	22
2.4.3. Valor de Lisozima plasmática em juvenis de tilápias do Nilo	22
2.4.4. Parâmetros hematológicos.....	22
2.5. Análises estatísticas	23
3 Resultados	23
3.1. FASE 1 Efeito da alimentação de parentais e prole sobre os parâmetros de desempenho zootécnico de pós-larvas de tilápia do Nilo até 40 dias.....	23
3.1.1. Avaliação da sobrevivência da prole em desafio de transporte com duração de 30 horas	26
3.2. FASE 2 Avaliação da inclusão de nucleotídeos na dieta de parentais e prole sobre juvenis de tilápia do Nilo até 100 dias.....	29
3.2.1. Índices hematológicos em juvenis de tilápia do Nilo	32
3.2.2. Avaliação de Parâmetros de estresse oxidativo em fígado de tilápia do Nilo com parentais e prole alimentadas com nucleotídeos.....	32
3.2.3. Atividade de Aspartato Aminotransferase (TGO), Alanina Aminotransferase (TGP) em fígado e lisozima sérica de juvenis de tilápia do Nilo	33
3.2.4. Desafio de resistência em juvenis de tilápia do Nilo contra <i>Aeromonas hydrophila</i> .	34
3.2.5. Avaliação da sobrevivência e parâmetros bioquímicos de juvenis de tilápia do Nilo após desafio bacteriano.....	34
4 Discussão	37
5 Conclusão	40
Referências	40

2 Efeitos da adição de nucleotídeos em dietas de parentais e prole de tilápia do Nilo
3 (*Oreochromis niloticus*) sobre a saúde, crescimento e resistência da progênie

4 **Cristian Zwetzch do Nascimento¹**

5 ¹Mestrando Recursos Pesqueiros e Engenharia de pesca, Universidade do Oeste do Paraná.

6 **Correspondência:** C. Zwetzch-Nascimento, Brasil. E-mail: cristian.nascimento@unioeste.br

7 **Resumo**

8 O efeito da adição de nucleotídeos na dieta de parentais e prole de tilápia do Nilo sobre a saúde,
9 crescimento e resistência da prole foi avaliado. Os parentais foram alimentados por quatro
10 meses com dietas contendo 28 % proteína digestível (PD) e 2800 kcal energia digestível (ED)
11 por kg⁻¹ de ração, com três níveis de inclusão de nucleotídeos (0 g, 2,5 g e 5 g kg⁻¹ de ração). A
12 prole foi alimentada durante 100 dias, pós-larvas alimentadas com rações contendo 38,6 % PD
13 e 3800 kcal ED kg⁻¹ (40 dias) e juvenis com rações contendo 32 % PD e 3200 kcal ED kg⁻¹
14 (60dias), todas com quatro níveis de inclusão de nucleotídeos (0 g, 2,5 g, 5 g e 7,5 g kg⁻¹ de
15 ração). Foram avaliados os parâmetros de desempenho zootécnico em pós-larvas e juvenis,
16 parâmetros hematológicos, atividade de lisozima no plasma, parâmetros bioquímicos no fígado,
17 constituídos de atividade de catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), lipoperoxidação
18 (LPO), alanina aminotransferase (TGP) e aspartato aminotransferase (TGO). A sobrevivência
19 foi analisada após desafio de transporte em juvenis. No desafio com a bactéria *Aeromonas*
20 *hydrophila* a sobrevivência dos juvenis foi avaliada após 15 dias e os parâmetros bioquímicos
21 já citados foram avaliados no quinto dia de desafio. Os parâmetros hematológicos não foram
22 alterados pela inclusão de nucleotídeos nas dietas (P>0,05). Alimentação dos parentais com 5
23 g de nucleotídeos kg⁻¹ proporcionou uma melhor sobrevivência da prole (P<0,05) no desafio de
24 transporte. A inclusão de 2,5 g de nucleotídeos kg⁻¹ na dieta de parentais e prole proporcionou
25 efeito interativo proporcionado maior peso final (P<0,01). Ganho de biomassa e consumo de
26 ração de pós-larvas e juvenis (P<0,05) apresentaram efeito da alimentação de parentais e prole
27 (P<0,05). Inclusão de 2,5 g de nucleotídeos kg⁻¹ na dieta de parentais proporcionou menores
28 níveis de LPO (P<0,05) em fígado de juvenis. No desafio contra bactéria proporcionou maior
29 sobrevivência foi encontrada no tratamento onde parentais e prole receberam 2,5 g AS kg⁻¹ na
30 dieta. A adição de nucleotídeos na dieta de parentais e prole apresentou efeito benéfico no
31 desenvolvimento, resistência e crescimento da progênie, sendo recomendado a utilização de 2,5
32 g AS kg⁻¹ na dieta de parentais e prole.

Palavras-chave:

Nutrição de tilápia, Ascogen[®] tilápia do Nilo, Nucleotídeos dietéticos. *Aeromonas hydrophila* nucleotídeos

1. Introdução

A aquicultura continental tem apresentando crescimento contínuo nas últimas décadas (FAO, 2014). Como consequência, a intensificação dos cultivos submete os animais a situações de estresse, tornando-os mais vulneráveis ou susceptíveis a patógenos (Eiras et al., 2010; Pavanelli et al., 2002), sendo que para um bom desempenho e saúde dos peixes, a nutrição é apontada como princípio fundamental (Oliva-Teles, 2012).

Aditivos na dieta de peixes tem sido alvo de pesquisas (Wahbi et al., 2017) e dentre eles, destacam-se os nucleotídeos dietéticos, que demonstram potencial para utilização na aquicultura (Fernando et al., 2007). A nutrição de reprodutores influencia no desempenho reprodutivo (Freccia et al., 2014) e no desenvolvimento embrionário (Fernández-Palacios et al., 1995), no metabolismo dos parentais e posteriormente influenciando o crescimento e saúde da progênie (Symonds et al., 2009).

Existem poucos trabalhos relacionando o efeito de nucleotídeos sobre o desempenho reprodutivo de organismos aquáticos, porém, estudo avaliando nucleotídeos na dieta de reprodutores de camarão do pacífico (*Litopenaeus vannamei*) indicou que este aditivo proporciona melhora saúde e nos parâmetros reprodutivos (Arshadi et al., 2010). Por outro lado, existem inúmeros trabalhos avaliando desempenho e saúde em pós-larvas e juvenis. Nucleotídeos na alimentação da fase de pós-larvas demonstram melhorar imunológica, resistência (Shiau et al., 2015) e crescimento (Ruyet et al., 1983). Assim, como na fase de juvenis proporciona melhora no sistema imune (Lin et al., 2009) e crescimento (Li & Gatlin, D. M. (2007), promovendo um melhor desempenho.

Os nucleotídeos apresentam funções importantes no organismo, tais como armazenamento, transcrição e tradução de informações genéticas (DNA e RNA) (Nelson & Cox 2014; Carver & Walker 1995) catálise de reações (RNA), atuação como moléculas armazenadoras e transportadoras de energia e sinalizadora intracelular (Nelson & Cox 2014; Voet et al., 2014; de Moura & Vidal 2011). Devido às funções dos nucleotídeos e seus derivados, os organismos apresentam maior demanda de nucleotídeos em períodos de grandes

divisões celulares (Tsujinaka et al., 1999; Carver & Walker 1995), quando apresentam rápido crescimento e em períodos de estresse (Shiau et al., 2015; Rossi et al., 2007; Hess & Greenberg 2012), aspectos esses encontrados na reprodução, larvicultura e cultivo de juvenis.

Observando os efeitos positivo de nucleotídeos em dietas para juvenis e possíveis efeitos benéficos na dieta de parentais o presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito de um aditivo comercial fonte de nucleotídeos em dieta de parentais e prole de tilápia do Nilo procurando um efeito interativo das alimentações sobre a saúde, crescimento e resistência da progênie.

2. Material e Métodos

2.1. Obtenção das proles e delineamento experimental

Todos os experimentos foram realizados com a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) linhagem GIFT, após aprovação do comitê de ética e uso animal (CEUA) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná. O aditivo comercial utilizado foi o Ascogen[®], sua formulação possui 15% de nucleotídeos purificados contendo bases de adenina, citosina, guanina, timina e uracila. Para obtenção da prole foram utilizados 84 machos (500 ± 41 g) estocados em 12 hapas de 2m x 1m, sete machos por hapa e 252 fêmeas (200 ± 32 g) estocadas em 12 hapas de 2m x 3m, 21 fêmeas por hapa. As hapas foram distribuídas em 3 tratamentos com quatro repetições de forma aleatória. Os tratamentos foram constituídos pela adição de 2,5 g e 5 g de Ascogen[®] por quilo de ração ($AS\ kg^{-1}$) e um tratamento controle sem a adição de $AS\ kg^{-1}$ (tabela 1). As rações eram isoprotéicas (28% proteína digestível (PD)) e isoenergéticas (2800 kcal energia digestível (ED)). Os animais foram alimentados duas vezes ao dia, com 1% da biomassa total, durante 4 meses. Biometrias a cada 17 dias foram realizadas para correção da taxa de arraçoamento. Os animais foram submetidos a processo reprodutivo adaptado de Bombardelli et al., (2009).

Tabela 1 Composição de ingredientes e valor nutricional das rações experimentais contendo diferentes níveis de nucleotídeos utilizadas na alimentação de reprodutores e matrizes de tilápia do Nilo.

	Níveis de inclusão de Ascogen [®] ($g\ kg^{-1}$)		
	0 g P 0	2,5 g P 2,5	5 g P 5
Ingredientes ($g\ kg^{-1}$)			
Farelo de soja	533,2	533,2	533,2
Milho	286,8	286,8	286,8
Farinha de peixe	73,0	73,0	73,0
Bentonita	51,6	49,1	46,6

Ascogen®	0	2,5	5,0
Nucleotídeos	0,0	0,375	0,750
Fosfato bicálcico	25,4	25,4	25,4
Calcário	9,2	9,2	9,2
Sal comum	5,0	5,0	5,0
SVM*	15,0	15,0	15,0
BHT†	0,5	0,5	0,5

Cálculo do conteúdo nutricional (g kg⁻¹)‡

Ácido linoleico	9,5	9,5	9,5
Amido	210,0	210,0	210,0
Cálcio	14,5	14,5	14,5
Cinzas	124,3	124,3	124,3
Fósforo total	10,0	10,0	10,0
Gordura	224,7	224,7	224,7
Lisina total	18,8	18,8	18,8
Matéria seca	895,0	895,0	895,0
Metionina+ Cistina	1,87	1,87	1,87
Energia bruta (Kcal Kg ⁻¹)	3762,0	3762,0	3762,0
Energia digestível (Kcal Kg ⁻¹)	2800,0	2800,0	2800,0
Proteína bruta	31,29	31,29	31,29
Proteína digestível	28,0	28,0	28,0

*Suplemento vitamínico e mineral, composição básica: ácido fólico; 200mg, ácido pantotênico; 4000mg, biotina; 40mg, cobre; 2000mg, ferro; 12500mg, iodo; 200mg, manganês; 7500mg, niacina; 5000mg, selênio; 70mg, vitamina A; 1000000UI, vitamina B1; 1900mg, vitamina B12; 3500mg, vitamina B2; 2000mg, vitamina B6; 2400mg, vitamina C; 50000mg, vitamina D3; 500000UI, vitamina E; 20000UI, vitamina K3; 500mg, zinco; 25000mg.

†Antioxidante.

‡Os valores nutricionais foram calculados utilizando o programa *Super Crac*.

2.2. FASE 1 Adição de nucleotídeos na dieta de pós-larvas até 40 dias

No quinto dia após a eclosão, foi realizada biometria inicial das larvas. Os animais foram anestesiados em baldes com 5 litros de água e para cada litro foi utilizado 50 mg benzocaína diluído em 200 mL de álcool (95%) (CFMV, 2012). A pesagem foi realizada em balança digital (precisão de 0,001 g) e posteriormente fotografadas para medição do comprimento padrão através do *software* IMAGEJ® 1.60. Foram utilizadas 8640 pós-larvas provenientes dos parentais (tabela 1). O delineamento experimental foi realizado em fatorial 3x4 (três níveis de inclusão de nucleotídeos para os parentais (0 g; 2,5 g e 5 g de AS kg⁻¹) e quatro níveis para as pós-larvas (0 g; 2,5 g; 5 g e 7,5 g de AS kg⁻¹) gerando 12 tratamentos com quatro repetições. As pós-larvas foram distribuídas aleatoriamente em 48 caixas de polipropileno com volume útil de 60 L e densidade de 3 larvas. L⁻¹.

As unidades experimentais foram interligadas em sistema de recirculação de água com oxigenação constante, filtragem mecânica e aquecimento à 27±1,3 °C. Diariamente foram retirados os resíduos e realizado troca de 30% do volume da água. As quatro rações experimentais isoprotéicas com 38,6% PD e isoenergética com 3800 kcal ED (tabela 2) e foi

adicionado o hormônio 17- α metil testosterona (60 mg kg⁻¹ de ração) diluído em 200 mL de álcool etílico para masculinização das pós-larvas. Os peixes foram alimentados sete vezes ao dia. Biometrias foram realizadas a cada 10 dias para correção da taxa de arraçoamento. Foi oferecido 30% da biomassa nos primeiros 10 dias, 20% da biomassa até 20 dias e 10% da biomassa até 40 dias. Na avaliação dos parâmetros de qualidade de água foi utilizado sonda multiparâmetro YSI *professional plus*. Amostras de 500 mL de água foram coletadas diariamente, refrigeradas a 4 °C para realização da leitura em laboratório, sendo mensurado temperatura (27 \pm 1,5°C); oxigênio dissolvido (4,93 \pm 1,75 mg L⁻¹); condutividade (85,07 \pm 3,9 μ s cm⁻¹); totais de sólidos dissolvidos (68,8 \pm 3,65 mg L⁻¹); Ph (7,66 \pm 0,25); amônia (0,026 \pm 0,01 mg L⁻¹); nitrito (0,11 \pm 0,1 mg L⁻¹) e nitrato (0,13 \pm 0,1 mg L⁻¹).

Ao final de 40 dias de cultivo, para avaliação do desempenho zootécnico dos animais, foram mensurados os parâmetros de Peso final (PF). Biomassa final (BF). Sobrevivência em % (S) = (N° final de peixes *100) / (N° inicial de peixes). Fator de Condição (FC)= (ganho de peso/comprimento³). Conversão alimentar aparente (CAA) = consumo de ração/ ganho em peso. Comprimento padrão final (CPF). Taxa de Crescimento Específico (TCE). Taxa de Crescimento.

2.2.1. Sobrevivência em Simulação ao transporte de juvenis de tilápia do Nilo

Ainda na fase 1 foram mantidos no sistema de recirculação 50 peixes por unidade experimental até completarem 60 dias de vida para realização de ensaio de resistência ao transporte. A densidade de estocagem foi de 300 g de peixes por L⁻¹, com tempo de 30 horas de duração. Foram utilizados 864 animais com peso médio de 5,55 \pm 0,46 g. Os animais foram estocados em 48 sacos plásticos com capacidade de cinco litros, preenchidos com 1/3 de água (do sistema de recirculação) e 2/3 de ar. Após às 30 horas de simulação ao transporte os animais que sobreviveram foram devolvidos as caixas de polietileno do sistema de recirculação de água e oxigenação constante e a mortalidade acumulativa foi mesurada durante mais 48 horas.

2.3. FASE 2: Adição de nucleotídeos na dieta de juvenis até 100 dias

Ao final da fase 1 foram coletados aleatoriamente 20 animais de cada unidade experimental (960 animais) e transferidos para 48 hapas com malha de 2/4 mm, dimensões de 0,95x0,95x0,56 m e volume útil de 500 L, instaladas em um tanque escavado (20x10 m). Foram utilizadas quatro rações experimentais isoprotéicas com 32 % PD e isoenergética com 3200 kcal ED (Tabela 2). Os animais foram alimentados quatro vezes ao dia com 10 % da biomassa

durante 30 dias de experimento e posteriormente reduzido a quatro por cento da biomassa até o final do experimento, biometrias quinzenais foram realizadas para correção da taxa de arraçoamento.

Tabela 2 Composição de ingredientes e valor nutricional das rações experimentais contendo diferentes níveis de nucleotídeos utilizadas na dieta de pós-larvas e juvenis de tilápia do Nilo.

	Níveis de inclusão (g) AS kg ⁻¹ pós-larvas				Níveis de inclusão (g) AS kg ⁻¹ juvenis			
	F 0	F 2,5	F 5	F 7,5	F 0	F 2,5	F 5	F 7,5
Ingredientes (g kg⁻¹)								
Milho	264,6	264,6	264,6	264,6	290,0	290,0	290,0	290,0
Farelo soja	46,9	46,9	46,9	46,9	463,9	463,9	463,9	463,9
Farinha de peixe	618,8	618,8	618,8	618,8	200,0	200,0	200,0	200,0
Bentonita	10,0	7,50	5,0	2,5	10,0	7,5	5,0	2,5
ASCOGEN®	0	2,5	5,0	7,5	0	2,5	5,0	7,5
Nucleotídeos	0,0	0,375	0,750	1,125	0,0	0,375	0,750	1,125
Óleo de soja	44,4	44,4	44,4	44,4	9,8	9,8	9,8	9,8
Sal comum	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
SVM*	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
BHT†	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Nutrientes (g kg⁻¹)‡								
Amido	171,1	171,1	171,1	171,1	208,0	208,0	208,0	208,0
Ácido linoleico	29,4	29,4	29,4	29,4	14,5	14,5	14,5	14,5
Cálcio	22,4	22,4	22,4	22,4	12,9	12,9	12,9	12,9
Cinzas	116,1	116,1	116,1	116,1	-	-	-	-
Fósforo total	15,0	15,0	15,0	15,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Gordura	116,2	116,2	116,2	116,2	38,8	38,8	38,8	38,8
Lisina total	20,3	20,3	20,3	20,3	22,2	22,2	22,2	22,2
Fibra bruta	6,9	6,9	6,9	6,9	-	-	-	-
Matéria seca	913,1	913,1	913,1	913,1	891,4	891,4	891,4	891,4
Metionina total	9,7	9,7	9,7	9,7	5,1	5,1	5,1	5,1
Energia bruta	1669,7	1669,7	1669,7	1669,7	4163,6	4163,6	4163,6	4163,6
Energia digestível	3800,0	3800,0	3800,0	3800,0	3200,0	3200,0	3200,0	3200,0
Proteína bruta	45,1	45,1	45,1	45,1	35,2	35,2	35,2	35,2
Proteína digestível	38,6	38,6	38,6	38,6	32,0	32,0	32,0	32,0

*Suplemento vitamínico e mineral, composição básica: ácido fólico; 200mg, ácido pantotênico; 4000mg, biotina; 40mg, cobre; 2000mg, ferro; 12500mg, iodo; 200mg, manganês; 7500mg, niacina; 5000mg, selênio; 70mg, vitamina A; 1000000UI, vitamina B1; 1900mg, vitamina B12; 3500mg, vitamina B2; 2000mg, vitamina B6; 2400mg, vitamina C; 50000mg, vitamina D3; 500000UI, vitamina E; 20000UI, vitamina K3; 500mg, zinco; 25000mg.

†Antioxidante.

‡Os valores nutricionais foram calculados utilizando o programa *Super Crac*.

Ao final dos 100 dias (40 dias em laboratório e 60 dias em hapas) de experimento foram mensurados os parâmetros de PF, BF, S (%), FC, CAA, CPF e TCE. Os animais foram pesados com balança digital (precisão de 0,01 g) e fotografados para medição do comprimento padrão através do *software* IMAGEJ®. A temperatura da água foi aferida diariamente e apresentou máxima (27±2,3° C) e mínima (23,4±2,1° C) sendo utilizado termômetro digital (±0,1° C). Amostras de 500 mL de água foram coletadas a cada três dias, refrigeradas a 4 ° C para

realização análise em laboratório. Foram obtidos valores de oxigênio dissolvido ($5,94 \pm 1,57 \text{ L}^{-1}$), condutividade ($73,2 \pm 17 \mu\text{s cm}^{-1}$), totais de sólidos dissolvidos ($69,9 \pm 19 \text{ mg L}^{-1}$), pH ($7,07 \pm 0,09$), amônia total ($0,11 \pm 0,01 \text{ mg L}^{-1}$) e nitrito ($0,29 \pm 0,02 \text{ mg L}^{-1}$).

2.3.1. Coleta de material biológico de juvenis de tilápia do Nilo

Após a biometria final foram capturados aleatoriamente cinco animais de cada unidade experimental que foram anestesiados com $50 \text{ mg benzocaína L}^{-1}$ de água para retirada de alíquotas de $0,3 \text{ mL}$ de sangue por punção da veia caudal. Foram utilizadas seringas e agulhas banhadas em anticoagulante (3% de EDTA). Após a coleta de sangue foi realizada eutanásia dos animais por secção da medula espinhal (CFMV, 2012) para coleta do fígado, nos quais foram realizadas análises bioquímicas para a mensuração das concentrações de catalase (CAT), Superóxido dismutase (SOD), lipoperoxidação (LPO), Alanina aminotransferase (TGP) e Aspartato Aminotransferase (TGO). Os órgãos foram congelados em nitrogênio líquido (-196°C) e armazenados em ultra freezer à -86°C até a realização das análises.

2.3.2. Resistencia de juvenis de tilápia do Nilo desafiados com *Aeromonas hydrophila*

A cepa bacteriana (cepa CPQBA 228-08 DRM), incubada em caldo de triptona de soja à 28°C foi disponibilizada pelo Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal da Fronteira Sul – Campus Laranjeiras do Sul – PR. Para o desafio bacteriano foi selecionado o tratamento que apresentou melhor desempenho zootécnico (Parentais $2,5 \text{ g AS kg}^{-1}$ /Prole $2,5 \text{ g AS kg}^{-1}$), o tratamento controle parentais/prole (Parentais 0 g AS kg^{-1} /Prole 0 g AS kg^{-1}) e o controle parentais (Parentais 0 g AS kg^{-1} /Prole $2,5 \text{ g AS kg}^{-1}$) para avaliação da saúde dos animais. Para o ensaio foram coletados aleatoriamente 120 juvenis, divididos em dois sistemas de recirculação independentes, idênticos ao descrito para pós-larvas. No sistema (1) os animais foram desafiados com a bactéria *A. hydrophila* e o sistema (2) foi utilizado como controle onde os animais foram injetados com $0,1 \text{ mL}$ de soro fisiológico. Proporcionando 6 tratamentos, com quatro repetições. A exposição ao agente patológico ocorreu via injetável na região intraperitoneal com dose $0,1 \text{ mL}$ contendo $1,0 \times 10^7 \text{ UFC}$ (Kirubakaran et al., 2016). A sobrevivência foi avaliada durante 15 dias (Aly et al., 2008; Kirubakaran et al., 2016). A cada quatro horas foram observados os sinais clínicos: vermelhidão no tegumento, natação errática, hiperplasia, necrose no tegumento, irritação nos olhos e nadadeiras (Pavanelli et al., 2002) dos juvenis. Os animais mortos foram contabilizados e retirados das caixas, congelados e posteriormente coletados por empresa especializada em descarte de material orgânico. No

quinto dia de desafio foram capturados três animais de cada unidade experimental (12 por tratamento) para coleta de sangue para realização dos índices hematológicos e lisozima sérica e do fígado foram realizadas as análises de CAT, SOD, LPO, TGO e TGP.

2.4. Análises laboratoriais

Para realização das análises em fígado, os órgãos foram homogeneizados em 1 mL de Tampão Fosfato Salina (PBS), centrifugados durante 10 min à 12000 xg à 4 °C e os sobrenadantes congelados -85°C. As amostras foram normalizadas para 1 mg. mL⁻¹ de proteína após determinação da concentração de proteína pelo método de Bradford, (1976) utilizando albumina como padrão.

2.4.1. Parâmetros de estresse oxidativo em fígado de juvenis de tilápia do Nilo

A avaliação do estresse oxidativo foi realizado no fígado pela mensuração das enzimas Superóxido Dismutase (SOD) e Catalase (CAT) e do marcador de Lipoperoxidação (LPO) dos juvenis, mesurada em espectrofotômetro de microplaca. A atividade da CAT foi mesurada em comprimento de onda de 240 nanômetros segundo protocolo de Aebi, (1984), com 30 leituras com intervalos de 2 segundos em duplicata, sendo verificado decréscimo da absorvância pela dismutação do peróxido. O meio de reação final teve concentrações de 13,5 mM de H₂O₂, 50 mM de TRIS com pH 8 e 0,25 mM de EDTA, sendo os resultados expressos em mmol.min⁻¹.mg de proteína⁻¹. Para quantificar os peróxidos foi realizada a reação de LPO através do método de TBARS proposto por Buege & Aust (1978), com absorvância 535 nm e padrão de Malondialdeído (MDA). As análises foram realizadas em triplicata a meio de reação contendo 21,42 mM de TBA, 17,86 mM de NaOH (utilizado para solubilização do TBA), 0,73 M de TCA, 0,032mM de BHT, etanol 3% (utilizado para solubilização do BHT) em PBS. A leitura da reação foi realizada após 60 minutos de incubação à 60° C. A peroxidação lipídica foi estimada a partir da curva de MDA e os resultados foram expressos como nmol de MDA. mg de proteína⁻¹. A atividade da SOD foi avaliada por adaptação ao método de Crouch et al., (1981), este modelo teve como princípio quantificar a redução do azul de tetrazolium (NBT) pelo superóxido formado no meio de reação pela presença de hidroxilamina em meio básico. A leitura foi realizada em espectrofotômetro com comprimento de onda 560 nm. Os resultados foram expressos em Unidade de SOD. mg de proteína⁻¹. Onde uma Unidade de SOD é equivalente a atividade capaz de inibir a redução do NBT em 50%.

2.4.2. Atividade das enzimas Aspartato Aminotransferase (TGO) e Alanina Aminotransferase (TGP) em fígado de juvenis de tilápia do Nilo

O princípio de determinação da atividade da TGO está relacionado à reação de catálise do aspartato com transferência do grupo amina para o cetoglutarato e liberação de oxaloacetato que reage com 2-4-dinitroienilhidrazina formando composto colorido. A enzima TGP catalisa a transferência do grupo amina da alanina para o cetoglutarato liberando piruvato que reage com 2-4-dinitroienilhidrazina formando composto colorido. As atividades foram mensuradas em comprimento de onda de 505 nm segundo protocolo de Reitman & Frankel (1957). Para realização das análises foi utilizado kit comercial (Analisa[®]) e os valores foram expressos em Unidade Internacional por litro por miligrama de proteína ($U L^{-1} \cdot mg \text{ de prot}^{-1}$).

2.4.3. Valor de Lisozima plasmática em juvenis de tilápias do Nilo

Para avaliação da atividade de lisozima o sangue total dos juvenis de tilápia do Nilo foi centrifugado durante 10 min a 3300 xg, o plasma foi coletado para as análises sendo utilizado protocolo adaptado de Ellis (1990). Para tanto foi utilizada solução de 0,5 mg mL⁻¹ de *Micrococcus lysodeikticus* (200µL) dissolvida em tampão fosfato pH 6,2 misturadas ao plasma sanguíneo (30 µL) e incubado a 35 °C. A leitura foi realizada espectrofotômetro em comprimento de onda 505 nm durante o tempo de 20 min. A curva de concentração de lisozima foi realizada a partir de reação na presença de diferentes concentrações de lisozima preparadas a partir de solução padrão estoque de lisozima de clara de ovo sobre o *M. lysodeikticus* por um período de vinte minutos. Os valores foram expressos em µg mL⁻¹.

2.4.4. Parâmetros hematológicos

Para determinar a concentração de hemoglobina do sangue total, o mesmo foi armazenado em microtubos sem anticoagulante, à 4° C até o momento da análise (48 horas). O princípio da técnica está relacionado a oxidação do Ferro (II) da hemoglobina carboxihemoglobina e oxihemoglobina formando hemiglobina (Hi) que se combina com cianeto ionizado para produzir o cianeto de hemiglobina (HiCN), que é colorido. Os testes foram realizados com kit comercial Labtest[®], as leituras foram realizadas por reação colorimétrica de ponto final em microplaca utilizando comprimento de onda de 540 nm. Todos os testes foram realizados em triplicata. Para a avaliação do microhematócrito o sangue foi coletado em capilares heparinizados que foram centrifugados durante cinco min a 10000 rpm. Para a contagem de eritrócitos, o sangue total foi diluído de 200 vezes em solução salina 0,8%

e a contagem realizada em câmara de Neubauer. Os cálculos de volume corpuscular médio, hemoglobina corpuscular média e concentração de hemoglobina corpuscular média foram realizados segundo protocolo De Paiva et al., (2013).

2.5. Análises estatísticas

Todos os dados foram submetidos a testes de normalidade dos dados e dos resíduos por Shapiro-Wilk e homogeneidade da variância pelo teste de Bartlett. Quando os pressupostos não foram atendidos os dados foram transformados por arco seno da raiz quadrada. Os dados foram apresentados com valor médio \pm erro padrão. Os dados do desenho experimental em fatorial foram avaliados pelo teste de variância através da ANOVA two-way. No desafio bacteriano, a avaliação entre os tratamentos foi realizada utilizando teste ANOVA one-way. Todas as análises foram realizadas com significância de 5% ($p < 0,05$). Para demonstrar diferença entre os tratamentos foi escolhido o teste de Tukey. O *Software* utilizado foi STATISTICA®10.0.

3 Resultados

3.1. FASE I Efeito da alimentação de parentais e prole sobre os parâmetros de desempenho zootécnico de pós-larvas de tilápia do Nilo até 40 dias

O peso final das pós-larvas não apresentou efeito interativo ($P=0,774$) quando os parentais e as proles foram alimentados com as rações contendo nucleotídeos (Tabela 3). Contudo, somente a alimentação das proles interferiram no peso corporal das pós-larvas ($P=0,000$), onde os peixes com maior peso final ($1,86 \pm 0,08$ e $1,83 \pm 0,01$ g) foram produzidos com as rações contendo 2,5 e 7,5g AS.kg⁻¹ (Fig. 1 e tabela 3). Não foi verificado efeito interativo para o comprimento padrão final (CPF) ($P=0,629$) e coeficiente de crescimento diário (CCD) ($P=0,826$) através das dietas experimentais (Tabela 3). Entretanto, apenas a inclusão de nucleotídeos na dieta da prole influenciou no CPF ($P=0,038$) e CCD ($P=0,000$) (Fig. 2 e tabela 3). A inclusão 7,5 g kg⁻¹ proporcionaram pós-larvas com maior tamanho ($3,77 \pm 0,23$ cm) e maior CCD ($2,48 \pm 0,03$).

A Biomassa final (BF) e total de ração fornecido (TRF) não apresentaram efeito interativo ($P=0,636$ e $P=0,427$) pelas dietas experimentais (Tabela 3). Porém, a BF apresentou efeito dos nucleotídeos adicionados a dieta da prole ($P=0,008$). A inclusão de 2,5 g AS kg⁻¹ proporcionou maior BF ($320,7 \pm 6,7$ g) demonstrado na Fig. 3. O TRF teve influência da inclusão de nucleotídeos na dieta de parentais e prole ($P=0,033$ e $P=0,013$) e foi verificado maior

consumo de ração ($222,2 \pm 6,21$ g) no tratamento onde parentais e prole foram alimentados com rações contendo $2,5$ g AS kg^{-1} (Fig. 3 e tabela 3). A inclusão de nucleotídeos na dieta dos parentais e prole não apresentou efeito interativo para sobrevivência ($P=0,466$). Entretanto, foi verificado efeito da inclusão de nucleotídeos na dieta dos parentais ($P=0,000$) sobre a sobrevivência da prole (Tabela 3). Foi encontrado maior sobrevivência entre os tratamentos onde parentais foram alimentados com 0 e $2,5$ g AS kg^{-1} (Fig. 4 e tabela 3). Os demais parâmetros zootécnicos avaliados não apresentaram efeito ($P>0,05$) pela inclusão de nucleotídeos na dieta de parentais e prole (Tabela 3).

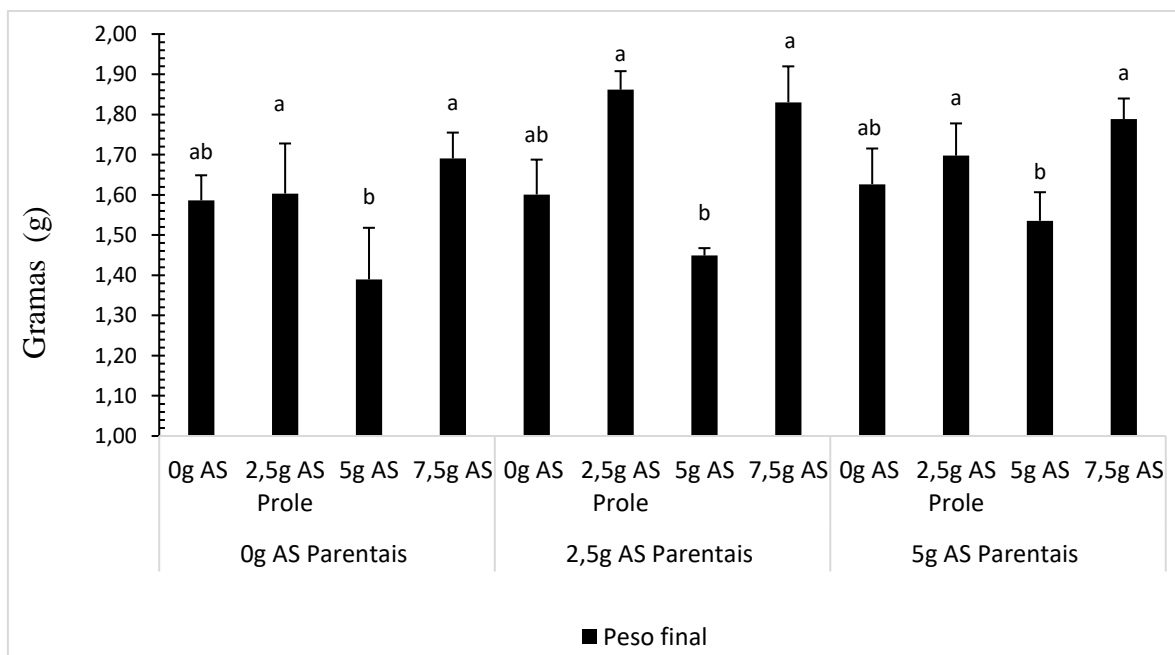


Fig. 1. Efeito da inclusão de nucleotídeos na dieta da prole sobre Peso final de pós-larvas após 40 dias de criação em laboratório. *g AS (gramas de Ascogen[®] por kg de ração), valores

expressos em média \pm erro padrão, letras diferentes indicam efeito da alimentação da prole (P=0,000).

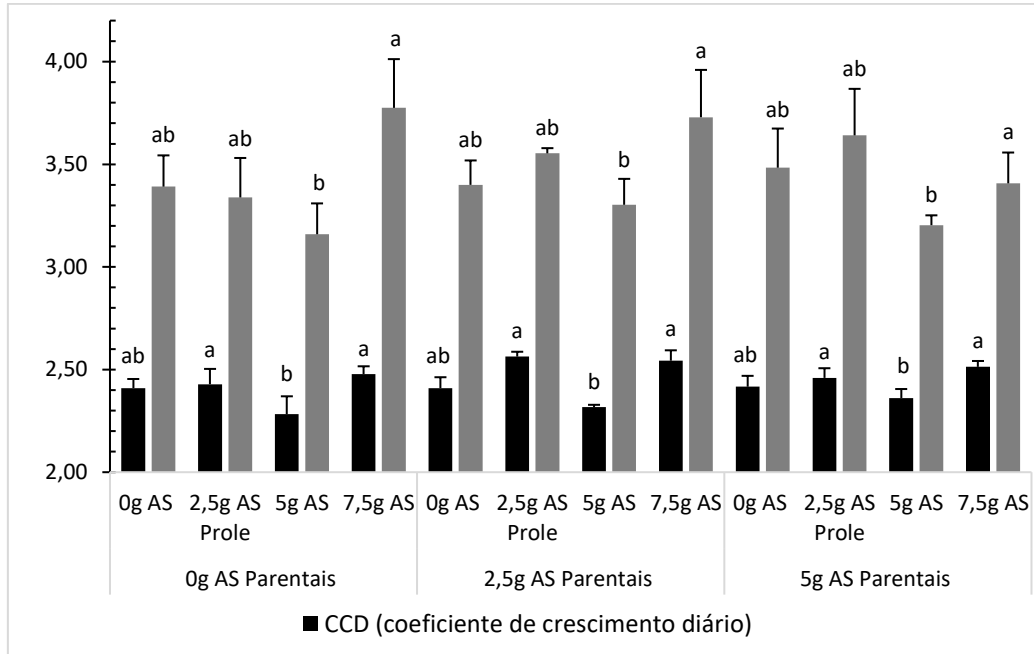


Fig. 2. Efeito da inclusão de nucleotídeos na dieta da prole sobre CCD e CPF em pós-larvas após 40 dias de criação em laboratório. *g AS (gramas de Ascogen[®] por kg de ração), valores expressos em média \pm erro padrão, letras diferentes indicam diferença para alimentação da prole CPF (P=0,038) e CCD (P=0,000).

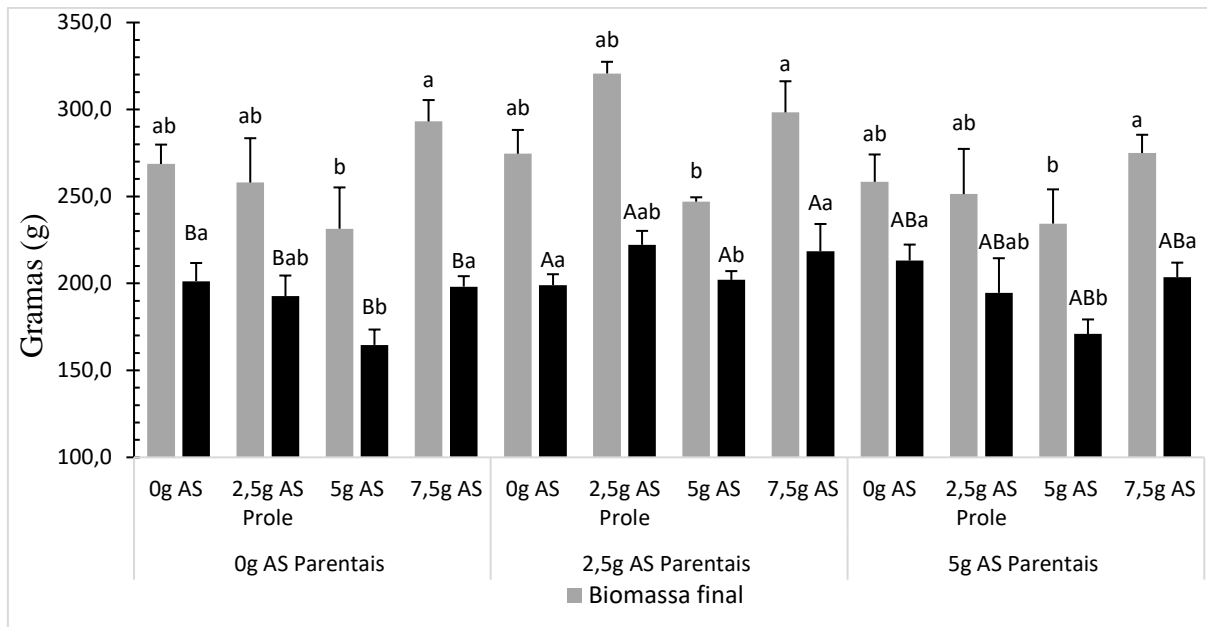


Fig. 3. Efeito da inclusão de nucleotídeos na dieta da prole sobre biomassa final e dos parentais e prole para total de ração fornecida para pós-larvas após 40 dias de criação em laboratório. *g AS (gramas de Ascogen[®] por kg de ração), valores expressos em média \pm erro padrão, letras

minúsculas diferentes indicam efeito pela alimentação da prole BF ($P=0,008$) e TRF ($P=0,013$) e letras maiúsculas diferentes indicam efeito da alimentação dos parentais TRF ($P=0,033$).

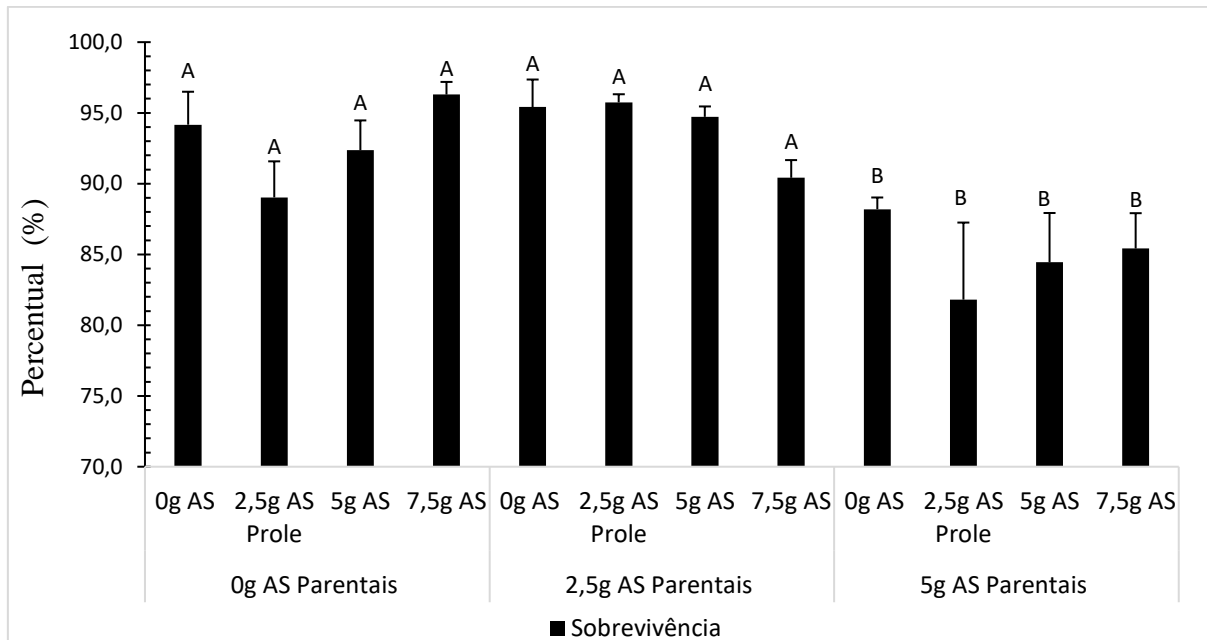


Fig. 4. Efeito da inclusão de nucleotídeos na dieta dos parentais sobre a sobrevivência de pós-larvas após 40 dias. *g AS (gramas de Ascogen[®] por kg de ração), valores expressos em média \pm erro padrão, letras maiúsculas diferentes indicam efeito pela alimentação dos parentais ($P=0,000$).

3.1.1. Avaliação da sobrevivência da prole em desafio de transporte com duração de 30 horas

Na simulação ao transporte a inclusão de nucleotídeos na dieta dos parentais e prole não apresentou efeito interativo ($P=0,215$). Porém, foi verificado maior sobrevivência dos juvenis através da inclusão de 2,5 e 5 g de nucleotídeos na dieta dos parentais ($P=0,000$). Maior percentual de sobrevivência ($97,2 \pm 1,6\%$) com a inclusão de 5 g AS na dieta da parentais e 2,5 g AS para a prole (Fig. 5 e tabela 3).

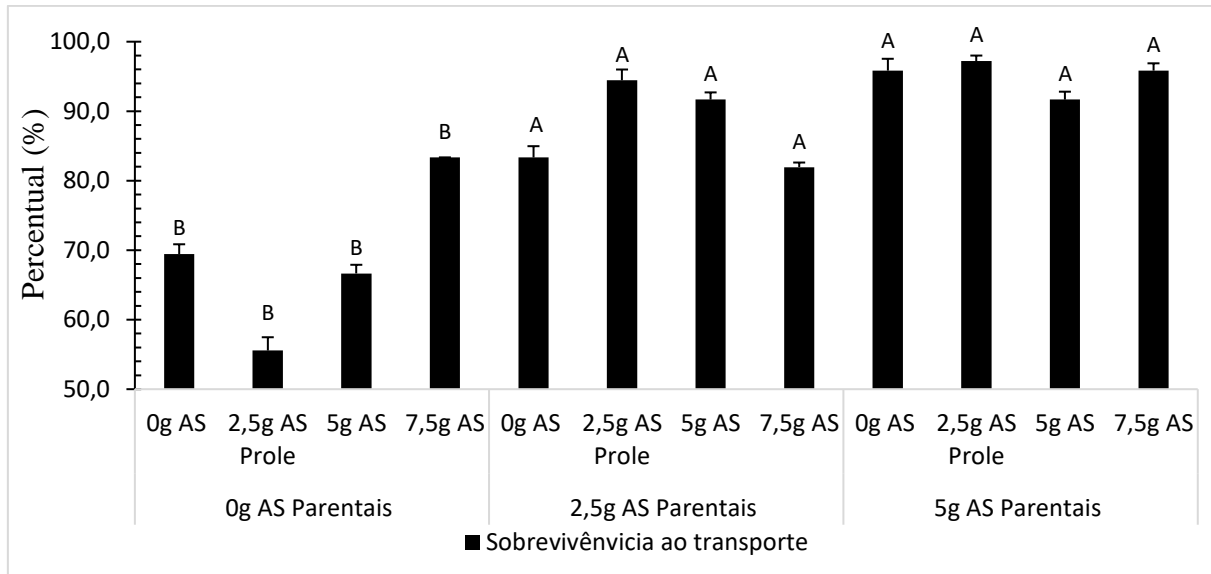


Fig. 5. Percentual de sobrevivência de juvenis de tilápia do Nilo em simulação ao transporte durante 30 horas. *g AS (gramas de Ascogen® por kg de ração), valores expressos em média \pm erro padrão, letras maiúsculas diferentes indicam efeito pela inclusão de nucleotídeos na dieta dos parentais ($P=0,000$).

1 Tabela 3 Efeito da adição de nucleotídeos na dieta de parentais, prole e sua interação sobre o desempenho zootécnico de pós-larvas de
2 tilápia do Nilo após 40 dias de alimentação experimental e sobrevivência ao transporte após 60 dias de cultivo.

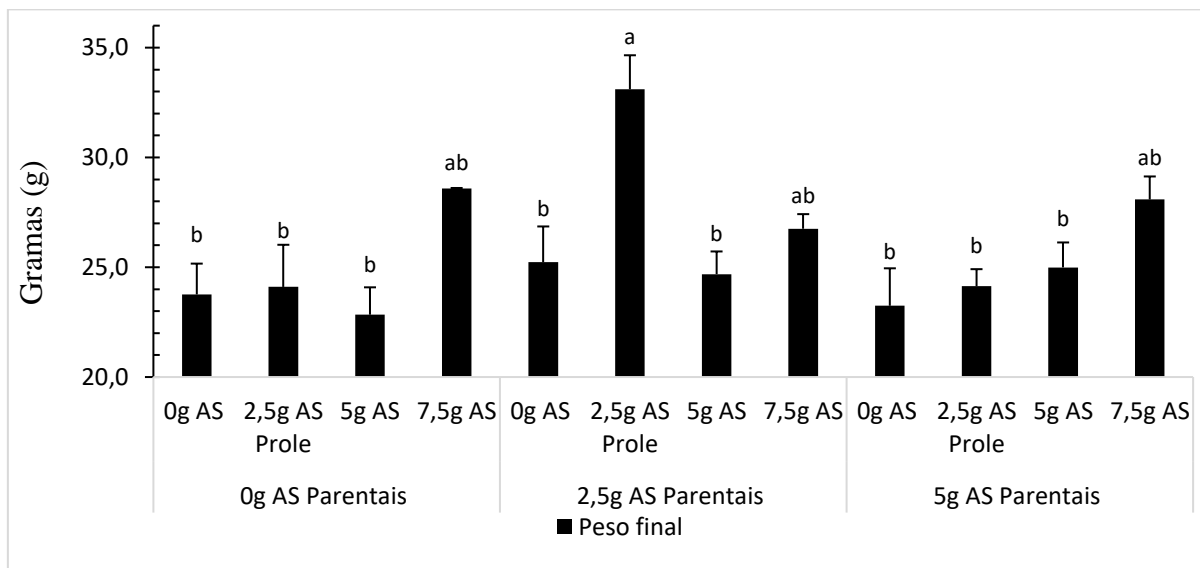
Parentais (g) AS Kg ⁻¹	Prole (g) AS Kg ⁻¹	Tratamentos	PI ¹	PF ²	BI ³	BF ⁴	S ⁵	CPI ⁶	CPF ⁷	FC ⁸	TRF ⁹	CAA ¹⁰	CCD ¹¹	ST ¹²	
0	0	P0/F0	0,0079	1,59 ^{ab}	1,480	268,7 ^{ab}	94,2 ^A	0,96	3,39 ^{ab}	0,043	201,3 ^{Ba}	0,750	2,41 ^{ab}	69,4 ^B	
0	2,5	P0/F2,5	0,0079	1,60 ^a	1,373	258,0 ^{ab}	89,0 ^A	0,96	3,34 ^{ab}	0,045	192,7 ^{Bab}	0,760	2,43 ^a	55,6 ^B	
0	5	P0/F5	0,0079	1,39 ^b	1,431	231,4 ^b	92,4 ^A	0,96	3,16 ^b	0,044	164,6 ^{Bb}	0,727	2,2 ^b	66,7 ^B	
0	7,5	P0/F7,5	0,0079	1,69 ^a	1,431	293,1 ^a	96,3 ^A	0,96	3,77 ^a	0,033	198,1 ^{Ba}	0,677	2,48 ^a	83,3 ^B	
2,5	0	P2,5/F0	0,0086	1,60 ^{ab}	1,548	274,5 ^{ab}	95,4 ^A	0,97	3,40 ^{ab}	0,041	199,1 ^{Aa}	0,727	2,41 ^{ab}	83,3 ^A	
2,5	2,5	P2,5/F2,5	0,0086	1,86 ^a	1,543	320,7 ^{ab}	95,7 ^A	0,97	3,55 ^{ab}	0,041	222,2 ^{Aab}	0,693	2,56 ^a	94,4 ^A	
2,5	5	P2,5/F5	0,0086	1,45 ^b	1,548	247,0 ^b	94,7 ^A	0,97	3,30 ^b	0,041	202,0 ^{Ab}	0,818	2,32 ^b	91,7 ^A	
2,5	7,5	P2,5/F7,5	0,0086	1,83 ^a	1,548	298,3 ^a	90,4 ^A	0,97	3,73 ^a	0,037	218,5 ^{Aa}	0,732	2,54 ^a	81,9 ^A	
5	0	P5/F0	0,0090	1,63 ^{ab}	1,625	258,4 ^{ab}	88,2 ^B	0,99	3,48 ^{ab}	0,041	213,1 ^{Aba}	0,828	2,42 ^{ab}	95,8 ^A	
5	2,5	P5/F2,5	0,0090	1,70 ^a	1,625	251,3 ^{ab}	81,8 ^B	0,99	3,64 ^{ab}	0,038	194,6 ^{ABab}	0,781	2,46 ^a	97,2 ^A	
5	5	P5/F5	0,0090	1,54 ^b	1,625	234,4 ^b	84,4 ^B	0,99	3,20 ^b	0,047	170,9 ^{ABb}	0,736	2,36 ^b	91,7 ^A	
5	7,5	P5/F7,5	0,0090	1,79 ^a	1,625	274,9 ^a	85,4 ^B	0,99	3,41 ^a	0,047	203,6 ^{Aba}	0,741	2,51 ^a	95,8 ^A	
Two-way ANOVA							P-valor								
Parentais			-	0,137	-	0,057	*0,000	-	0,791	0,734	0,033	0,246	0,303	0,000	
Prole			-	*0,000	-	*0,008	0,374	-	0,038	0,701	0,013	0,345	*0,000	0,815	
Interação Parentais/Prole			-	0,774	-	0,636	0,466	-	0,629	0,654	0,427	0,159	0,826	0,215	

3 ¹PI: Peso inicial (g). ²PF: Peso final (g). ³BI: Biomassa Inicial (g). ⁴BF: Biomassa final (g). ⁵S: Sobrevivência (%). ⁶CPI: Comprimento padrão inicial (cm). ⁷CPF: Comprimento padrão final (cm). ⁸FC: Fator de
4 condição. ⁹TRF: Total de ração fornecido (g). ¹⁰CAA: Conversão alimentar aparente. ¹¹CCD: Coeficiente de crescimento diário. ¹²ST: Sobrevivência ao transporte. Letras maiúsculas indicam diferença das dietas
5 experimentais dos Parentais, letras minúsculas indicam diferença das dietas da prole (p<0,05) sobre o desempenho da progênie.

6 3.2. FASE 2 Avaliação da inclusão de nucleotídeos na dieta de parentais e prole sobre
7 juvenis de tilápia do Nilo até 100 dias

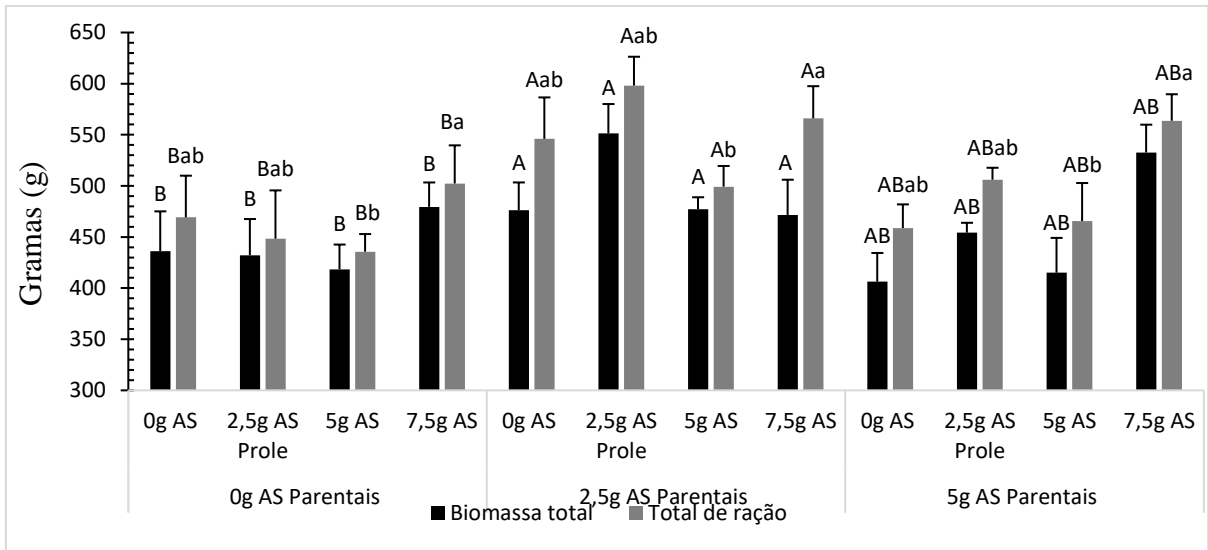
8 Após o período de inclusão de nucleotídeos na dieta dos parentais e 100 dias a inclusão
9 de nucleotídeos na dieta de prole, ocorreu efeito interativo sobre o peso final ($P=0,005$). O
10 tratamento onde os parentais e prole receberam 2,5 AS kg^{-1} na dieta produziu juvenis com maior
11 peso final ($31,1 \pm 1,55$ g) se diferenciando de todos os tratamentos (Fig. 3 e tabela 4).

12 O total de ração fornecido (TRF) e biomassa final (BF) não apresentaram efeito
13 interativo ($P=0,635$ e $P=0,130$) pela inclusão de nucleotídeos na dieta de parentais e prole
14 (Tabela 4). Contudo, a BF apresentou efeito dos nucleotídeos adicionados a dieta dos parentais
15 e prole ($P=0,039$ e $P=0,047$). A inclusão de 2,5 g AS kg^{-1} na dieta de parentais e prole
16 proporcionou maior BF ($551,3 \pm 28,7$ g) demonstrado na Fig. 3 e tabela 4. O TRF teve influência
17 da inclusão de nucleotídeos na dieta de parentais e prole ($P=0,002$, $P=0,038$) foi verificado
18 maior consumo de ração ($598,1 \pm 28,2$ g) no tratamento onde parentais e prole foram alimentados
19 com rações contendo 2,5 g AS kg^{-1} (Fig. 6 e tabela 4). Os demais parâmetros zootécnicos
20 avaliados ao final de 100 dias de cultivo não apresentaram efeito ($P>0,05$) pela inclusão de
21 nucleotídeos na dieta de parentais e prole (Tabela 4).



22

23 Fig. 6. Efeito da inclusão de nucleotídeos na dieta de parentais e prole sobre o peso médios de
24 juvenis após 100 dias de vida. *g AS (gramas de Ascogen[®] por kg de ração), valores expressos
25 em média \pm erro padrão, letras diferentes indicam efeito interativo da alimentação de parentais
26 e prole ($P=0,005$).



27

28 Fig. 7. Efeito da inclusão de nucleotídeos na dieta de parentais e prole sobre a biomassa total e
 29 o total de ração fornecida para juvenis após 100 dias de vida. *g AS (gramas de Ascogen[®] por
 30 kg de ração), valores expressos em média \pm erro padrão, letras maiúsculas indicam efeito pela
 31 inclusão de nucleotídeos na dieta dos parentais e letras minúsculas pela inclusão de nucleotídeos
 32 na dieta prole BF (P=0,039 e P=0,047) e TRF (P=0,002 e P=0,038).

33 Tabela 4 Efeito da adição de nucleotídeos na dieta de parentais, prole e sua interação sobre o desempenho zootécnico da prole após 100
34 dias de cultivo.

Parentais (g) AS Kg ⁻¹	Prole (g) AS Kg ⁻¹	Tratamentos	PI ¹	PF ²	BI ³	BF ⁴	S ⁵	CPI ⁶	CPF ⁷	FC ⁸	TRF ⁹	CAA ¹⁰	CCD ¹¹
0	0	P0/F0	0,0079	^b 23,8	0,147	436,2 ^B	90	0,96	8,30	0,043	469,1 ^{Bab}	1,16	6,42
0	2,5	P0/F2,5	0,0079	^b 24,1	0,137	432,1 ^B	88,7	0,96	8,46	0,040	448,3 ^{Bab}	1,11	6,43
0	5	P0/F5	0,0079	^b 22,8	0,143	418,3 ^B	92,5	0,96	8,26	0,041	435,5 ^{Bb}	1,12	6,34
0	7,5	P0/F7,5	0,0079	^{ab} 28,6	0,143	479,4 ^B	85	0,96	8,82	0,042	502,3 ^{Ba}	1,12	6,69
2,5	0	P2,5/F0	0,0086	^b 25,2	0,154	476,1 ^A	97,5	0,97	8,71	0,039	545,9 ^{Aab}	1,24	6,64
2,5	2,5	P2,5/F2,5	0,0086	^a 33,1	0,154	551,3 ^A	88,3	0,97	8,97	0,046	598,0 ^{Aab}	1,16	7,04
2,5	5	P2,5/F5	0,0086	^b 24,7	0,154	477,0 ^A	96,2	0,97	8,68	0,038	499,2 ^{Ab}	1,11	6,66
2,5	7,5	P2,5/F7,5	0,0086	^{ab} 26,8	0,154	471,5 ^A	96,2	0,97	8,64	0,042	566,0 ^{Aa}	1,32	6,61
5	0	P5/F0	0,0090	^b 23,2	0,162	406,3 ^{AB}	92,5	0,99	8,54	0,038	458,8 ^{ABab}	1,23	6,22
5	2,5	P5/F2,5	0,0090	^b 24,1	0,162	454,2 ^{AB}	95	0,99	8,59	0,038	506,03 ^{ABab}	1,20	6,51
5	5	P5/F5	0,0090	^b 25,0	0,162	415,0 ^{AB}	90	0,99	8,80	0,038	465,5 ^{ABb}	1,21	6,27
5	7,5	P5/F7,5	0,0090	^{ab} 28,1	0,162	532,6 ^{AB}	97,5	0,99	8,90	0,040	563,6 ^{ABa}	1,13	6,92
Two-way ANOVA							P-valor						
Parentais			-	*0,017	-	*0,039	0,084	-	0,214	0,500	*0,002	0,239	0,056
Prole			-	*0,001	-	*0,047	0,840	-	0,571	0,805	*0,038	0,655	0,055
Interação Parentais/Prole			-	*0,005	-	0,13	0,330	-	0,793	0,890	0,635	0,635	0,194

¹PI: Peso inicial (g). ²PF: Peso final (g). ³BI: Biomassa Inicial (g). ⁴BF: Biomassa final (g). ⁵S: Sobrevivência (%). ⁶CPI: Comprimento padrão inicial (cm). ⁷CPF: Comprimento padrão final (cm). ⁸FC: Fator de condição. ⁹TRF: Total de ração fornecido (g). ¹⁰CAA: Conversão alimentar aparente. ¹¹CCD: Coeficiente de crescimento diário. Letras maiúsculas indicam diferença das dietas experimentais dos parentais, letras minúsculas indicam diferença das dietas da prole e letras minúsculas a frente das médias indica efeito interativo (p<0,05) sobre o desempenho da progênie.

38 *3.2.1. Índices hematológicos em juvenis de tilápia do Nilo*

39 Em relação aos parâmetros hematológicos em juvenis de tilápia do Nilo (tabela 5), o
40 percentual de hematócrito, número de eritrócitos, taxa de hemoglobina, volume corpuscular
41 médio, hemoglobina corpuscular média e concentração de hemoglobina corpuscular média
42 não apresentaram diferença ($P>0,05$).

43 Tabela 5 Efeito da adição de nucleotídeos na dieta de parentais e prole sobre os índices
44 hematológicos de juvenis de tilápia do Nilo após 100 dias de cultivo.

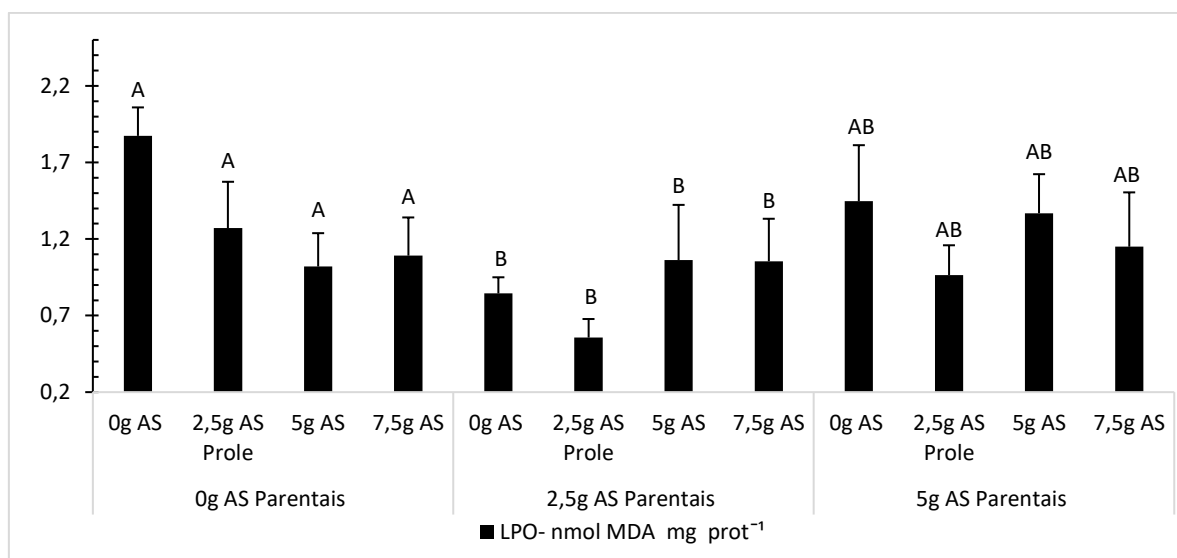
Parentais (g) AS Kg ⁻¹	Prole (g) AS Kg ⁻¹	Tratamentos	Hematócrito (%)	N ^o E ¹	Taxa hemoglobina ³	VCM ²	HCM ³	CHCM ⁴
0	0	P0/F0	39,39	1,23	5,97	320,73	49,12	15,24
0	2,5	P0/F2,5	42,03	1,25	6,50	337,37	52,45	15,50
0	5	P0/F5	38,24	1,04	7,21	372,20	69,72	18,84
0	7,5	P0/F7,5	37,50	1,08	7,60	344,38	69,82	20,50
2,5	0	P2,5/F0	39,11	1,09	5,92	367,56	53,52	14,10
2,5	2,5	P2,5/F2,5	38,48	1,17	5,74	319,92	47,48	15,00
2,5	5	P2,5/F5	38,82	1,13	6,66	341,05	77,03	23,08
2,5	7,5	P2,5/F7,5	38,35	1,14	4,59	338,28	40,67	11,95
5	0	P5/F0	39,62	1,22	5,56	324,13	45,42	14,13
5	2,5	P5/F2,5	37,43	1,13	5,19	334,65	46,11	12,00
5	5	P5/F5	39,67	1,20	6,76	333,17	56,20	17,06
5	7,5	P5/F7,5	39,71	1,13	6,73	352,63	59,44	16,91
Two-way ANOVA			P-valor					
Parentais			0,338	0,671	0,212	0,789	0,164	0,284
Prole			0,412	0,278	0,457	0,598	0,192	0,428
Interação Parentais/Prole			0,219	0,094	0,699	0,514	0,488	0,699

45 ¹N^o E: Número de eritrócitos ($\times 10^6/\text{mm}^3$). ²VCM: Volume corpuscular médio (fL). ³HCM: Hemoglobina corpuscular média. ⁴CHCM:
46 Concentração de hemoglobina corpuscular média.

47 *3.2.2. Avaliação de Parâmetros de estresse oxidativo em fígado de tilápia do Nilo com*
48 *parentais e prole alimentadas com nucleotídeos.*

49 Em avaliação dos parâmetros de estresse oxidativo não foi verificado efeito interativo
50 sobre a atividade da CAT ($P=0,335$) e sobre a lipoperoxidação (LPO) ($P=0,424$) pela inclusão
51 de nucleotídeos na dieta de parentais e prole (Fig. 8 e tabela 6). Porém, a adição de 2,5 e 5 g
52 nucleotídeos kg⁻¹ na dieta dos parentais proporcionou menores valores médios de LPO
53 ($P=0,010$) no fígado da prole (Fig. 8 e tabela 6). O tratamento onde parentais e prole receberam

54 2,5 g AS kg⁻¹ apresentou a menor média (0,55±0,12 nmol) de LPO (Fig.8 e tabela 6.) A
 55 atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) não apresentou efeito(P>0,05) pela inclusão
 56 de nucleotídeos na dieta dos parentais e prole (Tabela 6).



57

58 Fig. 8. Efeito da adição de nucleotídeos na dieta de parentais sobre médias de LPO em fígado
 59 de juvenis de tilápia do Nilo após 100 dias de cultivo. * g AS (gramas de Ascogen[®] por kg de
 60 ração), valores expressos em média ± erro padrão, letras maiúsculas diferentes indicam efeito
 61 pela inclusão de nucleotídeos na dieta de parentais (P=0,010).

62 3.2.3. Atividade de Aspartato Aminotransferase (TGO), Alanina Aminotransferase (TGP)
 63 em fígado e lisozima sérica de juvenis de tilápia do Nilo

64 A atividade das enzimas TGO, TGP e lisozima sérica não apresentaram efeito (P>0,05)
 65 pela inclusão de nucleotídeos na dieta de parentais e prole após 100 dias de cultivo (Tabela
 66 6).

67 Tabela 6 Parâmetros bioquímicos em fígado de juvenis de tilápia do Nilo.

Parentais (g) AS Kg ⁻¹	Prole (g) AS Kg ⁻¹	Tratamentos	CAT ¹	LPO ²	SOD ³	TGO ⁴	TGP ⁵	LIS ⁶
0	0	P0/F0	0,410	1,873 ^A	1,436	243,6	349,8	151,8
0	2,5	P0/F2,5	0,310	1,271 ^A	1,666	214,2	241,2	151,0
0	5	P0/F5	0,456	1,020 ^A	1,599	173,8	228,8	137,7
0	7,5	P0/F7,5	0,356	1,092 ^A	1,703	222,4	274,2	165,8
2,5	0	P2,5/F0	0,434	0,845 ^B	2,278	181,6	214,9	153,4
2,5	2,5	P2,5/F2,5	0,634	0,556 ^B	1,951	220,2	244,7	129,7
2,5	5	P2,5/F5	0,462	0,688 ^B	1,874	255,0	313,7	153,5
2,5	7,5	P2,5/F7,5	0,572	1,054 ^B	1,702	204,4	293,5	171,9

5	0	P5/F0	0,414	1,166 ^{AB}	2,901	197,4	240,3	144,3
5	2,5	P5/F2,5	0,559	0,784 ^{AB}	1,728	246,8	287,5	146,8
5	5	P5/F5	0,507	0,993 ^{AB}	2,324	199,5	246,1	155,5
5	7,5	P5/F7,5	0,432	1,053 ^{AB}	1,550	217,1	272,6	130,3
Two-way ANOVA					P-valor			
Parentais			*0,041	*0,010	0,097	0,107	0,297	0,501
Prole			0,607	0,101	0,236	0,883	0,923	0,524
Interação Parentais/Prole			0,335	0,424	0,318	0,520	0,335	0,101

68 ¹CAT: Catalase- (mmol. de H₂O₂ degradados x min⁻¹ x mg prot⁻¹). ²SOD: Superóxido dismutase – (U. mg prot⁻¹). ³LPO: lipoperoxidação –
69 (nmol MDA mg prot⁻¹). ⁴TGO: Aspartato Aminotransferase - (U L⁻¹ mg prot⁻¹). ⁵TGP: Alanina Aminotransferase - (U L⁻¹ mg prot⁻¹). Lisozima
70 (ug L⁻¹). Letras maiúsculas diferentes indicam efeito (p<0,05).

71 3.2.4. Desafio de resistência em juvenis de tilápia do Nilo contra *Aeromonas hydrophila*

72 Os parâmetros sanguíneos dos juvenis não apresentaram efeito (P>0,05) pela inclusão
73 de nucleotídeos na dieta de parentais e prole, tanto em animais injetados com soro fisiológico
74 ou inoculados com *A. hydrophila* (Tabela 7).

75 Tabela 7 Índices hematológicos após inoculação com *Aeromonas hydrophila* e soro
76 fisiológico em juvenis de tilápia do Nilo.

Tratamentos	Inoculados com 0,1 mL/	H (%) ¹	N° E ²	T H ³	VCM ⁴	HCM ⁵	CHCM ⁶
P0/F0	Soro fisiológico	32,32	1,91	10,37	169,55	54,36	32,39
	<i>A. hydrophila</i>	36,07	1,86	9,35	194,10	50,33	26,04
P0/F2,5	Soro fisiológico	32,52	1,55	8,63	211,02	56,14	26,50
	<i>A. hydrophila</i>	33,71	1,90	8,54	178,22	45,24	25,38
2,5/F2,5	Soro fisiológico	32,67	1,77	9,31	184,43	52,43	28,48
	<i>A. hydrophila</i>	33,98	1,81	9,27	193,72	53,38	27,28
One-way ANOVA		P-valor					
Tratamentos		0,135	0,096	0,104	0,136	0,457	0,052

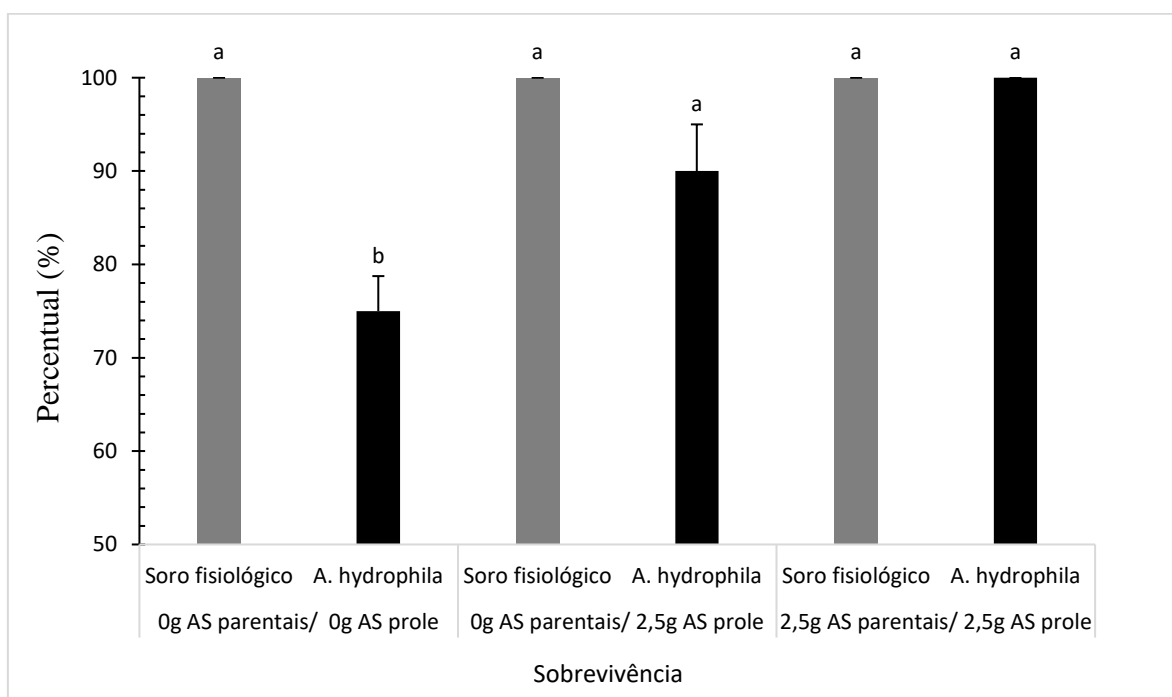
77 ¹Hematócrito (%). ²Número de eritrócitos (x10⁶/mm³). ³Taxa de hemoglobina Fentolitros (fL). ⁴Volume corpuscular médio. ⁵Hemoglobina
78 corpuscular média. ⁶Concentração de hemoglobina corpuscular média.

79 3.2.5. Avaliação da sobrevivência e parâmetros bioquímicos de juvenis de tilápia do Nilo 80 após desafio bacteriano

81 A adição de 2,5 g AS kg⁻¹ na dieta de parentais e prole demonstrou efeito (P=0,002)
82 positivo na sobrevivência (Fig. 9 e tabela 8), apresentando maior média de sobrevivência

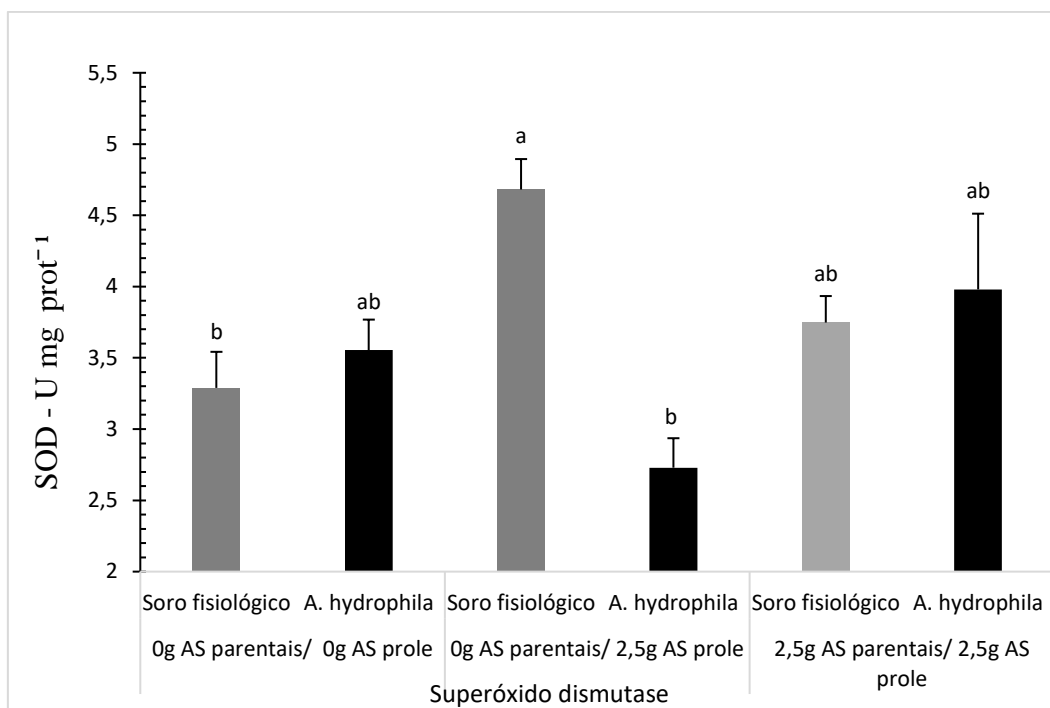
83 (100%) em juvenis desafiados com *A. hydrophila*. A enzima superóxido dismutase apresentou
 84 efeito ($P=0,034$) pela inclusão de nucleotídeos na dieta de parentais e prole (Fig. 10 e tabela
 85 8). Foi encontrada maior atividade ($4,68\pm 0,21$ U mg prot⁻¹) no tratamento onde parentais não
 86 receberam nucleotídeos e a prole recebeu na dieta 2,5 g AS kg⁻¹ (P0/F2,5) (Fig. 10).

87 A TGP apresentou efeito ($P=0,002$) no fígado pela inclusão de nucleotídeos na dieta
 88 de parentais e prole (Fig. 11 e tabela 8). O tratamento onde parentais e prole não receberam
 89 nucleotídeos na ração (P0/F0) em animais injetados com *A. hydrophila* apresentou maior
 90 média ($199,67\pm 8,93$ U L⁻¹ mg prot⁻¹) após desafio bacteriano (Fig. 11). Os demais parâmetros
 91 não apresentaram diferença ($P>0,05$) pela inclusão de nucleotídeos na dieta de parentais e
 92 prole no desafio bacteriano (Tabela 8).



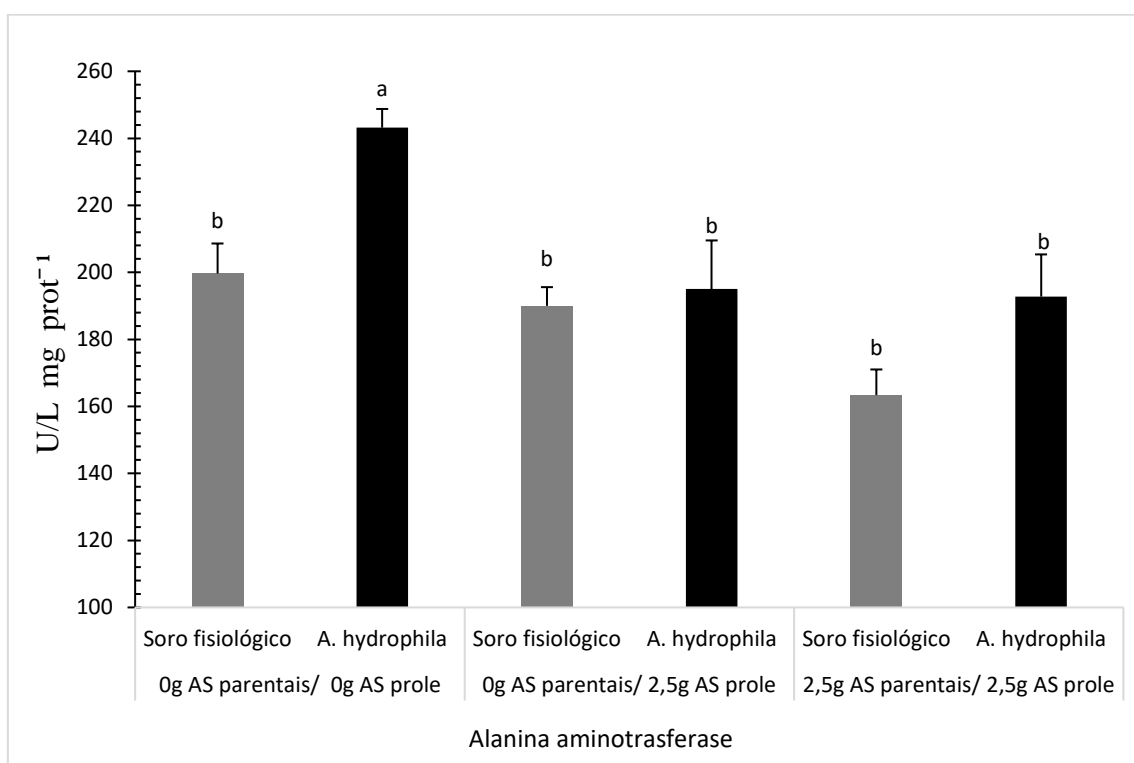
93

94 Fig. 9. Efeito da adição de nucleotídeos na dieta dos parentais e prole sobre a sobrevivência
 95 após 15 dias de desafio bacteriano. *g AS (gramas de Ascogen[®] por kg de ração), valores
 96 expressos em média \pm erro padrão, letras diferentes indicam diferença pela inclusão de
 97 nucleotídeos na dieta de parentais e prole ($P=0,002$).



98

99 Fig. 10. Efeito da adição de nucleotídeos na dieta dos parentais e prole sobre a Atividade da
 100 enzima superóxido dismutase em fígado de juvenis de tilápia com e sem desafio bacteriano.
 101 *g AS (gramas de Ascogen[®] por kg de ração), valores expressos em média \pm erro padrão,
 102 letras diferentes indicam diferença pela inclusão de nucleotídeos na dieta de parentais e prole
 103 (P=0,034).



104

105 Fig. 11. Efeito da adição de nucleotídeos na dieta dos parentais e prole sobre a Atividade da
 106 enzima alanina aminotransferase em fígado de juvenis de tilápia com e sem desafio bacteriano.
 107 *g AS (gramas de Ascogen[®] por kg de ração), valores expressos em média \pm erro padrão,

108 letras diferentes indicam diferença pela inclusão de nucleotídeos na dieta de parentais e prole
109 (P=0,029).

110 Tabela 8 Sobrevivência e parâmetros bioquímicos em fígado e plasma de juvenis de tilápia
111 do Nilo pré e pós inoculação com *Aeromonas hydrophila* e soro fisiológico.

Tratamentos	Inoculados com 0,1 mL/	S ¹	CAT ²	SOD ³	LPO ⁴	TGO ⁵	TGP ⁶	LIS ⁷
P0/F0	Soro fisiológico	100 ^a	0,537 ^b	3,28 ^{ab}	3,67	368,7	199,7 ^{ab}	162,5
	<i>A. hydrophila</i>	75 ^b	0,753 ^b	3,55 ^{ab}	3,54	390,2	243,2 ^a	167,9
P0/F2,5	Soro fisiológico	95 ^a	0,626 ^b	4,68 ^a	3,53	290,5	190,0 ^{ab}	167,8
	<i>A. hydrophila</i>	90 ^{ab}	0,781 ^b	2,72 ^b	3,58	370,1	195,0 ^{ab}	154,9
P2,5/F2,5	Soro fisiológico	100 ^a	0,715 ^b	3,74 ^{ab}	3,37	339,9	163,4 ^b	146,3
	<i>A. hydrophila</i>	100 ^a	0,850 ^b	3,97 ^{ab}	3,42	303,9	192,8 ^{ab}	164,5
One-way ANOVA				P-valor				
Tratamentos		0,002	0,188	0,034	0,714	0,331	0,029	0,106

112 ¹Sobrevivência em 15 dias, ²CAT: Catalase- (mmol. de H₂O₂ degradados x min⁻¹ x mg prot⁻¹). ³SOD: Superóxido dismutase - (U. mg prot⁻¹).
113 ⁴LPO: lipoperoxidação - (nmol TBARS mg prot⁻¹). ⁵TGO: Aspartato Aminotransferase - (U L⁻¹ mg prot⁻¹). ⁶TGP: Alanina
114 Aminotransferase - (U L⁻¹ mg prot⁻¹). ⁷LIS: Lisozima (U L⁻¹). Letras diferentes indicam diferença entre os tratamentos (p<0,05).

115 4 Discussão

116 A utilização de nucleotídeos dietéticos tem demonstrado melhorar a saúde (Shiau et
117 al., 2015) e crescimento para diversas espécies de peixes, como a tilápia híbrida (*Oreochromis*
118 *niloticus* ♀ × *O. aureus* ♂) (Xu et al., 2015), turbot (*Psetta maxima*) (Peng et al., 2013) e truta
119 arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (Tahmasebi-Kohyani et al., 2012). No presente estudo a
120 inclusão de nucleotídeos na dieta de parentais demonstrou claro benefício na resistência e
121 crescimento da prole, nas fases de pós-larvas e juvenis. A adição de nucleotídeos na dieta de
122 parentais proporcionou melhora nos parâmetros zootécnicos de pós-larvas e juvenis. Estes
123 efeitos podem estar relacionados, à melhora no funcionamento do sistema antioxidante
124 (Tabela 6), demonstrado pela estabilidade da LPO em fígado de juvenis onde os parentais
125 foram alimentados com 2,5 g AS kg⁻¹, esses tratamentos, apresentaram menores médias e os
126 tratamentos sem adição de nucleotídeos para parentais teve as médias mais elevadas. A adição
127 dos nucleotídeos na ração também contribuiu para a melhora da sobrevivência a simulação de
128 transporte e desafio bacteriano. A nutrição de reprodutores desempenha funções fundamentais
129 para o bom desenvolvimento da prole.

130 Whitehead et al., (1985) a nutrição de reprodutores de frango é responsável pelo
131 fornecimento de nutrientes e minerais para o ovo. Uma suplementação dietética durante 50
132 semanas demonstrou afetar a eclodibilidade e normalidade da prole. Em humanos Godfrey &
133 Barker (2000) apontam que a nutrição materna atua na programação para o crescimento,
134 principais funções dos órgãos e desenvolvimento do feto. Desordens nesta etapa inicial de
135 desenvolvimento podem afetar o crescimento, favorecendo o desenvolvimento de doenças em
136 fases posterior da vida da prole. A nutrição afeta a padronização da vascularização dos órgãos
137 durante a organogênese, e esta pode afetar o transporte de nutrientes pelo sangue ou
138 sinalização de hormônios (Waterland & Garza 1999).

139 Melhora no crescimento com a adição de nucleotídeos na dieta tem sido relatada para
140 salmão (*Salmo salar*) (Burrells et al., 2001), para red drum, (*Sciaenops ocellatus*) (Li et al.,
141 2007), truta arco-íris (Adamek et al., 1996) e tilápia (Barros et al., 2013). No presente estudo,
142 com a inclusão de 2,5 g AS kg⁻¹ na dieta da prole, também foi verificado uma melhora no
143 crescimento e saúde. Ainda foi verificado o efeito interativo da adição de 2,5 g de nucleotídeos
144 na dieta de parentais e prole, onde o peso final dos juvenis foi 39% maior comparado ao
145 controle sem a adição de nucleotídeos. Esta melhora no crescimento pode estar relacionada
146 com a regulação da expressão gênica (GH, GRH-1 IGF-1 e IGF-2), pois, utilizando níveis de
147 0, 0.1, 0.2, 0.4 e 0.8% de inosina monofosfatase na dieta de tilápia do Nilo, Asaduzzaman et
148 al., (2017) encontraram resultados positivos para o crescimento de juvenis. Estes autores
149 avaliaram a expressão gênica e encontraram relação do crescimento com a regulação positiva
150 da expressão do RNA mensageiro assim como promoveu o aumento do crescimento muscular
151 através da hipertrofia e hiperplasia. Guo et al., (2017) utilizando nucleotídeos dietéticos para
152 zebra fish (*Danio rerio*) encontraram melhora no desempenho de crescimento. Estes autores
153 utilizando o ensaio *Alamar Blue* demonstraram uma taxa metabólica 28% menor comparado
154 ao controle (sem nucleotídeos na dieta) relacionando o melhor crescimento com a redução do
155 gasto de energia.

156 O consumo de ração foi maior nos tratamentos onde os parentais e prole foram
157 alimentados com 2,5 g de nucleotídeos kg⁻¹ de ração tanto para pós-larvas quanto para juvenis
158 (Tabela 3 e 4). Em trabalho com turbot (*Scophthalmus maximus*), Mackie & Adron (1978)
159 demonstraram efeito químico atrativo de nucleotídeos e nucleosídeos. Esse efeito atrativo
160 pode ter contribuído para o maior consumo das dietas experimentais contendo nucleotídeos.
161 Metailler et al., (1983) encontraram maior crescimento de dover sole (*Solea vulgaris*) pela
162 inclusão de nucleotídeo na dieta, e levantaram a hipótese que a maior atratividade da dieta

163 com nucleotídeos resultou em um consumo da ração em menor tempo, evitando assim a
164 lixiviação de importantes nutrientes da ração.

165 No presente estudo os parâmetros hematológicos foram considerados normais para a
166 espécie, descritos por Weiss & Wardrop (2010). Os níveis utilizados de 2,5 a 7,5 g de AS kg⁻¹
167 de ração são considerados seguros sem alterar índices hematológicos. Em estudos com
168 juvenis de tilápia, Barros et al., (2013), utilizando nucleotídeos dietéticos também não
169 encontraram diferença nos parâmetros hematológicos. Neste trabalho a melhora do sistema
170 antioxidante ocasionada pela inclusão de nucleotídeos na dieta de parentais pode ter auxiliado
171 na sobrevivência dos animais desafiados ao transporte e com bactéria (Tabela 3 e 8), pois o
172 estado do sistema de defesa antioxidante pode estar relacionado ao estado fisiológico do
173 indivíduo e a sua dieta (Crouch et al., 1981).

174 Ainda, a maior sobrevivência contra *A. hydrophila*, pode ser resultado de uma melhora
175 do sistema de defesa, especificamente em processo inflamatório dos animais, através das
176 citosinas pró e anti-inflamatórias atuando contra o patógeno. Guo et al., (2017) utilizando
177 nucleotídeos dietéticos para zebra fish encontraram uma melhora na saúde avaliando citocinas
178 pró-inflamatórias (tnfa, il1b, ptgs1, il8, il8l2 e il12a) e citocinas anti-inflamatórias (il10 e
179 tgfb), onde encontraram redução no estado inflamatório na cabeça do rim dos animais
180 desafiados.

181 No desafio contra *A. hydrophila*, tratamento sem inclusão de nucleotídeos na dieta de
182 parentais e prole (P0/F0) apresentou animais com ulcerações, hiperplasia, pontos
183 hemorrágicos e mortalidade após o segundo dia de inoculação da bactéria. Além disso, os
184 animais não consumiram a ração até o final do desafio. Este tratamento (P0/F0) apresentou
185 maior atividade de TGP (Tabela 8) durante o desafio. Segundo Nelson & Cox (2014), a alta
186 atividade das aminotransferases pode estar relacionada à infecções hepáticas, quadro clínico
187 observados nos animais desafiados deste tratamento.

188 Em geral, pesquisas com nutrição de reprodutores têm demonstrado efeito sobre a
189 progênie (Izquierdo et al., 2015; Morais et al., 2016). Entretanto, trabalhos com nutrição de
190 reprodutores têm avaliado efeitos em períodos curtos de desenvolvimento e desempenho da
191 prole (Gunasekera et al., 1996; Souza et al., 2013; Al-Feky et al., 2016; Lazzarotto et al.,
192 2016). Com a execução do presente estudo foi possível verificar aos 40 dias de alimentação
193 da prole apresentou apenas efeito isolado da alimentação de parentais e prole para o
194 crescimento. Porém, um período mais prolongado da alimentação da prole (100 dias), o efeito
195 interativo encontrado, demonstrando a importância a avaliação da progênie durante períodos
196 ficou mais evidente.

197 5 Conclusão

198 A inclusão de nucleotídeos na dieta de parentais e prole apresentam efeito benéfico do
199 estado oxidativo do fígado, efeito interativo para o crescimento de juvenis e maior resistência
200 ao desafio de transporte e bacteriano. Recomenda-se a utilização de 2,5 g de nucleotídeos kg⁻¹
201 na dieta de parentais e prole.

202 Referências

- 203 Adamek, Z., Hamačkova, J., Kouril, J., Vachta, R., & Stibranyiova, I. (1996). Effect of
204 ascogen probiotics supplementation on farming success in rainbow trout (*Oncorhynchus*
205 *mykiss*) and wels (*Silurus glanis*) under conditions of intensive culture. *Krmiva*, 38, 11-20.
- 206 Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in enzymology*, 105, 121-126.
207 doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3.
- 208 Al-Feky, S. S. A., El-Sayed, A. F., & Ezzat, A. A. (2016). Dietary taurine improves
209 reproductive performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock. *Aquaculture*
210 *nutrition*, 22(2), 392-399.
- 211 Aly, S. M., Abd-El-Rahman, A. M., John, G., & Mohamed, M. F. (2008). Characterization of
212 some bacteria isolated from *Oreochromis niloticus* and their potential use as probiotics.
213 *Aquaculture*, 277, 1-6. doi: org/10.1016/j.aquaculture.2008.02.021.
- 214 Anguiano, M. (2012). Effects of Dietary Nucleotides on Growth, Immunology, and Disease
215 Resistance of Juvenile Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) (Doctoral dissertation, Texas
216 A & M University).
- 217 Arshadi, A., Yavari, V., Oujifard, A., Mousavi, S. M., Gisbert, E., & Mozanzadeh, M. T.
218 (2010). Dietary nucleotide mixture effects on reproductive and performance, ovary fatty
219 acid profile and biochemical parameters of female Pacific shrimp *Litopenaeus vannamei*.
220 *Aquaculture Nutrition*, 303, 40-49. doi:org/10.1016/j.aquaculture.2010.03.009.
- 221 Asaduzzaman, M., Ikeda, D., Abol-Munafi, A. B., Bulbul, M., Ali, M. E., Kinoshita, S. &
222 Kader, M. A. (2017). Dietary supplementation of inosine monophosphate promotes cellular
223 growth of muscle and upregulates growth-related gene expression in Nile tilapia
224 *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 468, 297-306. Doi:
225 10.1016/j.aquaculture.2016.10.033.
- 226 Baldisserotto, B., & Gomes, L. C. (2013). Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Santa
227 Maria, UFSM. doi: 10.1016/j.aquaculture.2016.10.033.
- 228 Barros, M. M., Guimarães, I. G., Pezzato, L. E., Oliveira Orsi, R., Fernandes Junior, A. C.,
229 Teixeira, C. P., & Padovani, C. R. (2013). The effects of dietary nucleotide mixture on

- 230 growth performance, haematological and immunological parameters of Nile tilapia.
231 Aquaculture Research, 46, 987-993. doi: 10.1111/are.12229.
- 232 Bombardelli, R. A., Hayashi, C., Natali, M. R. M., Sanches, E. A., & Piana, P. A. (2009).
233 Desempenho reprodutivo e zootécnico e deposição de lipídios nos hepatócitos de fêmeas
234 de tilápia-do-nilo alimentadas com rações de diversos níveis energéticos. Revista Brasileira
235 de Zootecnia, 1391-1399. doi:org/10.1590/S1516-35982009000800001.
- 236 Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram
237 quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical biochemistry,
238 72(1-2), 248-254. doi: 10.1016/0003-2697(76)90527-3.
- 239 Buege, J. A., & Aust, S. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. Methods in enzymology,
240 52, 302-310. doi: 10.1016/S0076-6879(78)52032-6.
- 241 Burrells, C., Williams, P. D., Southgate, P. J., & Wadsworth, S. L. (2001). Dietary nucleotides:
242 a novel supplement in fish feeds: 2. Effects on vaccination, salt water transfer, growth rates
243 and physiology of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Aquaculture, 199, 171-184.
244 doi:org/10.1016/S0044-8486(01)00576-2.
- 245 Carver, J. D., & Walker, W. A. (1995). The role of nucleotides in human nutrition. The Journal
246 of Nutritional Biochemistry, 6, 58-72. doi:org/10.1016/0955-2863(94)00019-I.
- 247 Conselho Federal de Medicina Veterinária. (2012) Procedimentos e métodos de eutanásia em
248 animais e dá outras providências. Resolução n. 1000, de 11 de maio de 2012.
- 249 Crouch, R. K., Gandy, S. E., Kimsey, G., Galbraith, R. A., Galbraith, G. M., & Buse, M. G.
250 (1981). The inhibition of islet superoxide dismutase by diabetogenic drugs. Diabetes, 30,
251 235-241. doi:org/10.2337/diab.30.3.235.
- 252 De Moura, P. R., & Vidal, F. A. P. (2011). Transdução de sinais: uma revisão sobre proteína
253 G. Scientia Medica, 21, 31-36.
- 254 De Paiva, M. J. T. R., de Pádua, S. B., Tavares-Dias, M., & Egami, M. I. (2013). Métodos
255 para análise hematológica em peixes. Maringá, EDUEM.
- 256 Eiras, J. D. C., Takemoto, R. M., Pavanelli, G. C., & Adriano, E. A. (2010). Diversidade dos
257 parasitas de peixes de água doce do Brasil. Maringá: Clichetec.
- 258 Ellis, Anthony E. (1990) .Lysozyme assays. Techniques in fish immunology, 1, 101-103.
- 259 El-Sayed, A. F. M. (2002). Effects of stocking density and feeding levels on growth and feed
260 efficiency of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fry. Aquaculture research, 33, 621-
261 626. doi:10.1046/j.1365-2109.2002.00700.x.

- 262 Fernández-Palacios, H., Izquierdo, M. S., Robaina, L., Valencia, A., Salhi, M., & Vergara, J.
263 (1995). Effect of n-3 HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead sea bream
264 (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture*, 132, 325-337. doi:org/10.1016/0044-8486(94)00345-0.
- 265 Fernando, R. U. T. Z., Rossi, P., & Xavier, E. G. (2007). NUCLEOTÍDEOS NA NUTRIÇÃO
266 ANIMAL. *Current Agricultural Science and Technology*, 13, 5-12.
267 doi.10.18539/CAST.V13I1.1303.
- 268 FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS).
269 (2014). *The state of world fisheries and aquaculture*. Rome, pp. 243.
- 270 Freccia, A., Sousa, S. M. D. N., Meurer, F., Butzge, A. J., Mewes, J. K., & Bombardelli, R.
271 A. (2014). Essential oils in the initial phase of broodstock diets of Nile tilapia. *Revista*
272 *Brasileira de Zootecnia*, 43(1), 1-7. doi.org/10.1590/S1516-35982014000100001.
- 273 Godfrey, K. M., & Barker, D. J. (2000). Fetal nutrition and adult disease-. *The American*
274 *journal of clinical nutrition*, 71(5), 1344S-1352S. doi: org/10.1093/ajcn/71.5.1344s.
- 275 Gunasekera, R. M., Shim, K. F., & Lam, T. J. (1996). Influence of protein content of
276 broodstock diets on larval quality and performance in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*
277 (L.). *Aquaculture*, 146(3-4), 245-259. doi: 10.1016/S0044-8486(96)01380-4.
- 278 Guo, X., Ran, C., Zhang, Z., He, S., Jin, M., & Zhou, Z. (2017). The Growth-Promoting Effect
279 of Dietary Nucleotides in Fish Is Associated with an Intestinal Microbiota-Mediated
280 Reduction in Energy Expenditure-3. *The Journal of nutrition*, 147(5), 781-788. doi:
281 10.3945/jn.116.245506.
- 282 Halliwell, B. (1996). Commentary oxidative stress, nutrition and health. *Experimental*
283 *strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. Free radical*
284 *research*, 25, 57-74. doi.org/10.3109/10715769609145656.
- 285 Hess, J. R., & Greenberg, N. A. (2012). The role of nucleotides in the immune and
286 gastrointestinal systems: potential clinical applications. *Nutrition in Clinical Practice*, 27,
287 281-294. doi:10.1177/0884533611434933.
- 288 Izquierdo, M. S., Fernandez-Palacios, H., & Tacon, A. G. J. (2001). Effect of broodstock
289 nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*, 197, 25-42.
290 doi:org/10.1016/S0044-8486(01)00581-6.
- 291 Izquierdo, M. S., Turkmen, S., Montero, D., Zamorano, M. J., Afonso, J. M., Karalazos, V.,
292 & Fernández-Palacios, H. (2015). Nutritional programming through broodstock diets to
293 improve utilization of very low fishmeal and fish oil diets in gilthead sea bream.
294 *Aquaculture*, 449, 18-26. doi: 10.1016/j.aquaculture.2015.03.032.

- 295 Kirubakaran, C. J. W., Subramani, P. A., & Michael, R. D. (2016). Methanol extract of
296 *Nyctanthes arbortristis* seeds enhances non-specific immune responses and protects
297 *Oreochromis mossambicus* (Peters) against *Aeromonas hydrophila* infection. *Research in*
298 *veterinary science*, 105, 243-248. doi: 10.1016/j.rvsc.2016.02.013.
- 299 Lazzarotto, V., Corraze, G., Larroquet, L., Mazurais, D., & Médale, F. (2016). Does
300 broodstock nutritional history affect the response of progeny to different first-feeding
301 diets? A whole-body transcriptomic study of rainbow trout alevins. *British Journal of*
302 *Nutrition*, 115(12), 2079-2092. doi: 10.1017/S0007114516001252.
- 303 Li, P., & Gatlin, D. M. (2006). Nucleotide nutrition in fish: current knowledge and future
304 applications. *Aquaculture*, 251, 141-152. doi:org/10.1016/j.aquaculture.2005.01.009.
- 305 Li, P., Gatlin, D. M., & Neill, W. H. (2007). Dietary supplementation of a purified nucleotide
306 mixture transiently enhanced growth and feed utilization of juvenile red drum, *Sciaenops*
307 *ocellatus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 38, 281-286. doi:10.1111/j.1749-
308 7345.2007.00096.x.
- 309 Lin, Y. H., Wang, H., & Shiau, S. Y. (2009). Dietary nucleotide supplementation enhances
310 growth and immune responses of grouper, *Epinephelus malabaricus*. *Aquaculture*
311 *Nutrition*, 15, 117-122. doi: 10.1111/j.1365-2095.2007.00561.x.
- 312 Mackie, A. M., & Adron, J. W. (1978). Identification of inosine and inosine 5'-monophosphate
313 as the gustatory feeding stimulants for the turbot, *Scophthalmus maximus*. *Comparative*
314 *Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 60(1), 79-83. doi: 10.1016/0300-
315 9629(78)90040-3.
- 316 Mannaerts, G. P., & Van Veldhoven, P. P. (1993). Metabolic pathways in mammalian
317 peroxisomes. *Biochimie*, 75, 147-158. doi.org/10.1016/0300-9084(93)90072-Z.
- 318 Mateo, C. D., Peters, D. N., & Stein, H. H. (2004). Nucleotides in sow colostrum and milk at
319 different stages of lactation. *Journal of animal science*, 82, 1339-1342.
320 doi:10.2527/2004.8251339x.
- 321 Metailler, R., Cadena-Roa, M., & Ruyet, J. P. L. (1983). Attractive chemical substances for
322 the weaning of Dover sole (*Solea vulgaris*): qualitative and quantitative approach. *Journal*
323 *of the World Mariculture Society*, 14(1-4), 679-684. doi: 10.1111/j.1749-
324 7345.1983.tb00121.x.
- 325 Morais, S., Mendes, A. C., Castanheira, M. F., Coutinho, J., Bandarra, N., Dias, J., ... &
326 Pousão-Ferreira, P. (2014). New formulated diets for *Solea senegalensis* broodstock:
327 effects of parental nutrition on biosynthesis of long-chain polyunsaturated fatty acids and

- 328 performance of early larval stages and juvenile fish. *Aquaculture*, 432, 374-382. doi:
329 0.1016/j.aquaculture.2014.04.033.
- 330 Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2014). *Princípios de bioquímica de Lehninger*. New York,
331 Artmed.
- 332 Oliva-Teles, A. (2012). Nutrition and health of aquaculture fish. *Journal of Fish Diseases*, 35,
333 83-108. doi: 10.1111/j.1365-2761.2011.01333.x.
- 334 Pavanelli, G. C., Eiras, J. D. C., & Takemoto, R. M. (2002). *Doenças de peixes: profilaxia,*
335 *diagnóstico e tratamento*. Maringá. Eduem.
- 336 Peng, M., Xu, W., Ai, Q., Mai, K., Liufu, Z., & Zhang, K. (2013). Effects of nucleotide
337 supplementation on growth, immune responses and intestinal morphology in juvenile
338 turbot fed diets with graded levels of soybean meal (*Scophthalmus maximus* L.).
339 *Aquaculture*, 392, 51-58.
- 340 Reitman, Stanley; Frankel, Sam. A colorimetric method for the determination of serum
341 glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. (1957). *American journal of*
342 *clinical pathology*, 28(1), 56-63.
- 343 Rossi, P.; Xavier, E. G.; Rutz, F. (2007). Nucleotídeos na nutrição animal. *Revista brasileira*
344 *de agrociencia*, 13, 5-12. Disponível em: [http://www.](http://www.ufpel.edu.br/faem/agrociencia/v13n1/artigo01)
345 [ufpel.edu.br/faem/agrociencia/v13n1/artigo01](http://www.ufpel.edu.br/faem/agrociencia/v13n1/artigo01).
- 346 Ruyet, J., Menu, B., Cadena-Roa, M., & Métailler, R. (1983). Use of expanded pellets
347 supplemented with attractive chemical substances for the weaning of turbot (*Scophthalmus*
348 *maximus*). *Journal of the World Aquaculture Society*, 14, 676-678. doi: 10.1111/j.1749-
349 7345.1983.tb00120.x.
- 350 Saint-Denis, M., Narbonne, J. F., Arnaud, C., Thybaud, E., & Ribera, D. (1999). Biochemical
351 responses of the earthworm *Eisenia fetida andrei* exposed to contaminated artificial soil:
352 effects of benzo (a) pyrene. *Soil Biology and Biochemistry*, 31, 1837-1846.
353 doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00106-6.
- 354 Shiau, S. Y., Gabaudan, J., & Lin, Y. H. (2015). Dietary nucleotide supplementation enhances
355 immune responses and survival to *Streptococcus iniae* in hybrid tilapia fed diet containing
356 low fish meal. *Aquaculture Reports*, 2, 77-81. doi:org/10.1016/j.aqrep.2015.08.002.
- 357 Sink, T. D., & Lochmann, R. T. (2008). Effects of dietary lipid source and concentration on
358 channel catfish (*Ictalurus punctatus*) egg biochemical composition, egg and fry production,
359 and egg and fry quality. *Aquaculture*, 283(1-4), 68-76. doi:
360 10.1016/j.aquaculture.2008.07.024. doi: 10.1016/j.aquaculture.2008.07.024.

- 361 Sousa, S. M. D. N., Freccia, A., Santos, L. D. D., Meurer, F., Tessaro, L., & Bombardelli, R.
362 A. (2013). Growth of Nile tilapia post-larvae from broodstock fed diet with different levels
363 of digestible protein and digestible energy. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 42(8), 535-
364 540. doi: 10.1590/S1516-35982013000800001.
- 365 Symonds, M. E., Sebert, S. P., Hyatt, M. A., & Budge, H. (2009). Nutritional programming
366 of the metabolic syndrome. *Nature Reviews Endocrinology*, 5(11), 604. doi:
367 10.1038/nrendo.2009.195.
- 368 Tahmasebi-Kohyani, A., Keyvanshokoh, S., Nematollahi, A., Mahmoudi, N., & Pasha-
369 Zanoosi, H. (2012). Effects of dietary nucleotides supplementation on rainbow trout
370 (*Oncorhynchus mykiss*) performance and acute stress response. *Fish physiology and*
371 *biochemistry*, 38, 431-440. doi: 10.1007/s10695-011-9524-x.
- 372 Tsujinaka, T., Kishibuchi, M., Iijima, S., Yano, M., & Monden, M. (1999). Nucleotides and
373 intestine. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 23, 74-77. doi:
374 10.1177/014860719902300519.
- 375 Voet, D., Voet, J. G., & Pratt, C. W. (2014). *Fundamentos de Bioquímica-: A Vida em Nível*
376 *Molecular*. Artmed Editora.
- 377 Waterland, R. A., & Garza, C. (1999). Potential mechanisms of metabolic imprinting that lead
378 to chronic disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69, 179-197. doi:
379 10.1093/ajcn/69.2.179.
- 380 Wahbi, O. M., & Sangak, Y. (2017). Enhancement of Reproductive Performance of Nile
381 Tilapia *Oreochromis niloticus* using Phytobiotic *Spirulina platensis*. *Journal of Biological*
382 *Sciences*, 17(7), 305-311. doi: 10.3923/jbs.2017.305.311.
- 383 Weiss, D. J., & Wardrop, K. J. (2011). *Schalm's veterinary hematology*. John Wiley & Sons.
- 384 Whitehead, C. C., Pearson, R. A., & Herron, K. M. (1985). Biotin requirements of broiler
385 breeders fed diets of different protein content and effect of insufficient biotin on the
386 viability of progeny. *British poultry science*, 26, 73-82.
387 doi.org/10.1080/00071668508416789.
- 388 Xu, L., Ran, C., He, S., Zhang, J., Hu, J., Yang, Y. & Zhou, Z. (2015). Effects of dietary yeast
389 nucleotides on growth, non-specific immunity, intestine growth and intestinal microbiota
390 of juvenile hybrid tilapia *Oreochromis niloticus*♀× *Oreochromis aureus*♂. *Animal*
391 *Nutrition*, 1, 244-251. doi:org/10.1016/j.aninu.2015.08.006.
- 392 Zhang, K., Cai, R., Chen, D., & Mao, L. (2000). Determination of hemoglobin based on its
393 enzymatic activity for the oxidation of o-phenylenediamine with hydrogen peroxide.
394 *Analytica chimica*.