



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS ANIMAIS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

Vanessa Maria Freitas da Silva

**Desempenho zootécnico, digestibilidade, avaliação e validação de uma matriz
de proteases exógenas na nutrição de tilápia (*Oreochromis niloticus*)**

MOSSORÓ

2025

Vanessa Maria Freitas da Silva

**Desempenho zootécnico, digestibilidade, avaliação e validação de uma matriz
de proteases exógenas na nutrição de tilápia (*Oreochromis niloticus*)**

Monografia apresentada como exigência para
conclusão do Curso de graduação em Zootecnia
da UFERSA.

Orientador: Prof. Dr. Matheus Ramalho de Lima

Coorientador: Me. Marcos Aurelio Victor de
Assunção

MOSSORÓ

2025

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

SSilv ad Silva, Vanessa Maria Freitas.
Desempenho zootécnico, digestibilidade,
avaliação e validação de uma matriz de proteases
exógenas na nutrição de tilápia (*Oreochromis
niloticus*) / Vanessa Maria Freitas Silva. - 2025.
45 f. : il.

Orientadora: Matheus Ramalho Lima .
Coorientadora: Marcos Aurelio Victor Assunção .
Monografia (graduação) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Curso de Zootecnia, 2025.

1. Desempenho. 2. digestibilidade. 3. enzimas
exógenas. 4. Tilápia do Nilo. 5. protease. I.
Lima , Matheus Ramalho , orient. II. Assunção ,
Marcos Aurelio Victor , co-orient. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade
com AACR2 e os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência
Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva
CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

Vanessa Maria Freitas da Silva

Desempenho zootécnico, digestibilidade, avaliação e validação de uma matriz de proteases exógenas na nutrição de tilápia (*Oreochromis niloticus*)

Monografia apresentada como exigência para conclusão do Curso de graduação em Zootecnia da UFERSA.

Orientador: Prof. Dr. Matheus Ramalho de Lima
Coorientador: Me. Marcos Aurelio Victor de Assunção

Aprovada em: 28 / 03 / 2025

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Matheus Ramalho de Lima (UFERSA)
Presidente

Me. Marcos Aurelio Victor de Assunção (UFERSA)
Membro Examinador

Dra. Danyela Carla Elias Soares (UFERSA)
Membro Examinador

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha mãe, Maria de Fátima Freitas da Silva, que sempre foi a minha maior inspiração e fonte inesgotável de amor, sabedoria, força e fé. Sua dedicação, cuidados, conselhos e palavras de incentivo me acompanharam em cada passo dessa jornada. Sem a sua ajuda, nada disso seria possível. Com todo o meu amor e gratidão eterna, essa conquista também é sua, minha amada mãe.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a DEUS, pois sem Ele eu jamais poderia alcançar este e tantos outros objetivos. Obrigada por me conceder a graça da saúde, força e perseverança para concluir esta etapa tão importante em minha vida.

Aos meus pais Maria de Fátima Freitas da Silva e Elizeu Evaristo da Silva por terem me dado a vida e por sempre me incentivarem a estudar, por me apoiarem nas minhas escolhas, além de nunca medirem esforços para me ajudar em tudo o que eu precisava.

Aos meus irmãos Ícaro Freitas da Silva e Ítalo Freitas da Silva por sempre estarem comigo em todos os momentos e por sempre se mostrarem disponíveis a me ajudar em todas as situações.

À toda a minha família, sem exceção de membros, pelas palavras de carinho, apoio e cuidado para comigo.

Ao meu professor e orientador Doutor Matheus Ramalho de Lima pela sua disponibilidade e paciência em transmitir conhecimento e ensinamentos, não somente na sala de aula, mas também em campo, aprendizado esse que levarei para toda a minha vida, tanto profissional quanto pessoal. Grata pela oportunidade de poder fazer parte do seu Grupo de Pesquisa Inovação Tecnológica e Produção Animal de Precisão que foi onde descobri a Aquicultura, mais precisamente a Piscicultura e a Carcinicultura como culturas magníficas e apaixonantes.

Ao meu amigo e coorientador Marcos Aurelio Victor de Assunção pela disponibilidade e por ter aceitado de imediato o meu convite à coorientação e por sempre se mostrar disponível a me auxiliar.

À minha amiga Joice Teixeira de Souza por ceder os dados de sua tese de doutorado para que eu pudesse desenvolver esse trabalho e também por sempre me auxiliar nas dificuldades do mesmo.

Agradeço também a Dra. Danyela Carla Elias Soares por se disponibilizar em fazer parte da banca examinadora.

Aos meus amigos que os considero como irmãos: Ana Elidarly da Cunha, Mário Augusto Monteiro Silva, Wellesom da Silva Marinho e Janyne Lorena Batista de França, minha eterna gratidão por sempre estarem comigo nas dificuldades, na alegria, pelas palavras de conforto e carinho e por nunca permitirem que eu desistisse. Vocês foram fonte de inspiração e sabedoria para mim nessa trajetória acadêmica.

Agradeço a José Venízio Alves de Sousa por ter me ajudado tanto, não somente nesse trabalho, mas em tantos outros. Obrigada por me manter sempre confiante e mais preparada para realizar meus projetos. Tens o meu eterno carinho e gratidão.

Às amigadas que tive o privilégio de compartilhar momentos incríveis nesses cinco anos de graduação, obrigada por tornarem meus dias mais leves em meio à tantos desgastes físicos e mentais e por tantos aprendizados que por meio de vocês eu adquirir que levarei em toda a minha vida, seja pessoal ou profissional.

Aos meus amigos e colegas de Grupo de Pesquisa Inovação Tecnológica e Produção Animal de Precisão, Maria Érica da Silva Oliveira e Joice Teixeira de Souza, que foram as primeiras colaboradoras componentes da equipe que eu tive contato e que me acolheram com tanto zelo e carinho, além dos auxílios que sempre me prestaram nesta caminhada.

À Naiane Cristina de Lima Silva, Marcos Aurelio Victor de Assunção, Warlley Mendes Figueiredo, professor Matheus Ramalho de Lima e a todos os outros membros do Grupo não citados diretamente, meus sinceros agradecimentos por agregarem tanta vivência, aprendizados e experiências únicas a mim.

A todos os professores que me lecionaram e que contribuíram tanto, compartilhando conhecimentos, experiências, oportunidades e apoio nesta graduação. Todos foram fundamentais na construção do meu saber.

A Empresa Jr. de Zootecnia (EMJUZ) agradeço a todos os membros e pós-membros pela oportunidade de fazer parte dessa empresa tão importante para o curso de Zootecnia da UFRSA na qual me fez ser mais resiliente, por ter aprendido tanto com todos, com as atividades realizadas interna e externamente e por ser chave na minha experiência em extensão no campo.

A minha total e eterna gratidão a todas as pessoas não mencionadas diretamente aqui, mas que contribuíram para o meu crescimento nessa jornada acadêmica e pessoal.

“Consagre ao Senhor tudo o que você faz, e seus planos serão bem sucedidos”.

Provérbios 16:3

RESUMO

A aquicultura é uma atividade de produção que vem ganhando destaque com o passar dos anos como uma alternativa para suprir a demanda por alimentos de proteína animal a população mundial. No ramo da piscicultura, destaca-se a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) como uma das espécies mais cultivadas, devido sua rusticidade, rápido crescimento e facilidade em ser encontrada no mercado. Todavia, a alimentação dos peixes é um fator imprescindível para maximizar a produtividade, garantindo a saúde dos animais e melhorando a qualidade de seus produtos e derivados. Neste contexto, a suplementação com aditivos enzimáticos serve como uma alternativa promissora, onde acarreta melhoria na digestibilidade da ração e consequentemente na absorção dos nutrientes pelos peixes. Desta forma, foi conduzido um estudo ao qual teve como objetivo avaliar e validar se a suplementação de um blend de proteases ácidas e alcalinas na alimentação de tilápias do Nilo pode melhorar o desempenho zootécnico, qualidade da carne e a digestibilidade aparente de proteína, energia e aminoácidos. Esse experimento seguiu um delineamento fatorial 2 x 2, com duas dietas (Controle Positivo - CP e Controle Negativo - CN) e duas doses de suplementação de protease (0 e 250 g/t), totalizando quatro tratamentos: CP, CPE (CP + 250 g/t), CN e CNE (CN + 250 g/t). Cada combinação de dieta e dose de protease foi repetida 8 vezes, com 25 peixes por unidade experimental. O CP foi formulado de acordo com as exigências nutricionais das tilápias, enquanto o CN teve redução de 100% da matriz da enzima. A análise estatística foi realizada com o teste de Shapiro-Wilk para avaliar a normalidade dos dados, e as diferenças significativas foram identificadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) no software R (versão 4.1.0). Os resultados indicaram que os peixes alimentados com dietas suplementadas (CPE e CNE) apresentaram maior peso final e ganho de peso médio diário, com destaque para o CNE, que alcançou incremento de 0,63 g/d. Conclui-se que a suplementação de 250 g/t do blend de proteases ácidas e alcalinas promoveu melhorias significativas no desempenho zootécnico e digestibilidade aparente dos nutrientes, recomendando-se essa dosagem para otimizar a produção e de tilápias do Nilo.

Palavras-chave: Desempenho; digestibilidade; enzimas exógenas; protease; Tilápia do Nilo.

ABSTRACT

Aquaculture is a production activity that has gained prominence over the years as an alternative to meeting the world population's demand for animal protein foods. In the field of pisciculture, Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) stands out as one of the most cultivated species, due to its rusticity, rapid growth and ease of being found on the market. However, fish nutrition is an essential factor in maximizing productivity, ensuring fish health and improving the quality of their products and derivatives. In this context, supplementation with enzymatic additives serves as a promising alternative, which leads to an improvement in the digestibility of the feed and consequently in the absorption of nutrients by the fish. Therefore, a study was conducted with the objective of evaluating and validating whether the supplementation of a blend of acid and alkaline proteases in Nile tilapia feed can improve zootechnical performance, meat quality and apparent digestibility of protein, energy and amino acids. The experiment followed a 2 x 2 factorial design, with two diets (Positive Control - CP and Negative Control - CN) and two doses of protease supplementation (0 and 250 g/t), totaling four treatments: CP, CPE (CP + 250 g/t), CN and CNE (CN + 250 g/t). Each treatment was repeated eight times, with 25 fish per experimental unit. CP was formulated according to the nutritional requirements of tilapia, while CN had a 100% reduction in the enzyme matrix. Statistical analysis was performed using the Shapiro-Wilk test to assess data normality, and significant differences were identified using the Tukey test ($p < 0.05$) in the R software (version 4.1.0). The results indicated that fish fed supplemented diets (CPE and CNE) showed higher final weight and average daily weight gain, with emphasis on CNE, which reached an increase of 0.63 g/d. It is concluded that supplementation of 250 g/t of the blend of acid and alkaline proteases promoted significant improvements in zootechnical performance, apparent digestibility of nutrients, recommending this dosage to optimize production in Nile tilapia.

Keywords: Digestibility; exogenous enzymes; Nile Tilapia; performance; protease.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Efeito dos dados de desempenho de tilápias alimentadas com dietas sem e com redução nutricional (CP e CN) suplementadas com 250g/t de protease exógena em 126 dias de cultivo.....	35
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Exigência nutricional para tilápia do Nilo 20

Tabela 2 – Rações experimentais, Controle Positivo (CP) e Controle Negativo (CN), utilizadas como base para a suplementação da protease exógena avaliada 25

Tabela 3 – Peso inicial (PI, g/peixe), peso vivo (PV, g/peixe), consumo de ração (CR, g/ peixe), ganho de peso (GP, g/ peixe), taxa de crescimento específico por semana (TCES, %), e conversão alimentar (CA, g/g) das tilápias alimentadas com dietas sem e com redução nutricional (CP e CN) suplementadas com 250g/t de protease exógena em 15 dias de cultivo 27

Tabela 4 – Peso inicial (PI, g/ peixe), peso vivo (PV, g/ peixe), consumo de ração (CR, g/ peixe), ganho de peso (GP, g/ peixe) e conversão alimentar (CA, g/g) das tilápias alimentadas com dietas sem e com redução nutricional (CP e CN) suplementadas com 250g/t de protease exógena em 28 dias de cultivo 28

Tabela 5 – Peso inicial (PI, g/ peixe), peso vivo (PV, g/ peixe), consumo de ração (CR, g/ peixe), ganho de peso (GP, g/ peixe e conversão alimentar (CA, g/g) das tilápias alimentadas com dietas sem e com redução nutricional (CP e CN) suplementadas com 250g/t de protease exógena em 42 dias de cultivo 29

Tabela 6 – Peso inicial (PI, g/ peixe), peso vivo (PV, g/ peixe), consumo de ração (CR, g/ peixe), ganho de peso (GP, g/ peixe e conversão alimentar (CA, g/g) das tilápias alimentadas com dietas sem e com redução nutricional (CP e CN) suplementadas com 250g/t de protease exógena em 56 dias de cultivo 30

Tabela 7 – Peso inicial (PI, g/ peixe), peso vivo (PV, g/ peixe), consumo de ração (CR, g/ peixe), ganho de peso (GP, g/ peixe e conversão alimentar (CA, g/g) das tilápias alimentadas com dietas sem e com redução nutricional (CP e CN) suplementadas com

250g/t de protease exógena em 70 dias de cultivo	31
--	----

Tabela 8 – Peso inicial (PI, g/ peixe), peso vivo (PV, g/ peixe), consumo de ração (CR, g/ peixe), ganho de peso (GP, g/ peixe e conversão alimentar (CA, g/g) das tilápias alimentadas com dietas sem e com redução nutricional (CP e CN) suplementadas com 250g/t de protease exógena em 84 dias de cultivo	32
---	----

Tabela 9 – Peso inicial (PI, g/ peixe), peso vivo (PV, g/ peixe), consumo de ração (CR, g/ peixe), ganho de peso (GP, g/ peixe e conversão alimentar (CA, g/g) das tilápias alimentadas com dietas sem e com redução nutricional (CP e CN) suplementadas com 250g/t de protease exógena em 98 dias de cultivo	33
---	----

Tabela 10 – Peso inicial (PI, g/ peixe), peso vivo (PV, g/ peixe), consumo de ração (CR, g/ peixe), ganho de peso (GP, g/ peixe e conversão alimentar (CA, g/g) das tilápias alimentadas com dietas sem e com redução nutricional (CP e CN) suplementadas com 250g/t de protease exógena em 126 dias de cultivo	34
---	----

Tabela 11 - Composições corporais de <i>O. niloticus</i> alimentadas com dietas experimentais durante 90 dias	36
---	----

Tabela 12 – Composição analisada das dietas (Dietas), composição analisada das excretas (Excretas) e os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA, %) da proteína, energia, metionina, lisina, treonina, triptofano, arginina, isoleucina e valina de tilápias alimentadas com dietas sem e com redução nutricional (CP e CN) suplementadas com 250g/t de protease exógena	36
--	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo geral	18
2.2 Objetivos específicos	18
3 REFERENCIAL TEÓRICO	19
3.1 Fontes proteicas	20
3.2 Proteases em dietas para peixes	22
4 MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1. Animais e unidades experimentais	24
4.2. Delineamento experimental, dietas e manejo	24
4.3. Desempenho zootécnico	26
4.4. Análise estatística	26
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5.1. Resultados 14 dias	27
5.2. Resultados 28 dias	28
5.3. Resultados 42 dias	29
5.4. Resultados 56 dias	30
5.5. Resultados 70 dias	31
5.6. Resultados 84 dias	31
5.7. Resultados 98 dias	32
5.8. Resultados 126 dias	33
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	40
7 REFERÊNCIAS	41

1. INTRODUÇÃO

A produção de tilápias-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma atividade que vem se destacando com o passar dos anos devido a sua fácil reprodução, carne branca de excelente qualidade, ótimo valor de mercado, custos de produção relativamente baixos e boa adaptação aos cultivos, desde os mais extensivos até os mais intensivos, podendo ser cultivadas em águas com níveis altos de salinidade e temperaturas mais amenas.

No Brasil, a produção de peixes iniciou-se na década de 50, porém, o cultivo de peixes não teve um bom desenvolvimento devido fatores genéticos, baixa produtividade e baixo índice de crescimento. Porém, em 1996, houve uma importação de uma linhagem melhorada de tilápia nilótica da Tailândia e isso impulsionou a atividade, juntamente com o uso da técnica de incubação artificial, controle do sexo e melhoramento genético, dando início a fase industrial da tilapicultura brasileira.

Furuya et al. (2023) atribuem esse desenvolvimento às estratégias nutricionais aliadas aos programas de melhoramento genético, porém, os autores relatam também que essa expansão gera preocupações relacionadas a escassez de ingredientes para fabricação de rações dos peixes e à segurança alimentar. A eficácia dos ingredientes e aditivos alimentares incorporados às dietas irão refletir no desempenho zootécnico dos peixes (Maryam et al., 2024).

Nesse contexto, sabe-se que as rações são fundamentais para o desenvolvimento e nutrição, por fornecer nutrientes essenciais e energia aos animais. Portanto, atualmente, é muito comum a utilização de ingredientes aditivos nas rações, além dos ingredientes usuais, como por exemplo, as enzimas exógenas (fitase, protease, xilanase e outras). O principal objetivo do uso desses aditivos é melhorar o valor nutricional dos ingredientes convencionais, reduzir os compostos antinutricionais e fortalecer o sistema imunológico dos animais (Ringo et al., 2011; Boyd et al., 2020).

Desta forma, o uso das enzimas exógenas como proteases pode ser uma ótima alternativa, pois pode atuar com mecanismo de ação no organismo, melhorando a digestibilidade da ração e consequentemente maximizando a absorção dos nutrientes pelos peixes. A adição de uma protease exógena produzida a partir de microrganismos melhorou a digestibilidade da proteína e do cálcio da ração, além de aumentar a atividade enzimática no intestino das tilápias (Santos et al., 2020).

A aplicação das enzimas exógenas na nutrição de animais terrestres é uma prática comum, enquanto que na aquicultura, sua aplicação ainda esteja na fase de desenvolvimento (Wu et al., 2024). O que mais dificulta a utilização das enzimas em rações para peixes é o processamento dessas rações, especialmente na extrusão, processo em que os ingredientes são submetidos à alta temperatura, pressão e umidade, o que pode ocasionar na desnaturação das enzimas e na sua inativação, e, quando em contato com a água podem ser solubilizadas e perdidas (Boyd et al., 2020).

Neste contexto, as proteases exógenas surgem como uma solução promissora, pois possuem a capacidade de estimular as proteases endógenas favorecendo a hidrólise de lipídios, proteínas complexas e antinutrientes em unidades mais simples, permitindo a otimização da digestão e absorção de nutrientes, nesse caso, ao aumentar a digestibilidade e o aproveitamento de nutrientes das dietas, as proteases exógenas possibilitam melhorar o desempenho zootécnico dos animais e redução da emissão de compostos nitrogenados na água (Li et al., 2016; Hassaan et al., 2019; Maryam et al., 2024).

Liang et al., (2022) destacam que quando combinada com enzimas digestivas endógenas, a protease exógena pode favorecer o crescimento dos peixes.

Em dietas baseadas em vegetais, a protease promove o crescimento, aumenta a integridade da barreira intestinal, a imunidade inata e a resistência a patógenos, como *S. agalactiae* (Wu et al., 2020), sendo eficaz também quando combinada com outros aditivos como o ácido málico, melhorando o desempenho digestivo e a saúde geral da tilápia (Hassaan et al., 2020).

O uso de proteases exógenas não apenas inativa antinutrientes, mas também melhora a utilização de nutrientes por meio da atividade proteolítica, liberando compostos menores para a ação das enzimas endógenas (Mcdonald, 1985).

Em dietas para juvenis de tilápia do Nilo, a inclusão de protease demonstrou benefícios na disponibilidade de nutrientes e no desempenho dos peixes (Adeoye et al., 2016^a; Hassaan et al., 2019; Ragaa et al., 2017).

Estudos indicaram que a suplementação com proteases exógenas na alimentação de tilápias nilóticas podem melhorar a digestibilidade da proteína e, também há a possibilidade de incremento no desempenho produtivo e eficiência alimentar. Um estudo conduzido por Batista et al., (2019) avaliou os efeitos de uma suplementação de uma protease comercial na alimentação de tilápias do Nilo sobre o desempenho produtivo e qualidade do filé. Os autores observaram um aumento

significativo no ganho de peso e eficiência alimentar dos peixes suplementados com a enzima, porém, não foram observadas diferenças significativas quanto ao rendimento de filé em comparação ao grupo controle.

Todavia, (Feitosa et al., no ano de 2021) conduziram um estudo ao qual foi avaliado o efeito da suplementação de uma protease na alimentação de juvenis de tilápias nilóticas sobre o desempenho produtivo e na qualidade do filé, e foi verificado um aumento expressivo no ganho de peso e no rendimento do filé em relação ao grupo controle. Desta forma, o estudo sugeriu que a suplementação de protease exógena adicionada à dieta das tilápias do Nilo pode melhorar tanto o desempenho produtivo quanto a qualidade do filé. E considerando a busca por tecnologias alimentares que otimizem o desempenho zootécnico para melhorar a eficiência alimentar na piscicultura, a suplementação de enzimas exógenas na dieta de tilápias se destaca como uma estratégia promissora, pois pode influenciar diretamente a produtividade, a qualidade do pescado e a sustentabilidade da atividade.

Portanto, podemos entender que a validação de um blend de proteases exógenas ácidas e alcalinas adicionadas às dietas de tilápias do Nilo é importante, visto que essas proteases específicas irão atuar de forma mais significativa no ambiente ácido do estômago e nas partes alcalinas do intestino dos peixes, o que difere um pouco de estudos anteriores, pois, em sua grande maioria, se concentraram na utilização de enzimas de forma individual. Contudo, a associação de um blend de proteases pode ser uma abordagem mais eficaz e assertiva para maximizar o desempenho zootécnico dos peixes. Dessa forma, esse estudo teve como objetivo investigar e avaliar os efeitos da suplementação de um blend de proteases exógenas ácidas e alcalinas sobre o desempenho zootécnico de *Oreochromis niloticus* alimentada com diferentes dietas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos da suplementação de um blend de proteases exógenas em modo *ontop* na dieta de tilápias do Nilo desde a fase juvenil até a despesca.

2.2 Objetivos específicos

- Analisar o desempenho zootécnico de tilápias do Nilo;
- Examinar a digestibilidade aparente de nutrientes;
- Verificar a matriz de proteases exógenas na nutrição de *Oreochromis niloticus*;
- Validar a matriz de proteases exógenas na nutrição de *Oreochromis niloticus*.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é um peixe teleósteo, originário do continente africano, mais precisamente da Bacia do Rio Nilo. A produção mundial desses peixes expandiu-se muito durante os períodos de 1970 a 1990. Atualmente, a espécie ocupa a 3ª posição mundial e sua produção alcançou 4,4 milhões de toneladas, ficando atrás apenas para as carpas (carpa capim, *Ctenopharyngodon idellus*, e carpa prateada, *Hypophthalmichthys molitrix*), em 2020 (FAO, 2022).

No Brasil, a produção de tilápias nilóticas iniciou em 1995, com uma produção total de 12 mil toneladas. Já em 2002, a produção foi de 42,003 toneladas (FAO, 2004). Após 20 anos, o setor de produção de tilápias do Nilo continuou crescendo e registrou um total de 579,080 toneladas, representação de 65,3% na produção nacional. No ano de 2002, teve um crescimento médio de 5% ao ano. O Brasil atualmente ocupa o 4º lugar entre os maiores produtores de tilápia do mundo (FAO, 2022). Os estados de maior destaque na produção da espécie pertencem a região Sul, representando 33,4% da produção total brasileira (PEIXE BR, 2024).

A tilápia é um dos peixes que apresenta maior potencial para piscicultura, devido ao seu rápido crescimento, rusticidade e ausência de espinhas intramusculares (El-Sayed, 2006). A espécie também se destaca por características como a receptividade por uma ampla variedade de alimentos, rápida reprodução, resistência a doenças, permite o superpovoamento, adaptar-se bem sob baixos níveis de oxigênio dissolvido e a altas concentrações de amônia, quando comparada a outras espécies nativa. Também tolera amplo limite de temperatura e pode ser aclimatada a altas concentrações de salinidade. (Silva, et al., 2015).

Nutricionalmente, por ser uma espécie de hábito alimentar onívoro, facilidade na aceitação de rações, a exigência de nutrientes varia de acordo com o peso em cada fase de vida (Tabela 1). Normalmente, o pescado de tilápia é comercializado na forma de filé, entre 35-43% é destinado a alimentação humana (El-Sayed, 2006).

Atualmente, as sobras, ou seja, os resíduos de peixe processados são utilizados como subprodutos destinados a alimentação animal. A previsão é de que, até 2030, a proporção de farinha de peixe obtida por meio das sobras aumentará de 27% para 29%. Além disso, a produção total de peixes deverá atingir mais de 100 milhões de toneladas (FAO, 2022).

Tabela 1. Exigência nutricional para tilápia do Nilo

Referência*	A	B	C
Peso (g)	0,015 a 0,087	17 a 21	<100
Proteína bruta (%)	28**	35	30
Energia digestível (kcal/kg)	2500	-	3000
Energia bruta (kcal/kg)	-	4468	-
Aminoácidos essenciais (% da dieta)			
Arginina	1,18	-	1,26
Fenilalanina	1,05	-	0,83
Histidina	0,48	-	0,52
Isoleucina	0,87	-	0,93
Leucina	0,95	-	1,01
Lisina	1,43	-	1,53
Metionina	0,75	-	0,52
Tirosina	0,50	-	0,83
Treonina	1,05	-	1,18
Triptofano	0,28	-	0,30

*[^ASantiago; Lovell (1988); ^BAbdel-Tawwab et al. (2010); ^CFuruya et al. (2010)]. **Valor menor que o ideal (35%) para maior utilização do aminoácido limitante.

Disponível em:
https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/32532/TES_PPGZOOTECNIA_2024_SCHNEIDER_THAMARA.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

3.1. Fontes proteicas

Quanto mais aumenta o nível da produção na aquicultura, maior é a necessidade de rações para o cultivo de organismos aquáticos. Em 20 anos, a produção de rações para a atividade aquícola aumentou significativamente, passando de 8 para 48 milhões de toneladas (Tacon; Hasan; Metian, 2011). A cultura da tilápia, por sua vez, foi responsável por consumir cerca de 17% do total de rações utilizadas na aquicultura (Hardy, 2010). No Brasil, a produção estimada de ração destinada a peixes atingiu 1,24 milhão de toneladas em 2023 (Sindirações, 2023).

As rações para alimentação na piscicultura representam grande parte dos custos variáveis, e a proteína é um dos nutrientes mais importantes e de maior valor (El-Sayed, 2006; Hardy, 2010). Como responsável por desempenhar uma fonte de

proteína na alimentação em rações para peixes, a farinha de peixe contribui com aproximadamente 50% da proteína total, devido suas características nutricionais, com elevado valor biológico e equilíbrio de aminoácidos, onde a maioria é proveniente de organismos marinhos (Montoya-Camacho et al., 2019).

A farinha de peixe contém cerca de 60 a 65% de proteína bruta (PB), e fornece uma quantidade equilibrada de aminoácidos essenciais, fosfolipídeos, vitaminas, minerais e ácidos graxos essenciais (NRC, 1993). Porém, há alguns anos a sua utilização tem sido alvo de críticas por parte de organizações ambientais, o que culminou em sua escassez e limitação na produção (Hardy, 2010). Esta farinha possui alguns entraves na utilização, pois além de ser um ingrediente caro, acarreta desafios econômicos na sua aplicação na aquicultura e contribui para o esgotamento das populações de peixes selvagens (FAO, 2018).

A produção de farinhas de origem animal, no Brasil, totalizou 3,6 milhões de toneladas em 2020, mais de 70% destinados à produção animal (Associação Brasileira de Reciclagem Animal - ABRA, 2020). A farinha de penas é uma fonte promissora, apresenta alto teor proteico (80 a 90% de PB), bom teor de aminoácidos, como treonina e arginina, e disponibilidade, cerca 7% do peso de abate da ave corresponde às penas (NRC, 1993; Rocha; Silva, 2004). No entanto, a maior parte dessa proteína é queratina, menos solúvel e mais resistente à digestão.

O uso de fontes vegetais como ingredientes nas rações tem sido amplamente estudado devido aos desafios associados aos altos níveis de inclusão e à baixa qualidade, que podem prejudicar a absorção de nutrientes devido aos antinutrientes (Francis; Makkar; Becker, 2001). O farelo de soja é a principal fonte proteica vegetal em rações para peixes e enfrenta desafios, como competição com outras finalidades, oscilações de preço, presença de antinutrientes, como saponinas e inibidores de tripsina, e deficiência em aminoácidos sulfurados (Furuya, 2010; NRC, 1993).

Em rações para peixes, sua utilização em concentrações acima de 40% mostrou impactos negativos no desempenho de espécies, como tilápia do Nilo (Mahmoud et al., 2014) e na atividade de enzimas endógenas em peixes (Lazzari et al., 2010; Zhu et al., 2021). A ampliação do uso de farelo de soja na produção de peixes está relacionada com a disponibilidade e alta digestibilidade (Guimarães; Pezzato; Barros, 2008) e, com a possibilidade de melhorar o seu valor nutricional, com a inclusão de protease exógena (Dalsgaard et al., 2012; Lee et al., 2020).

Em geral, o uso de subprodutos tem sido uma prática importante na alimentação de peixes em substituição a farinha de peixe (Boscolo et al., 2005; Cardoso et al., 2021; Guimarães; Pezzato; Barros, 2008). Outra alternativa é a inclusão de protease exógena na formulação da ração (Li et al., 2015; Ragaa et al., 2017; Shi et al., 2016).

3.2. Proteases em dietas para peixes

As proteases são enzimas que podem ser classificadas em endo e exopeptidases, com base na especificidade posicional (Mcdonald, 1985). As endopeptidases clivam ligações peptídicas no interior da cadeia polipeptídica, enquanto que as exopeptidases clivam as ligações peptídicas nos finais das cadeias.

As endopeptidases quebram as proteínas em peptídeos de vários tamanhos, enquanto que as exopeptidases liberam um único aminoácido, um dipeptídeo ou um tripeptídeo (Volgelsang-O'Dwyer et al., 2022). Além disso, as proteases podem ser classificadas de acordo com a sua origem, ou seja, de origem microbiana, vegetal ou animal (European Food Safety – EFSA, 2009).

A adição das proteases na dieta dos peixes pode ser dividida em duas etapas distintas: na fase inicial, como aditivo alimentar; e, posteriormente, como uma forma de prevenção diante das estratégias alimentares que substituem a farinha de peixe. O uso das proteases exógenas não apenas inativa antinutrientes, mas também melhora a utilização de nutrientes por meio da atividade proteolítica, liberando compostos menores para a ação das enzimas endógenas (Mcdonald, 1985).

É comum encontrar alimentos proteicos contendo fatores antinutricionais e de baixa digestibilidade (Charlton, 1996). Embora a indústria tente eliminar estes fatores por meio de tratamento térmico, ainda são encontrados elevados níveis de ingredientes inibidores de proteases, principalmente no farelo de soja. Porém, Sheppy (2001) observou que o uso de protease adicionadas em dietas elimina fatores antinutricionais existentes.

A introdução de aditivos enzimáticos é uma técnica moderna, e tem como finalidade suplementar as enzimas endógenas, que por sua vez, são produzidas em quantidades insuficientes. Estudos realizados recentemente demonstraram resultados promissores quanto ao aumento de ingredientes vegetais com a complementação enzimática na dieta de frangos, coelhos e peixes (Toral et al., 2002).

A avaliação dos efeitos diretos da enzima no desempenho dos animais é dificultada quando a protease está como componente de um complexo enzimático (Boyd et al., 2020). Por outro lado, em dietas para juvenis de tilápia no Nilo, a inclusão de protease, apenas, demonstrou benefícios na disponibilidade de nutrientes e no desempenho dos peixes (Adeoye et al., 2016a; Hassaan et al., 2019; Ragaa et al., 2017).

A falta de impacto das enzimas exógenas no organismo dos peixes pode estar relacionada ao hábito alimentar, ao nível de inclusão e também na composição das dietas, devendo salientar que, a quantidade de enzima baseada em outros animais de produção não é recomendada. Desta forma, os estudos sob a nutrição de precisão para animais de produção, em especial, aos peixes, está cada vez mais focada na melhoria da qualidade das fontes de proteína, buscando otimizar os recursos econômicos, ambientais e sociais. É comprovado que as necessidades nutricionais dos peixes estão relacionadas à quantidade e a proporção adequada de aminoácidos dos ingredientes, ao invés da quantidade total de proteína.

Quanto a adição das proteases exógenas em rações extrusadas, normalmente são mais utilizadas em modo *on top* para evitar a desnaturação térmica, o que significa dizer que são aplicadas após o processo de extrusão, haja vista que durante essa técnica de processamento, a ração é submetida a altas temperaturas (80 – 140 °C), forte pressão e cisalhamento, o que pode ocasionar na inativação ou degradação de enzimas sensíveis ao calor. Portanto, aplicá-las posteriormente à extrusão, melhora a sua eficácia.

A importância da adoção de estratégias nutricionais complementares, como a substituição da farinha de peixe por subprodutos como o farelo de soja ou farinha de penas, aliada à inclusão de proteases na dieta, tem se mostrado promissora para melhorar a eficiência alimentar dos peixes. Nesse contexto, a suplementação com protease exógena, mesmo considerando a qualidade da proteína dos ingredientes e seus níveis de inclusão, pode otimizar o aproveitamento dos nutrientes por meio da liberação de aminoácidos, resultando em melhor digestibilidade, desempenho zootécnico e validação da matriz enzimática utilizada.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Animais e unidades experimentais

Os alevinos de tilápia do Nilo já submetidos a reversão sexual, foram adquiridos em uma fazenda na região de Jaguaruana, no estado do Ceará. Os animais vivos foram transportados em sacos plásticos resistentes, preenchidos com oxigênio e água dos próprios tanques de manutenção e transportados até o setor de Aquicultura da UFERSA, em Mossoró, RN onde o experimento foi executado. Todo o manejo experimental seguiu a legislação em vigor, sob protocolo 02/2023, aprovados pela CEUA/UFERSA.

Os peixes foram alojados em unidades experimentais compostas por tanques-rede confeccionados com nylon multifilamento revestido com PVC e malha de 5 mm, com volume útil de 1 m³, cada um equipado com sistema de aeração individual. Os tanques-rede foram instalados em tanques de alvenaria com dimensões de 15 m² × 1,2 m de profundidade, contendo água proveniente de poço artesiano com salinidade de 3 g/L. Os parâmetros de qualidade da água foram monitorados rotineiramente durante o experimento, permanecendo dentro dos valores recomendados.

4.2. Delineamento experimental, dietas e manejo

O experimento foi organizado em um delineamento fatorial 2x2, com duas dietas (Controle Positivo e Controle Negativo) e duas doses de suplementação do blend de protease (0 e 250g/t). Cada combinação de dieta e dose de protease foi repetida 8 vezes, com 25 tilápias em cada repetição.

O Controle Positivo (CP), foi formulado com base nas recomendações dos animais avaliados; o Controle Negativo (CN), teve redução nutricional de 100% da matriz da enzima. As dietas associadas com a dose de 250g/t do blend de proteases, resultaram nos tratamentos: CPE: CP + 250g/t do blend de proteases e CNE: CN + 250g/t do blend de proteases. Os animais foram alimentados até a saciedade aparente, por voleio e avaliados a cada 14 dias por um período total de 126 dias, (havendo apenas uma falta de obtenção de dados biométricos, devido não poder ter havido biometria neste respectivo período, que compreende aos 112 dias de cultivo).

As rações (Tabela 2) foram extrusadas e secas em sistema de circulação de ar, eliminados os finos em estação vibratória e armazenadas conforme recomendação.

Tabela 2: Rações experimentais, Controle Positivo (CP) e Controle Negativo (CN), utilizadas como base para a suplementação da protease exógena avaliada.

Descrição	Fase 1 (até 120g)		Fase 2 (120g +)	
	CP	CN	CP	CN
Farelo de Soja 45%	41,5955	42,7255	41,9323	43,1043
Milho 8% PB	21,6921	20,7420	21,1575	20,2494
Farelo de Trigo	8,0000	8,0000	8,0000	8,0000
Óleo soja	7,0000	7,0000	7,0000	7,0000
Fosfato bicálcico	5,0780	5,0780	6,0023	6,0023
Farinha de Peixe 53%	7,2504	7,1301	6,6903	6,4720
Premix Peixes	3,0000	3,0000	3,0000	3,0000
CO ₃ Ca fino	2,4667	2,4667	2,6996	2,6996
Sal	1,0993	1,0993	1,2024	1,2024
Farinha de carne 42%	0,6134	0,6134	0,5430	0,5430
Treonina	0,2566	0,2480	0,2346	0,2280
Lisina HCl	1,3200	1,2800	1,0300	1,0120
DL Metionina	0,5430	0,5320	0,4230	0,4020
Vitamina C	0,0500	0,0500	0,0500	0,0500
BHT	0,0100	0,0100	0,0100	0,0100
Inerte	0,0250	0,0250	0,0250	0,0250
Blend de proteases	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
Total	100,0000	100,0000	100,0000	100,0000
Descrição	CP	CN	CP	CN
Umidade	10,46	10,46	10,13	10,13
Mat. Seca	89,54	89,54	87,52	87,52
Cinza	12,78	12,78	12,78	12,78
Energia Digest Tilap	3036,00	2998,50	3075,00	3037,50
Proteína Digestível	26,81	25,81	24,30	23,30
Fibra	4,45	4,45	4,47	4,47
ADF	6,48	6,48	6,52	6,52
NDF	12,62	12,62	12,67	12,67
Amido	22,00	22,00	22,00	22,00
Metionina	0,55	0,52	0,48	0,45
Met+Cist	0,92	0,92	0,83	0,83
Lisina	1,53	1,47	1,38	1,32
Treonina	1,18	1,13	1,07	1,02
Triptofano	0,30	0,30	0,28	0,28
Arginina	1,67	1,67	1,54	1,54
Isoleucina	1,03	1,03	0,94	0,94
Leucina	1,88	1,88	1,73	1,73
Valina	1,15	1,15	1,04	1,04
Graxa	9,26	9,26	9,81	9,81
Ácido. Linoleico	4,64	4,64	5,17	5,17
Ácido. Linolênico	0,61	0,61	0,69	0,69
Ácido. Araquidônico	0,23	0,23	0,09	0,09
Cálcio	2,50	2,50	2,50	2,50
Fósforo	1,50	1,50	1,50	1,50
Sódio	0,50	0,50	0,50	0,50
Potássio	1,04	1,04	1,01	1,01
Cloro	0,79	0,79	0,78	0,78

ADF: Fibra detergente ácido; NDF: Fibra detergente neutro

4.3. Desempenho zootécnico

Para os aspectos de desempenho produtivo, após 126 dias, os animais foram despescados e avaliados quanto ao: Peso inicial: PI (g), Peso vivo: PV (g), consumo de ração: CR (g), ganho de peso: GP (g) = $(GP_f - GP_i)$, conversão alimentar: CA (g/g) = $(\text{consumo de ração} / \text{GP})$ e Sobrevivência: SOB (%) = $(\text{número final de peixes} / \text{número inicial de peixes}) \times 10$.

O consumo de ração foi obtido pela diferença entre o ofertado e as sobras por unidade experimental. Para conversão alimentar foram considerados os dados de ganho de peso e consumo de ração por unidade experimental.

Ao final do experimento, os animais foram abatidos por choque térmico para avaliações finais de coleta de materiais para outras análises para avaliações finais.

4.4. Análise estatística

A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk. Em seguida, a Análise de Variância (ANOVA) foi utilizada para determinar se havia diferenças significativas entre as médias dos tratamentos.

Quando uma diferença significativa foi encontrada, o teste de comparação múltipla de Tukey foi usado para identificar quais tratamentos eram significativamente diferentes. Todos os cálculos estatísticos foram realizados utilizando o software estatístico R (versão 4.1.0). Os resultados foram considerados significativos quando $p < 0,05$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Resultados | 14 dias

Houve interação significativa para o consumo de ração, ganho de peso e crescimento específico semanal, conforme Tabela 3. A suplementação enzimática influenciou o consumo de ração, e esse resultado provavelmente interferiu positivamente no Ganho de peso, haja vista que as tilápias que consumiram mais ração com a suplementação de 250 g/t de Protease na dieta CN (X vs Y) apresentaram maior ganho de peso e crescimento semanal e, por conseguinte, melhor conversão alimentar. No geral, a suplementação mostrou um maior consumo de ração, mas promoveu maior ganho de peso, crescimento semanal e melhor conversão alimentar das tilápias.

Tabela 3. Peso inicial (PI, g/peixe), peso vivo (PV, g/peixe), consumo de ração (CR, g/ peixe), ganho de peso (GP, g/ peixe), taxa de crescimento específico por semana (TCES, %), e conversão alimentar (CA, g/g) das tilápias alimentadas com dietas sem e com redução nutricional (CP e CN) suplementadas com 250g/t de protease exógena em 15 dias de cultivo

Efeitos	PI	PV	CR	GP	TCES	CA
Controle Positivo	14,618	35,694	24,990a	21,280	1063,979	1,180
Controle Negativo	14,642	35,218	24,646b	20,476	1023,823	1,216
0g/t Protease	14,589	34,385y	24,515y	19,900y	994,981	1,242y
250g/t Protease	14,671	36,528x	25,121x	21,856x	1092,821	1,153x
Interações						
CP 0g/t	14,301	34,722	24,869a	20,828a	1041,384a	1,199
CP 250g/t	14,935	36,667	25,111	21,731	1086,573	1,160
CN 0g/t	14,876	34,048	24,161Yb	18,972Yb	948,578Yb	1,285Y
CN 250g/t	14,408	36,389	25,130X	21,981X	1099,068X	1,147X
Nutrição	0,892	0,361	0,013	0,111	0,111	0,246
Protease	0,636	0,0003	0,0001	0,0004	0,0004	0,0072
Interação	0,094	0,702	0,010	0,040	0,040	0,118
C.V.(%)	3,340	4,090	1,480	6,620	6,620	7,230

Nos efeitos principais: a,b diferem entre si em relação à Nutrição (CP vs CN); x,y diferem entre si em relação à Protease (0g/t vs 250g/t). Na interação: a, b (0g/t | CP vs CN); A, B (250g/t | CP vs CN); x, y (CP | 0g/t vs 250g/t); X, Y (CN | 0g/t vs 250g/t).

5.2. Resultados | 28 dias

Houve interação significativa para o ganho de peso e conversão alimentar, conforme Tabela 4.

Maior ganho de peso foi observado no CN + 250g/t de protease, enquanto no geral, a suplementação de 250g/t de protease permitiu um ganho de 2,852g/peixe no período, independente se suplementada no CP ou CN.

A suplementação de 250g/t de protease incrementou o consumo dos peixes, com maior consumo observado na dieta CN+250g/t de protease.

A conversão foi melhor com 250g/t de protease. Na interação, o CP mostrou maior FCR que CN. Dentro da dieta CN, a suplementação de 250g/t de protease reduziu a conversão de 1,345 para 1,329.

Tabela 4. Peso inicial (PI, g/peixe), peso vivo (PV, g/peixe), consumo de ração (CR, g/ peixe), ganho de peso (GP, g/ peixe) e conversão alimentar (CA, g/g) das tilápias alimentadas com dietas sem e com redução nutricional (CP e CN) suplementadas com 250g/t de protease exógena em 28 dias de cultivo

Efeitos	PI	PV	CR	GP	CA
Controle Positivo	14,618	61,383	63,397	46,785	1,363
Controle Negativo	14,642	62,373	63,438	47,770	1,337
0g/t Protease	14,589	60,417y	62,303y	45,851y	1,367y
250g/t Protease	14,671	63,339x	64,532x	48,703x	1,333x
Interações					
CP 0g/t	14,301	59,491	62,309	45,187	1,389a
CP 250g/t	14,935	63,275	64,484	48,383	1,338
CN 0g/t	14,876	61,343	62,297	46,516Y	1,345Yb
CN 250g/t	14,408	63,403	64,580	49,024X	1,329X
Nutrição	0,892	0,4175	0,8304	0,4338	0,4600
Protease	0,636	0,0218	<0,001	0,0291	0,0364
Interação	0,094	0,4793	0,7816	0,0438	0,0271
C.V.(%)	3,340	5,5000	0,8600	7,4200	7,4300

Nos efeitos principais: a,b diferem entre si em relação à Nutrição (CP vs CN); x,y diferem entre si em relação à Protease (0g/t vs 250g/t). Na interação: a, b (0g/t | CP vs CN); A, B (250g/t | CP vs CN); x, y (CP | 0g/t vs 250g/t); X, Y (CN | 0g/t vs 250g/t).

5.3. Resultados | 42 dias

Não houve interação significativa na fase de 42 dias, exceto para a FCR, conforme Tabela 5. A dieta CN teve FCR superior que a dieta CP, enquanto ambas foram melhoradas nessa variável quando houve a suplementação de 250g/t de protease. Não houve diferença significativa entre as dietas CP e CN suplementadas com 250g/t de protease.

Maior peso vivo foi observado com a suplementação de 250g/t de protease, com um incremento de 9,754 g/peixe, em média, ao final dos 42 dias de cultivo. O consumo dos peixes com a suplementação enzimática foi superior, mas a dose de 250g/t de protease promoveu melhor FCR (1,148 vs. 1,295).

Tabela 5. Peso inicial (PI, g/peixe), peso vivo (PV, g/peixe), consumo de ração (CR, g/peixe), ganho de peso (GP, g/peixe) e conversão alimentar (CA, g/g) das tilápias alimentadas com dietas sem e com redução nutricional (CP e CN) suplementadas com 250g/t de protease exógena em 42 dias de cultivo

Efeitos	PI	PV	CR	GP	CA
Controle Positivo	14,618	86,539	88,926b	73,252	1,224
Controle Negativo	14,642	87,714	89,688a	74,642	1,219
0g/t Protease	14,589	83,542y	88,831y	69,070y	1,295y
250g/t Protease	14,671	90,712x	89,782x	78,825x	1,148x
Interações		PV42	CR42	GP42	FCR42
CP 0g/t	14,301	83,530	88,332	69,227	1,280xb
CP 250g/t	14,935	89,549	89,520	77,278	1,168y
CN 0g/t	14,876	83,553	89,330	68,914	1,311Xa
CN 250g/t	14,408	91,875	90,045	80,371	1,127Y
Nutrição	0,892	0,5408	0,0358	0,5231	0,8781
Protease	0,636	0,0008	0,0102	0,0001	0,0001
Interação	0,094	0,5488	0,4982	0,4348	0,0287
C.V.(%)	3,340	6,1600	1,0900	8,2200	7,6300

Nos efeitos principais: a,b diferem entre si em relação à Nutrição (CP vs CN); x,y diferem entre si em relação à Protease (0g/t vs 250g/t). Na interação: a, b (0g/t | CP vs CN); A, B (250g/t | CP vs CN); x, y (CP | 0g/t vs 250g/t); X, Y (CN | 0g/t vs 250g/t).

5.4. Resultados | 56 dias

Não houve interação significativa na fase de 56 dias, exceto para o consumo de ração, conforme Tabela 6. A dieta CN teve consumo superior que a dieta CP, enquanto ambas mostraram aumento dessa variável quando houve a suplementação de 250g/t de protease.

Maior peso vivo foi observado com a suplementação de 250g/t de protease, com um incremento de 9,595 g/peixe, em média, ao final dos 56 dias de cultivo. Na dieta CP e CN com a suplementação de 250g/t de protease, respectivamente, o incremento numérico no peso vivo foi de 6,099g/peixe e de 13,09g/peixe. Na FCR, a suplementação de 250g/t de protease melhorou os indicadores, mas sem efeito significativo.

Tabela 6. Peso inicial (PI, g/peixe), peso vivo (PV, g/peixe), consumo de ração (CR, g/ peixe), ganho de peso (GP, g/ peixe), e conversão alimentar (CA, g/g) das tilápias alimentadas com dietas sem e com redução nutricional (CP e CN) suplementadas com 250g/t de protease exógena em 56 dias de cultivo

Efeitos	PI	PV	CR	PV	CA
Controle Positivo	14,618	113,605	123,036	99,007	1,248b
Controle Negativo	14,642	109,346	123,808	94,743	1,329a
0g/t Protease	14,589	106,678y	122,696y	92,113y	1,346y
250g/t Protease	14,671	116,273x	124,149x	101,637x	1,231x
Interações					
CP 0g/t	14,301	110,556	122,931	96,252	1,280
CP 250g/t	14,935	116,655	123,141B	101,762	1,215
CN 0g/t	14,876	102,801	122,460Y	87,974	1,411
CN 250g/t	14,408	115,891	125,156XA	101,512	1,246
Nutrição	0,892	0,1356	0,1743	0,1323	0,0443
Protease	0,636	0,0017	0,0139	0,0017	0,0060
Interação	0,094	0,2177	0,0328	0,1555	0,2026
C.V.(%)	3,340	7,0300	1,2700	8,0300	8,4700

Nos efeitos principais: a,b diferem entre si em relação à Nutrição (CP vs CN); x,y diferem entre si em relação à Protease (0g/t vs 250g/t). Na interação: a, b (0g/t | CP vs CN); A, B (250g/t | CP vs CN); x, y (CP | 0g/t vs 250g/t); X, Y (CN | 0g/t vs 250g/t).

5.5. Resultados | 70 dias

A nível nutricional influenciou o peso vivo e o ganho de peso aos 70 dias de cultivo, sem afetar o consumo de ração, o que alterou a conversão alimentar. A suplementação de 250g/t de protease melhorou esses dados, especialmente na dieta Controle Negativo, conforme dados apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Peso inicial (PI, g/peixe), peso vivo (PV, g/peixe), consumo de ração (CR, g/ peixe), ganho de peso (GP, g/ peixe), taxa de crescimento específico por semana (TCES, %), e conversão alimentar (CA, g/g) das tilápias alimentadas com dietas sem e com redução nutricional (CP e CN) suplementadas com 250g/t de protease exógena em 70 dias de cultivo

Efeitos	PI	PV	CR	PV	CA
Controle Positivo	14,618	149,890a	183,218	135,292a	1,355b
Controle Negativo	14,642	143,750b	185,912	129,147b	1,454a
0g/t Protease	14,589	139,630y	184,026	125,064y	1,478x
250g/t Protease	14,671	154,010x	185,104	139,375x	1,332y
Interações					
CP 0g/t	14,301	146,759xa	182,138	132,456a	1,376
CP 250g/t	14,935	153,021y	184,299	138,128	1,335
CN 0g/t	14,876	132,500bY	185,915	117,673bY	1,580
CN 250g/t	14,408	155,000X	185,909	140,621X	1,328
Nutrição	0,892	0,0047	0,1511	0,0046	<0,001b
Protease	0,636	<0,001	0,5594	<0,001	<0,001B
Interação	0,094	0,0004	0,5574	0,0002	<0,001a
C.V.(%)	3,340	3,8500	2,8000	4,2600	3,6500A

Nos efeitos principais: a,b diferem entre si em relação à Nutrição (CP vs CN); x,y diferem entre si em relação à Protease (0g/t vs 250g/t). Na interação: a, b (0g/t | CP vs CN); A, B (250g/t | CP vs CN); x, y (CP | 0g/t vs 250g/t); X, Y (CN | 0g/t vs 250g/t).

5.6. Resultados | 84 dias

Após 84 dias de acesso às dietas experimentais, os peixes consumiram mais ração na dieta com redução nutricional, mas não converteram em ganho de peso, reduzindo a eficácia na conversão alimentar. A suplementação de 250g/t do blend de proteases ajustou esses resultados, incrementando ganho de peso e otimizando a conversão alimentar. Melhores resultados são observados na dieta com redução nutricional e suplementação de 250g/t do blend de proteases, conforme Tabela 8.

Tabela 8. Peso inicial (PI, g/peixe), peso vivo (PV, g/peixe), consumo de ração (CR, g/ peixe), ganho de peso (GP, g/ peixe), taxa de crescimento específico por semana (TCES, %), e conversão alimentar (CA, g/g) das tilápias alimentadas com dietas sem e com redução nutricional (CP e CN) suplementadas com 250g/t de protease exógena em 84 dias de cultivo

Efeitos	PI	PV	CR	PV	CA
Controle Positivo	14,618	203,652	213,701b	189,054	1,143b
Controle Negativo	14,642	195,477	222,906a	180,874	1,254a
0g/t Protease	14,589	187,901y	218,384	173,336y	1,277x
250g/t Protease	14,671	211,228x	218,223	196,592x	1,120y
Interações					
CP 0g/t	14,301	199,639a	213,741b	185,336a	1,167b
CP 250g/t	14,935	207,664	213,661B	192,771	1,118
CN 0g/t	14,876	176,163Yb	223,027a	161,336Yb	1,386Ya
CN 250g/t	14,408	214,792X	222,785A	200,413X	1,121X
Nutrição	0,892	0,1881	0,0012	0,1880	0,0034
Protease	0,636	0,0006	0,9501	0,0006	0,0001
Interação	0,094	0,0175	0,9751	0,0144	0,0041
C.V.(%)	3,340	8,5900	3,3100	9,2700	8,1600

Nos efeitos principais: a,b diferem entre si em relação à Nutrição (CP vs CN); x,y diferem entre si em relação à Protease (0g/t vs 250g/t). Na interação: a, b (0g/t | CP vs CN); A, B (250g/t | CP vs CN); x, y (CP | 0g/t vs 250g/t); X, Y (CN | 0g/t vs 250g/t).

5.7. Resultados | 98 dias

Após 98 dias de acesso às dietas experimentais, os peixes consumiram mais ração na dieta com redução nutricional, mas sem influência no ganho de peso e na conversão alimentar, Tabela 9. A suplementação de 250g/t do blend de proteases na dieta CN incrementou peso vivo ($P=0,0006$) e ganho de peso ($P=0,0006$), otimizando a conversão alimentar ($P=0,0645$).

Não houve interação significativa, muito embora, a suplementação de 250g/t do blend de proteases ter incrementado o consumo de ração aparente nas dietas CP, e uma redução na CN, por outro lado, melhorou o GP e a FCR nessas duas dietas de forma eficaz.

A dieta CN promoveu redução de 0,09g/d/peixe no ganho de peso em relação à dieta CP, enquanto a suplementação de 250g/t do blend de proteases aumentou

esse ganho em 0,36g/d/peixe na média, e mais especificamente em 0,18g/d/peixe e 0,54g/d/peixe nas dietas CP e CN, respectivamente.

Os melhores resultados mostram consolidação da dieta com redução nutricional e suplementação de 250g/t do blend de proteases.

Tabela 9. Peso inicial (PI, g/peixe), peso vivo (PV, g/peixe), consumo de ração (CR, g/peixe), ganho de peso (GP, g/peixe), taxa de crescimento específico por semana (TCES, %), e conversão alimentar (CA, g/g) das tilápias alimentadas com dietas sem e com redução nutricional (CP e CN) suplementadas com 250g/t de protease exógena em 98 dias de cultivo

Efeitos	PI	PV	CR	PV	CA
Controle Positivo	14,618	230,781	264,245b	216,183	1,254
Controle Negativo	14,642	221,722	278,614a	207,119	1,388
0g/t Protease	14,589	208,464y	272,280	193,899y	1,448x
250g/t Protease	14,671	244,039x	270,579	229,403x	1,194y
Interações		PV98	CR98	GP98	FCR98
CP 0g/t	14,301	221,285	263,916b	206,981	1,322b
CP 250g/t	14,935	240,277	264,574B	225,384	1,186
CN 0g/t	14,876	195,643Y	280,644a	180,816Y	1,574Ya
CN 250g/t	14,408	247,801X	276,584A	233,422X	1,202X
Nutrição	0,892	0,3323	0,0013	0,3300	0,0645
Protease	0,636	0,0006	0,6765	0,0006	0,0011
Interação	0,094	0,0817	0,5634	0,0719	0,1021
C.V.(%)	3,340	11,4800	4,2000	12,2200	14,9200

Nos efeitos principais: a,b diferem entre si em relação à Nutrição (CP vs CN); x,y diferem entre si em relação à Protease (0g/t vs 250g/t). Na interação: a, b (0g/t | CP vs CN); A, B (250g/t | CP vs CN); x, y (CP | 0g/t vs 250g/t); X, Y (CN | 0g/t vs 250g/t).

5.8. Resultados | 126 dias

A suplementação com a dose de 250 g/t do blend de proteases resultou em uma redução no consumo de ração e em melhorias significativas no desempenho zootécnico. Observou-se uma interação estatisticamente significativa para peso vivo ($p = 0,0284$), ganho de peso ($p = 0,0253$) e conversão alimentar ($p = 0,0356$), conforme detalhado na Tabela 10. A suplementação com 250 g/t do blend de proteases favoreceu maiores médias de peso vivo e ganho de peso, além de um menor consumo de ração nos grupos CPE e CNE em comparação aos grupos CP e CN. Embora não

tenha sido observada uma interação significativa entre os tratamentos para a variável sobrevivência, os grupos CPE e CNE apresentaram as maiores taxas de sobrevivência (81,1%), enquanto o grupo CN obteve a menor taxa (71,0%).

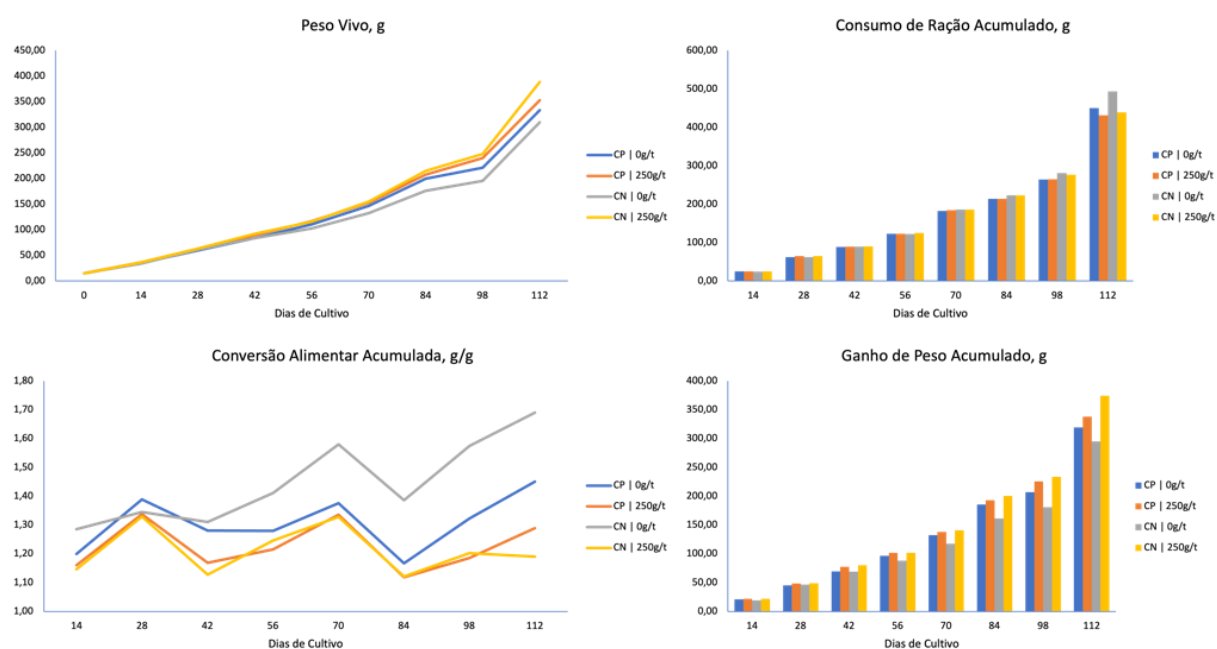
Tabela 10. Peso inicial (PI, g/peixe), peso vivo (PV, g/peixe), consumo de ração (CR, g/ peixe), ganho de peso (GP, g/ peixe), taxa de crescimento específico por semana (TCES, %), e conversão alimentar (CA, g/g) das tilápias alimentadas com dietas sem e com redução nutricional (CP e CN) suplementadas com 250g/t de protease exógena em 126 dias de cultivo

Efeitos	PI	PV	CR	PV	CA	VIAB
Controle Positivo	14,618	343,278	440,994b	328,680	1,370	77,778
Controle Negativo	14,642	349,342	466,224a	334,739	1,440	76,056
0g/t Protease	14,589	321,741y	471,941x	307,176y	1,571x	73,889
250g/t Protease	14,671	370,879x	435,278y	356,243x	1,240y	79,944
Interações		PV126	CR126	GP126	FCR126	VIAB126
CP 0g/t	14,301	333,485	450,421b	319,181	1,451b	76,778
CP 250g/t	14,935	353,071	431,568B	338,178	1,289A	78,778
CN 0g/t	14,876	309,998Y	493,460a	295,171Y	1,690a	71,000
CN 250g/t	14,408	388,686X	438,988A	374,307X	1,190B	81,111
Nutrição	0,892	0,6389	0,0389	0,6377	0,3691	0,5889
Protease	0,636	0,0006	0,0039	0,0006	0,0002	0,0648
Interação	0,094	0,0284	0,1374	0,0253	0,0356	0,2085
C.V.(%)	3,340	10,4400	7,2600	10,8500	15,4600	11,5800

Nos efeitos principais: a,b diferem entre si em relação à Nutrição (CP vs CN); x,y diferem entre si em relação à Protease (0g/t vs 250g/t). Na interação: a, b (0g/t | CP vs CN); A, B (250g/t | CP vs CN); x, y (CP | 0g/t vs 250g/t); X, Y (CN | 0g/t vs 250g/t).

Figura 1. Efeito dos dados de desempenho de tilápias alimentadas com dietas sem e com redução nutricional (CP e CN) suplementadas com 250g/t de protease exógena em 126 dias de cultivo.

Figura 1. Efeito dos dados de desempenho de tilápias alimentadas com dietas sem e com redução nutricional (CP e CN) suplementadas com 250g/t de protease exógena em 126 dias de cultivo.



A composição corporal apresentou interação significativa para os parâmetros de umidade ($p = 0,000$) e lipídeos ($p = 0,002$), indicando que esses fatores foram influenciados pela suplementação enzimática. Houve também diferença significativa no teor de lipídeos para os animais alimentados com as dietas CPE e CNE em comparação com as dietas sem suplementação de enzimas. Para os demais parâmetros analisados, não foram detectadas diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os tratamentos (Tabela 11).

Tabela 11. Composições corporais de *O. niloticus* alimentadas com dietas experimentais durante 90 dias

Efeitos Principais	Umidade	Proteína	Lipídeos	Cinzas
CP	81,48a	16,25b	6,64b	4,28a
CN	80,93b	18,46a	9,94a	4,35a
0g/t protease	81,13A	17,32A	7,05B	4,23A
250g/t protease	81,28A	17,40A	9,53A	4,41A
Interação				
CP	81,82a	15,28a	5,72b	4,52a
CPE	81,14a	17,23a	7,57a	4,05a
CN	80,45A	19,36A	8,38B	4,29A
CNE	81,42A	17,57A	11,49A	4,41A
Nutrição	0,002	0,028	0,000	0,644
Protease	0,292	0,928	0,000	0,246
Interação	0,000	0,053	0,002	0,069
C.V. (%)	0,27	8,26	2,95	5,71

Nos efeitos principais: a,b diferem entre si em relação à Nutrição (CP vs CN) e Protease (0g/t vs 250g/t). Na interação: (CP vs CPE); (CN vs CNE).

Na Tabela 12 - são apresentados os dados do ensaio de digestibilidade. Os dados mostram uma melhora na digestibilidade com a suplementação de 250g/t de protease exógena na dieta das tilápias.

Tabela 12. Composição analisada das Dietas, composição analisada das Excretas e os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA, %) da proteína, energia, metionina, lisina, treonina, triptofano, arginina, isoleucina e valina de tilápias alimentadas com dietas sem e com redução nutricional (CP e CN) suplementadas com 250g/t de protease exógena

	Dietas				Excretas				CDA			
	CP	CPE	CN	CNE	CP	CPE	CN	CNE	CP	CPE	CN	CNE
Energia, kcal	2444,8	2527,3	2497,7	2733,2	1696,2	1809,9	1742,6	2076,1	69,38	71,61	69,77	75,96
Proteína, %	24,0	23,8	22,6	22,3	18,1	18,5	17,8	18,4	75,49	78,03	78,89	82,56
Metionina, %	0,5	0,4	0,4	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	71,67	72,68	69,76	75,13
Lisina, %	1,2	1,3	1,2	1,2	0,8	0,9	0,9	1,0	68,11	72,70	73,46	78,26
Treonina, %	1,1	1,1	0,9	1,0	0,8	0,8	0,7	0,8	77,18	79,51	73,68	80,61
Triptofano, %	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	89,70	92,89	88,70	89,86
Arginina, %	1,5	1,5	1,4	1,4	1,2	1,1	1,1	1,1	76,48	74,19	75,98	79,00
Isoleucina, %	0,9	1,0	0,8	0,9	0,7	0,7	0,6	0,7	77,41	78,60	76,01	79,57
Valina, %	1,0	1,0	0,9	0,9	0,7	0,7	0,7	0,7	73,21	73,39	74,50	76,66

A melhoria no desempenho de crescimento pode ser atribuída a uma melhor utilização da ração, digestibilidade de nutrientes e saúde intestinal dos peixes. Além disso, a suplementação de protease estimula a produção de peptidase endógena que, em última análise, aumenta a atividade endógena da protease, o que, consequentemente, melhorou a utilização de aminoácidos e a absorção de nutrientes (Lin et al., 2007). No geral, os resultados indicam que a suplementação de protease

exógena na dieta das tilápias mostrou efeitos significativos no desempenho desde os primeiros 14 dias de acesso às dietas experimentais.

Salienta-se, porém, que a digestibilidade dos nutrientes depende da atividade das proteases endógenas e exógenas no sistema digestório. O pH do trato gastrointestinal dos peixes tem uma influência direta na atividade das proteases (Dabrowski & Glogowski, 1977). As proteases ácidas, como a pepsina, agem em um ambiente ácido, no estômago dos peixes, enquanto as proteases neutras e/ou alcalinas, tripsina e quimotripsina, agem em porções neutras e/ou alcalinas do intestino. A tilápia do Nilo (*O. niloticus*) alimentadas com dietas de base vegetal com a adição de enzimas exógenas (protease, β -glucanase e xilanase) aumentaram a secreção de protease endógena (tripsina) no sistema digestório e apresentaram maior retenção de proteínas (Lin et al., 2007). Segundo Saleh et al (2021), a suplementação de protease exógena pode contribuir com a melhora na qualidade da água dos peixes por meio da redução do teor de amônia e nitrito, ou por meio do aumento da degradação da proteína dietética.

No estudo em tela, foi realizado um ensaio de digestibilidade aparente, e os resultados mostraram que a suplementação de 250g/t de do blend de proteases incorpora digestibilidade aparente de proteína, energia e aminoácidos essenciais em ambas as dietas avaliadas (Tabela 12). Esses dados consolidam os ganhos obtidos em performance dos animais, isso porque validam a ação enzimática sobre o substrato proteico da dieta, haja vista que a presença de proteases exógenas na ração proporciona maior digestibilidade de nutrientes, especialmente proteínas (Farhangi, 2007; Shi et al., 2016; Ragaa et al., 2017; Kemigabo et al., 2019).

A suplementação de proteases exógenas estimula a liberação de enzimas digestivas endógenas para a quebra de proteínas e lipídios. As proteases catalisam a hidrólise de proteínas complexas em unidades mais simples, facilitando a digestão e absorção de nutrientes, dessa forma, ao hidrolisar proteínas complexas e antinutrientes a digestão proteica é significativamente melhorada e a emissão de compostos nitrogenados é reduzida (Maryam et al. 2024; Anadón et al. 2019).

De modo geral, os resultados do presente estudo, indicam que a suplementação com o blend de proteases exógenas na dieta das tilápias, promoveu efeitos significativos no desempenho de crescimento dos animais e na utilização das rações.

Em comparação com as dietas sem suplementação do blend de proteases, o BW (peso vivo) e BGW (ganho de peso) foram significativamente maiores e o FI (consumo de ração) foi significativamente menor nos grupos alimentados com as dietas CPE e CNE, esses resultados mostram que a suplementação das dietas com o blend de proteases foi eficaz em melhorar o ganho de peso com menor consumo de ração, sugerindo que houve adaptação do blend de proteases ao ambiente ácido do estômago e neutro do intestino da tilápia (Wu et al., 2024).

Estudos revelam que peixes alimentados com dietas suplementadas com proteases exógenas apresentam melhores taxas de crescimento e eficiência alimentar, pois essas enzimas aumentam a disponibilidade de aminoácidos e peptídeos essenciais para o crescimento dos animais (Schneider e Lazzari 2022; Deng et al., 2021).

Saleh et al. (2021) avaliaram o impacto da suplementação de 500 g/ton de protease em dietas com diferentes níveis de proteína bruta para peixes. Após 14 semanas, peixes alimentados com dietas de baixa proteína suplementadas com protease apresentaram crescimento e eficiência alimentar semelhantes aos do grupo controle com alta proteína, enquanto o grupo de baixa proteína sem protease teve desempenho inferior. A suplementação com protease mostrou-se eficaz em melhorar o crescimento, aumentar a eficiência proteica e reduzir os custos de alimentação, destacando seu potencial para otimizar a produção aquícola.

Em estudo realizado por Wu et al. (2019), cinco dietas experimentais com níveis crescentes de protease foram administradas por 60 dias. Foi observado que o ganho de peso aumentou com a suplementação de protease até o nível de 5,52 U/g em dieta vegetal, mas reduziu-se significativamente com doses mais elevadas. A suplementação de 5,52 U/g mostrou-se ideal para favorecer o desempenho de crescimento.

Esses achados ressaltam o impacto positivo da suplementação de protease sobre o desempenho de crescimento em dietas vegetais, destacando também sua influência na atividade enzimática digestiva.

Estudos indicam que a suplementação de protease pode estimular a atividade da enzima proteolítica endógena, aumentando ainda mais a absorção de nutrientes (Maryam et al. 2024; Schneider e Lazzari 2022). Essa interação entre a suplementação de protease e a atividade enzimática ressalta o papel fundamental das

enzimas digestivas no metabolismo dos peixes, destacando sua contribuição para a digestão eficiente e para o crescimento.

A suplementação com protease exógena em doses adequadas melhora o desempenho de crescimento da tilápia, preserva a integridade intestinal e reduz a fermentação de proteínas no intestino posterior (Wu et al., 2020; Hoque et al., 2023). Esses benefícios resultam do aumento na absorção de nutrientes, potencialização da degradação proteica e inativação de fatores antinutricionais, permitindo reduzir o uso de farinha de peixe e produzir dietas mais econômicas e eficientes (Saleh et al., 2022).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A suplementação com o blend de proteases ácidas e alcalinas em dietas para tilápia do Nilo demonstrou melhorar significativamente o desempenho zootécnico e a digestibilidade aparente de proteína, energia e aminoácidos essenciais em ambas as dietas avaliadas.

Os peixes obtiveram maior peso e ganho ao longo do período experimental quando alimentados com dietas com 250g/t e protease, onde ganharam uma média de 2.44g/d e 2.83g/d, respectivamente sem e com suplementação de 250g/t. Essa suplementação permitiu um incremento de 0,39g/d no ganho de peso, e de modo específico, 0.15g/d na dieta CP e 0.63g/d na dieta CN.

Esses resultados destacam o potencial do blend de proteases como uma estratégia eficaz para otimizar a produtividade aquícola. Recomenda-se sua inclusão nas dietas, na concentração de 250 g/t, visando maior eficiência produtiva e redução nos custos de produção.

7. REFERÊNCIAS

Anadón, A.; Ares, I.; Martínez-Larrañaga, M.R.; Martínez, M.A. Enzymes in Feed and Animal Health. Em *Nutraceuticals in Veterinary Medicine*; Springer International Publishing: Cham, 2019; p. 303–313 ISBN 9783030046231.

BATISTA, L. G. et al. The effects of protease supplementation in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) on growth performance, nutrient digestibility, and waste production. *Aquaculture*, v. 507, p. 38-43, 2019.

Boyd, C.E.; D'Abramo, L.R.; Glencross, B.D.; Huyben, D.C.; Juarez, L.M.; Lockwood, G.S.; McNevin, A.A.; Tacon, A.G.J.; Teletchea, F.; Tomasso, J.R., Jr; et al. Achieving Sustainable Aquaculture: Historical and Current Perspectives and Future Needs and Challenges. *J. World Aquac. Soc.* 2020, 51, 578–633, doi:10.1111/jwas.12714.

FAO. *Estatísticas da Pesca e da Aquicultura 2019/FAO Annuaire. Statistiques Des Pêches et de l'aquaculture 2019/FAO Anuario. Estatísticas de Pesca e Acuicultura 2019*; FAO: Roma, Itália, 2021.

FEITOSA, N. M. et al. Digestive protease supplementation for Nile tilapia juveniles (*Oreochromis niloticus*): performance, fillet quality and digestive enzymes activity. *Aquaculture Research*, v. 52, n. 1, p. 316-327, 2021.

Furuya, W.M.; Cruz, T.P. da; Gatlin, D.M., 3rd Amino Acid Requirements for Nile Tilapia: An Update. *Animals (Basel)* 2023, 13, doi:10.3390/ani13050900.

Hassaan, M.S.; El-Sayed, A.I.M.; Soltan, M.A.; Iraqi, M.M.; Goda, A.M.; Davies, S.J.; El-Haroun, E.R.; Ramadan, H.A. Partial Dietary Fish Meal Replacement with Cotton Seed Meal and Supplementation with Exogenous Protease Alters Growth, Feed Performance, Hematological Indices and Associated Gene Expression Markers (GH, IGF-I) for Nile Tilapia, *Oreochromis Niloticus*. *Aquaculture* 2019, 503, 282–292, doi:10.1016/j.aquaculture.2019.01.009.

HENRIQUES, Juliano Kelvin dos Santos; PIRES, Bruno da Silva; RODRIGUES, Rômulo Batista. Utilização de subprodutos da indústria pesqueira na nutrição de

peixes. Alimentação, aproveitamento de subprodutos, resíduos industriais, tecnologia do pescado, Vol. 17, Nº 05, set/out de 2020. ISSN: 1983-9006. **Nutritime Revista Eletrônica.** Disponível em: <<https://nutritime.com.br/wp-content/uploads/2020/09/Artigo-525.pdf>>.

Hoque, M.R.; Song, J.H.; Kim, I.H. Exogenous Protease Supplementation to the Diet Enhances Growth Performance, Improves Nitrogen Utilization, and Reduces Stress in Finishing Pigs. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.)* 2023, *107*, 495–503, doi:10.1111/jpn.13722.

Li, X.Q.; Chai, X.Q.; Liu, D.Y.; Kabir Chowdhury, M.A.; Leng, X.J. Effects of Temperature and Feed Processing on Protease Activity and Dietary Protease on Growths of White Shrimp, *Litopenaeus Vannamei*, and Tilapia, *Oreochromis Niloticus* × *O. Aureus*. *Aquac. Nutr.* 2016, *22*, 1283–1292, doi:10.1111/anu.12330.

Li, X.-Q.; Zhang, X.-Q.; Kabir Chowdhury, M.A.; Zhang, Y.; Leng, X.-J. Dietary Phytase and Protease Improved Growth and Nutrient Utilization in Tilapia (*Oreochromis Niloticus* × *Oreochromis Aureus*) Fed Low Phosphorus and Fishmeal-Free Diets. *Aquac. Nutr.* 2019, *25*, 46–55, doi:10.1111/anu.12828.

Liang, Q.; Yuan, M.; Xu, L.; Lio, E.; Zhang, F.; Mou, H.; Secundo, F. Application of Enzymes as a Feed Additive in Aquaculture. *Mar. Life Sci. Technol.* 2022, *4*, 208–221, doi:10.1007/s42995-022-00128-z.

Lin, S.; Mai, K.; Tan, B. Effects of Exogenous Enzyme Supplementation in Diets on Growth and Feed Utilization in Tilapia, *Oreochromis Niloticus* × *O. Aureus*. *Aquac. Res.* 2007, *38*, 1645–1653, doi:10.1111/j.1365-2109.2007.01825.x.

Maryam; Shah, S.Z.H.; Fatima, M.; Nadeem, H.; Ashraf, S.; Hussain, M. Roles of Dietary Supplementation of Exogenous Protease in Low Fishmeal Aquafeed – A Mini Review. *Ann. Anim. Sci.* 2024, *24*, 27–39, doi:10.2478/aoas-2023-0036.

Mohamed S. Hassaan, Eman Y. Mohammady, Ahmed M. Adnan, Heba E. Abd Elnabi, M. Farag Ayman, Magdy A. Soltan, Ehab R. El-Haroun. Effect of dietary protease at

different levels of malic acid on growth, digestive enzymes and haemato-immunological responses of Nile tilapia, fed fish meal free diets, *Aquaculture*, Volume 522, 2020, 735124, ISSN 0044-8486, Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735124>>.

OLIVEIRA, Elenise Gonçalves de; SANTOS, Francisco José de Seixas; PEREIRA, Alitienne Moura L.; LIMA, Carolyny Batista. Produção de tilápia: Mercado, espécie, biologia e recria. Circular Técnica vol. 45, ISSN 0104-7633. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. EMBRAPA, Teresina, PI dezembro, 2007. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/69806/1/Circular45.pdf>>.

RAGAA, N. M. et al. Effect of a serine-protease on performance parameters and protein digestibility of cultured *Oreochromis niloticus* fed diets with different protein levels. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 16, n. 3, p. 148–154, 2017. DOI: Disponível em: <<https://doi.org/10.3923/pjn.2017.148.154>>.

Ringø, E.; Erik Olsen, R.; Gonzalez Vecino, J.L.; Wadsworth, S. Use of Immunostimulants and Nucleotides in Aquaculture: A Review. *J. Mar. Sci. Res. Dev.* 2011, 02, doi:10.4172/2155-9910.1000104.

ROMANZINI, Gabriel de Brito; COSTA, Caroline Pereira da. Cultivo da tilápia do Nilo (*oreochromis niloticus*) em tanques-rede: uma revisão de Literatura. **Revista JRG de Estudos Acadêmicos**, Ano 6, Vol. VI, n.13, jul.-dez., 2023. Disponível em: <<http://revistajrg.com/index.php/jrg/article/view/630>>.

Saleh, E. S. E., tawfeek, S. S., Abdel-Fadeel, A. A. A., Abdel-Daim, A. S. A., Abdel-Razik, A.-R. H., & Youssef, I. M. I. (2022). Effect of dietary protease supplementation on growth performance, water quality, blood parameters and intestinal morphology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, 106, 419–428. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/jpn.13591>>.

SANTOS, E. B. et al. Effects of dietary supplementation with an exogenous protease on growth, digestive enzymes activity and intestinal microbiota of Nile tilapia. *Aquaculture Research*, v. 51, n. 12, p. 5721-5731, 2020.

Schneider, T.L.S.; Lazzari, R. Nutritional implications of exogenous proteases in fish feeding. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha** 2022, 28, 70–93, doi:10.36812/pag.202228170-93.

SCHNEIDER, Thamara Luísa Staudt. **PROTEASE EXÓGENA EM DIETAS PARA TILÁPIAS DO NILO (*OREOCHROMIS NILOTICUS*)**, 2024. 137p.; 30 cm. Disponível em:

<https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/32532/TES_PPGZOOTECNIA_2024_SCHNEIDER_THAMARA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

Shi, Z.; Li, X.-Q.; Chowdhury, M.A.K.; Chen, J.-N.; Leng, X.-J. Effects of protease supplementation in low fish meal pelleted and extruded diets on growth, nutrient retention and digestibility of gibel carp, *Carassius auratus gibelio*. *Aquaculture* 2016, 460, 37–44, doi:10.1016/j.aquaculture.2016.03.049.

SOARES, Emerson Carlos.; FILHO, Manoel Pereira.; ROUBACH, Rodrigo.; SILVA, Renato Carlos Soares e. Protease exógena em dietas para juvenis de tucunaré-paca (*Cichla* sp.). *Aqüicultura R. Bras. Zootec.* 37 (6) Jun 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1516-35982008000600003>>.

SOUZA, Joice Teixeira de. Avaliação e validação de uma matriz de proteases exógenas na nutrição de tilápia (*Oreochromis niloticus*). Disponível em: <<https://periodicos.ufersa.edu.br/rsemic/article/view/13380/11979>>.

Wu, J.; Yu, T.; Wang, Q.; Zhang, C.; Fu, D.; Liu, W.; Jiang, M.; Xu, L.; Zhou, Y.; Wu, J. Effects of Dietary Microbial Protease on Growth Performance, Nutrient Apparent Digestibility, Hepatic Antioxidant Capacity, Protease Activities and Intestinal Microflora in Juvenile Genetically Improved Farmed Tilapia, *Oreochromis Niloticus*. *Aquac. Rep.* 2024, 34, 101894, doi:10.1016/j.aqrep.2023.101894.

Wu, J.-J.; Liu, W.; Jiang, M.; Zhou, Y.; Wang, W.-M.; Wen, H.; Liu, H. Beneficial Effects of Dietary Exogenous Protease on the Growth, Intestinal Health and Immunity of GIFT (*Oreochromis Niloticus*) Fed Plant-based Diets. *Aquac. Nutr.* 2020, 26, 1822–1834, doi:10.1111/anu.13132.