



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

Mário Augusto Monteiro Silva

**Avaliação da eficácia de doses crescentes de protease na dieta de
tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**

MOSSORÓ

2024

Mário Augusto Monteiro Silva

**Avaliação da eficácia de doses crescentes de protease na dieta de
tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**

Monografia apresentada à Universidade
Federal Rural do Semi-Árido como requisito
para obtenção do título de Bacharel em
Zootecnia.

Orientador: Prof. Dr. Matheus Ramalho de
Lima

MOSSORÓ

2024

© 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.

S586a Silva, Mário Augusto Monteiro.
Avaliação da eficácia de doses crescentes de
protease na dieta de tilápia do Nilo
(Oreochromis niloticus) / Mário Augusto Monteiro
Silva. - 2024.
36 f. : il.

Orientador: Matheus Ramalho Lima.
Monografia (graduação) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Curso de Zootecnia, 2024.

1. Piscicultura. 2. Produção animal. 3.
Desempenho. 4. Qualidade de carne. 5. Rendimento
de filé. I. Lima, Matheus Ramalho, orient. II.
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.

Mário Augusto Monteiro Silva

**Avaliação da eficácia de doses crescentes de protease na dieta de
tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**

Monografia apresentada a Universidade
Federal Rural do Semi-Árido como requisito
para obtenção do título de Bacharel em
Zootecnia.

Defendida em: 23 / 10 / 2024 .

BANCA EXAMINADORA

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

M.Sc. Marcos Aurelio Victor de Assunção
Membro Examinador

Dra. Juliana Forgiarini (Quimtia S.A)
Membro Examinador

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, pelo dom da vida e por todas as oportunidades que me foram dadas. Sou grato por ter recebido força e coragem para chegar até aqui e por estar realizando mais esse sonho.

Aos meus pais, Gilmario da Silva e Jozelia Monteiro Silva, minha eterna gratidão por todo o esforço dedicado para que eu tivesse a chance de trilhar este caminho. Mesmo diante das dificuldades, vocês nunca mediram esforços. Obrigado por tudo.

Aos meus irmãos, por sempre acreditarem em meu potencial e me incentivarem a correr em busca dos meus objetivos, e estarem presentes em todos os momentos da minha vida, enfrentando as dificuldades e comemorando as conquistas juntos e unidos.

À minha namorada, Johana Lara Barreto da Silva, pelo companheirismo e motivação de todos os dias, por não me deixar desistir nos dias mais difíceis e sempre me mostrando que sou capaz, e motivando a seguir em frente.

Às minhas avós e meus tios que sempre me incentivaram a estudar e apoiaram minhas escolhas.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Matheus Ramalho de Lima, sou profundamente grato pelos ensinamentos e conhecimentos compartilhados durante minha participação no grupo de pesquisa. Seus conselhos e a confiança que depositou em mim foram fundamentais.

Aos demais membros da banca examinadora, Marcos Aurélio e Juliana Forgiarini, agradeço a disponibilidade de estarem agregando na minha carreira profissional.

À empresa Quimtia S.A, representada na pessoa de Juliana pela oportunidade de realizar essa pesquisa e ceder os produtos necessários para condução do experimento, e se mostrar disponível a novos projetos.

Aos meus amigos, Ana Elidarly da Cunha, Janyne Lorena Batista de França, Vanessa Maria Freitas da Silva e Wellesom da Silva Marinho que estiveram presentes durante toda a minha trajetória na graduação, obrigado pelos puxões de orelhas e companheirismo.

A todas as amigas que conquistei ao longo desses anos de graduação, sou grato a cada um de vocês, por me ensinarem algo, seja na vida pessoal ou profissional. Levarei esses aprendizados comigo para sempre. Obrigado por tornarem os dias mais leves e divertidos, mesmo quando o cansaço dominava.

À EMJUZ, Empresa Júnior de Zootecnia da UFERSA, quero expressar meu imenso agradecimento a todos os membros e ex-membros que estiveram presentes na minha

trajetória. Vocês foram essenciais para minha formação profissional. Obrigado pelas oportunidades de crescimento

Aos membros do Grupo de Pesquisa - Inovação Tecnológica e Produção Animal de Precisão, meus sinceros agradecimentos por toda a trajetória e auxílio no decorrer da execução desse projeto.

À Maria Érica da Silva Oliveira e Joice Teixeira Souza, amigas que conquistei nessa trajetória, meu muito obrigado pelo acolhimento, apoio e incentivo durante esse período de pesquisa e auxílio nas análises realizadas do projeto.

A Naiane Cristina de Lima Silva e Marcos Aurelio Victor de Assunção, por servirem de apoio para que eu pudesse chegar ao fim dessa jornada.

Minha eterna gratidão a cada professor que compartilhou seus conhecimentos durante essa jornada, permitindo que eu evoluísse a cada dia.

E, por fim, a todos que não foram mencionados diretamente, mas que, de alguma forma, contribuíram para minha trajetória acadêmica e pessoal, o meu sincero agradecimento!

"Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo o propósito debaixo do céu. Há tempo de nascer, e tempo de morrer; tempo de plantar, e tempo de arrancar o que se plantou;"

Eclesiastes 3: 1 e 2

RESUMO

A aquicultura se configura como uma das atividades de produção de alimentos que mais tem crescido nos últimos anos, no entanto, a alimentação dos peixes representa um fator crítico para o sucesso dessa produção. Nesse contexto, a suplementação de enzimas apresenta potencial a ser explorado na piscicultura, servindo como uma alternativa promissora para a melhoria da digestibilidade da ração e o potencial aumento da absorção dos nutrientes pelos peixes. Assim, foi desenvolvido um estudo com o objetivo de avaliar os efeitos da suplementação de doses crescentes de uma protease ácida na ração de tilápias do Nilo. O delineamento foi inteiramente ao acaso com 6 tratamentos, cada um com 6 réplicas de 25 tilápias com peso inicial de $\pm 14\text{g/peixe}$. Os tratamentos consistiram em uma dieta basal formulada para atendimento nutricional dos peixes (Controle), a qual foi suplementada com doses crescentes de uma protease exógena (25, 50, 75, 100 e 125g/t). Após 135 dias de acesso às dietas experimentais, foram realizadas análises laboratoriais, incluindo avaliação de desempenho e rendimentos, histologia dos tecidos, análises físico-químicas e instrumentais do pescado, bem como análises físico-químicas da água. Os dados foram analisados via equações polinomiais. Os resultados mostraram que o peso vivo ($P<0,001$), o ganho de peso ($P<0,001$) e a conversão alimentar ($P<0,001$) apresentaram efeitos significativos. Observou-se um incremento no rendimento de filé e de peixe eviscerado, além da redução do índice de gordura visceral. A carne das tilápias apresentou uma influência linear decrescente no pH ($P=0,0057$) e na perda de peso por cocção ($P=0,0194$) nos filés sem pele. Em conclusão, a suplementação de protease na dieta de tilápias permite melhoria do desempenho produtivo, o aumento do rendimento de filé e a redução do índice de gordura visceral, sendo recomendadas doses entre 50 e 100g/t da protease exógena.

Palavras-chave: Piscicultura; Produção animal; Desempenho; Eficiência; Qualidade de carne; Rendimento de filé.

ABSTRACT

Aquaculture has emerged as one of the rapidly growing food production activities in recent Years, however, the issue of fish feed remains a critical factor for the success of this production. In this context, the addition of enzymes presents an area of potential exploration in fish farming, offering a promising alternative for enhancing feed digestibility and potentially increasing nutrient absorption by fish. Therefore, a study was conducted to assess the effects of supplementing increasing doses of an acid protease in the diet of Nile tilapia. The experiment followed a completely randomized design with 6 treatments. Each treatment consisted of 6 replicates of 25 tilapia with an initial weight of approximately 14g per fish. The treatments included a basal diet formulated to meet the nutritional requirements of the fish (Control), which was supplemented with increasing doses of an exogenous protease (25, 50, 75, 100, and 125g per ton). After 135 days of exposure to the experimental diets, a series of laboratory analyses were conducted, including evaluations of performance and yield, tissue histology, physicochemical and instrumental analysis of the fish, as well as assessments of water quality. The collected data were analyzed using polynomial equations. The results revealed significant effects on body weight ($P<0.001$), weight gain ($P<0.001$), and feed conversion ratio ($P<0.001$). There was an observed increase in fillet and eviscerated fish yield, accompanied by a reduction in the visceral fat index. The tilapia meat exhibited a linear decrease in pH ($P=0.0057$) and cooking loss ($P=0.0194$) in skinless fillets. In conclusion, the supplementation of protease in tilapia diets improves productive performance, increases fillet yield, and reduces the visceral fat index. The recommended doses of the exogenous protease range between 50 and 100g per ton.

Keywords: Fish farming; Animal production; Performance; Efficiency; Meat quality; Fillet yield.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	–	Efeito dos dados de desempenho de tilápias alimentadas com doses crescentes de protease exógena por um período de 135 dias.....	25
Figura 2	–	Efeito dos dados de rendimento de filé (Fpele, %), peixe eviscerado (PE, %) e índice de gordura visceral (IGV, %) de tilápias alimentadas com doses crescentes de protease exógena por um período de 135 dias.....	26
Figura 3	–	Imagens representativas de lâminas de intestinos de tilápias alimentadas com doses crescentes de Precizyon PRO.....	29
Figura 4	–	Evolução do ganho em peso médio por peixe, por dose da enzima.....	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	–	Composição alimentar e química das dietas experimentais	21
Tabela 2	–	Peso inicial (PV0, g/peixe), peso vivo aos 135 dias (PV, g/peixe), e dados acumulados de consumo de ração (CR, g/peixe), ganho de peso (GP, g/peixe), conversão alimentar (FCR, g/g) e viabilidade (VIAB, %) das tilápias alimentadas com dietas suplementadas com doses crescentes de protease exógena em 135 dias de cultivo.....	25
Tabela 3	–	Rendimento de filé com pele (FPele, %), filé sem pele (Filé, %), peixe eviscerado (PE, %), índice hepatossomático (IHS, %), índice de gordura visceral (IGV, %), índice viscerossomático (IVS, %) das tilápias alimentadas com dietas suplementadas com doses crescentes de protease exógena em 135 dias de cultivo.....	26
Tabela 4	–	Comprimento total (CP, cm), altura do corpo (AC, cm), largura do corpo (LC, cm), e tamanho de cabeça (TC, cm) das tilápias alimentadas com dietas suplementadas com doses crescentes de protease exógena em 135 dias de cultivo.....	27
Tabela 5	–	Potencial hidrogeniônico (pH), luminosidade (L), teor de vermelho (a), e de amarelo (b), capacidade de retenção de água (CRA, %), perda de peso por cocção (PPC, %), e força de cisalhamento (FC, kgf/cm ²) do filé sem pele de tilápias alimentadas com dietas suplementadas com doses crescentes de protease exógena em 135 dias de cultivo.....	27
Tabela 6	–	Comprimento das vilosidades (Vilos, µm), largura das vilosidades (Largura, µm), lâmina própria (Lâmina, µm), e relação comprimento: largura (V:L, µm/µm) das vilosidades dos intestinos proximal, medial de tilápias alimentadas com dietas suplementadas com doses crescentes de protease exógena em 135 dias de cultivo.....	28

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivo geral.....	15
2.2	Objetivos específicos.....	15
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
4.1	Local, fases e delineamento experimental.....	20
4.2	Delineamento e tratamentos experimentais.....	20
4.3	Performance e Rendimentos.....	22
4.4	Histologia dos tecidos.....	22
4.5	Análises físico-químicas e instrumentais do pescado.....	23
4.6	Análises físico-químicas da água.....	24
4.7	Análise estatística.....	24
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	34
7	REFERÊNCIAS	35
	ANEXO I.....	38

1 INTRODUÇÃO

A aquicultura é uma das atividades de produção de alimentos que mais tem crescido nos últimos anos, e a tilápia do Nilo é uma das espécies mais cultivadas no mundo, devido ao seu bom crescimento e rendimento de carcaça que é possível se obter através da precocidade dessa espécie e do melhoramento genético. No entanto, a alimentação dos peixes é um fator crítico para o sucesso da produção, e a busca por soluções eficientes e econômicas para melhorar a qualidade da ração tem sido objeto de muitos estudos.

Nos anos 80, foram iniciados os cultivos de peixes no Brasil, e desde então, a criação de tilápias do Nilo em águas interiores tem crescido cada vez mais, aumentando consideravelmente entre os anos de 1996 e 2005 (Junior et al, 2020). A tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), é um dos peixes com maior potencial para aquicultura, devido a sua alta rusticidade, rápido crescimento, e grande facilidade de adaptação aos diferentes sistemas de cultivo, além da alta aceitação de sua carne pelo público consumidor.

Nesse contexto, o uso de enzimas exógenas, como proteases, pode ser uma alternativa promissora para melhorar a digestibilidade da ração e aumentar o aproveitamento 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). Adicionalmente, em um estudo recente, pesquisadores avaliaram os efeitos da adição de uma protease comercial em rações com diferentes níveis de proteína, e observaram que a suplementação da enzima melhorou a digestibilidade da proteína e dos aminoácidos, além de aumentar o crescimento e a eficiência alimentar dos peixes (Lima et al., 2021).

Embora a suplementação de proteases na alimentação de tilápias do Nilo possa melhorar a digestibilidade da proteína, há também possibilidade de incremento no desempenho produtivo em termos de ganho de peso e eficiência alimentar, entretanto, o incremento específico em rendimento de filé pode variar de acordo com a composição nutricional da dieta e outros fatores de manejo. Um estudo conduzido por Batista et al. (2019) avaliou o efeito da suplementação de uma protease comercial na alimentação de tilápias do Nilo sobre o desempenho produtivo e a qualidade do filé, e os autores observaram um aumento significativo no ganho de peso e eficiência alimentar dos peixes suplementados com a enzima, mas não foram observadas diferenças significativas no rendimento de filé em relação ao grupo controle. Por outro lado, um estudo mais recente conduzido por Feitosa et al.

(2021) avaliou o efeito da suplementação de uma protease exógena na dieta de juvenis de tilápia do Nilo sobre o desempenho produtivo e a qualidade do filé, e foi verificado aumento significativo no ganho de peso e no rendimento de filé em relação ao grupo controle, sugerindo que a suplementação de protease pode melhorar não apenas o desempenho produtivo, mas também a qualidade do filé.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos da suplementação de doses crescentes de protease, em modo *ontop*, na ração de tilápias do Nilo na fase de juvenil à despesca.

2.2 Objetivos específicos

- Analisar o desempenho zootécnico de tilápias do Nilo;
- Observar a interferência da enzima no consumo de ração;
- Avaliar parâmetros de qualidade de carne.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

Com o início do cultivo da tilápia do nilo no Brasil na década de 1970, introduzida pelo Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS), na região Nordeste, objetivando o repovoamento dos reservatórios (Schulter, 2017), as regiões Sul e Sudeste rapidamente apresentaram interesse no cultivo desses animais, visando a tecnologia da reversão sexual e o desempenho produtivo da espécie (Santos, 2015). Com esse avanço na produção, e visando não apenas o repovoamento e complemento de renda, o cultivo de tilápia passou a ser uma atividade explorada comercialmente, surgindo assim novos empreendimentos (Júnior, 2008).

Nesse primeiro momento, devido ao pouco conhecimento que se tinha sobre a espécie e as técnicas de cultivos, os empreendimentos não obtiveram resultados positivos (Schulter, 2017), isso devido a alevinos de baixa qualidade e ração inadequadas para a espécie. Logo, se deve ao motivo de que as tilápias se reproduzem rapidamente e não obtinha um crescimento satisfatório. Conforme Kubitza (2003), apenas na década de 1990 com a inovação da reversão sexual foi que a produção melhorou. Nessa mesma época, novas pesquisas surgiram com objetivo de aprimorar o manejo e alimentação desses animais (Júnior, 2008).

De acordo com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, 2020), a aquicultura brasileira vem aumentando sua produção de forma intensiva e em larga escala. Assim, de acordo com Pedroza e Routledge (2016), diversos fatores têm influenciado nesse aumento de produção, sendo os principais o aumento da demanda pelos consumidores, visto que é uma carne de boa aceitabilidade devido a seu sabor e suculência, soma-se ainda a entrada de grandes produtores no ramo da piscicultura.

De acordo com dados divulgados pelo boletim de pesquisa e desenvolvimento da Embrapa, nos anos de 2018 e 2019 cresceu em 19 % o volume de exportação de tilápias. Com isso, essa proteína animal tem se destacado no mercado internacional como principal produto da piscicultura brasileira.

A ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA (Peixe Br - 2023), enfatiza que na aquicultura a produção de tilápia representa cerca de 65%, e o consumo cresceu em torno de 93% nos últimos 10 anos. De acordo com os dados divulgados pela associação, a produção no Brasil aumentou 3,1% em 2023 comparado ao ano anterior, fechando assim o equivalente a produção de 887.029 toneladas de peixe.

Ademais, em nota publicada no Anuário Peixe Br foi destacado também que o ano de 2023 foi de diversos desafios, tanto climáticos como sanitários e apesar das adversidades, os produtores e empresas conseguiram alavancar a produção e ocasionar um aumento significativo na quantidade produzida.

Com o intuito de aumentar a eficiência produtiva é preciso melhorar os índices de desempenho animal, sendo assim, reduzir os custos é de suma importância tanto para os fabricantes de ração, como para os produtores de peixes (Santos, 2015). Dessa maneira, a técnica de extrusão auxilia na digestibilidade dos alimentos e redução dos fatores antinutricionais. Porém, alguns nutrientes possui uma baixa digestibilidade devido a falta ou pouca disponibilidade de enzimas produzidas pelos peixes, as quais são de suma importância para ocasionar a ruptura da parede celular que encapsula os nutrientes, fazendo assim, com que esses se tornem indisponíveis (Glencross et al, 2012).

Desse modo, a adição de uma enzima vai auxiliar na decomposição de componentes específicos dos alimentos. De acordo com Angelo (2018), o uso de enzima nas rações de aves e suínos tem mostrado resultados positivos, tanto zootécnicos como econômicos, assim, é válido salientar que o uso de enzima é algo promissor e possibilita uma melhor disponibilidade dos nutrientes, assim sendo mais bem aproveitado. A utilização de uma enzima é, portanto, uma ferramenta para redução dos custos de proteína animal.

Segundo Gomes et al (2018), as enzimas são de suma importância pois auxiliam no catabolismo das reações bioquímicas que acontecem no organismo. Dessa forma, a suplementação com enzima exógena melhora a digestibilidade dos nutrientes e reduz fatores antinutricionais dos alimentos. Com isso, visto o melhor aproveitamento dos alimentos resulta-se em um menor custo com insumos, devido às alterações realizadas nas formulações. Vale salientar que os fatores antinutricionais não são tóxicos, mas ocasionam prejuízos devido a um menor crescimento, baixa conversão alimentar, possíveis alterações nos órgãos e alteração hormonal (Campestrini, 2005).

As enzimas podem beneficiar o trato gastrointestinal dos animais de diversas maneiras. De acordo com Eyng (2020), a protease ocasiona uma maior disponibilidade de aminoácidos e conseqüentemente favorece o processo de formação de energia pelos enterócitos, célula essa responsável pela digestão e absorção dos nutrientes.

A produção de enzimas ou complexos enzimáticos para utilização na formulação de ração animal pode ser proveniente de leveduras, fungos ou bactérias (Gomes et al, 2018).

Assim, a protease exógena melhora o valor nutricional por meio da hidrólise de algumas proteínas que resistem ao processo digestivo (Angelo, 2019). Dessa maneira, o propósito de melhorar os índices zootécnicos através da adição de enzima, ocasiona consequentemente uma redução do impacto ambiental, visto que vai minimizar consideravelmente a excreção de nitrogênio.

De acordo com Righetti et al. (2011), a rápida taxa de crescimento da tilápia do Nilo e sua adaptação em ambientes diversos faz com que seja uma das espécies mais importantes quando refere-se à piscicultura. Sendo assim, em estudo realizado com o objetivo na redução da proteína por meio da suplementação de aminoácidos, foi possível concluir que ao realizar essa redução na proteína digestível e adição do aminoácido sintético, é válido e preciso aumentar o número de vezes no fornecimento da ração, visto que um fator limitante de aminoácidos sintéticos é a alta taxa de lixiviação (Zarate & Lovell, 1997).

Com isso, de acordo com Furuya et al (2004) é válido salientar que aminoácidos sintéticos possuem a vantagem de auxiliar o perfil qualitativo e quantitativo de aminoácidos e estimular o consumo da ração. Entretanto, para ser realizada essa suplementação, faz-se necessário que tenha conhecimento sobre as exigências nutricionais. Dessa maneira, é visto também que a alimentação com excesso de proteína com o intuito de suprir as exigências de aminoácidos é inviável, pois ocasiona impacto negativo ao meio ambiente e também financeiramente. Assim, essa poluição ambiental, pode ser diminuída com o uso de enzimas na dieta, visto que os animais têm um melhor aproveitamento dos nutrientes e consequentemente menor excreção fecal de nitrogênio (Campestrini, 2005).

Na piscicultura existe uma grande diferença na ração quando comparado com os animais domésticos, isso devido a elevada composição de proteína presente (Mendonça et al, 2014). Com isso, a proporção de proteína na ração de peixes representa a maior parte, ocasionando assim um maior custo na alimentação e sabe-se que os gastos com a aquisição de ração correspondem a mais de 50% do custo total de cultivo (Ribeiro et al., 2007). Dessa forma, torna-se um empreendimento arriscado visto o alto investimento e falta de um aproveitamento dos nutrientes fornecidos que são de suma importância para um resultado positivo.

Visando o aumento de preço nas fontes de proteína para ração animal, muitos estudos estão sendo realizados para que se possa utilizar uma suplementação que auxilie em um melhor aproveitamento de tal proteína. Dessa maneira, muitas pesquisas estão sendo

desenvolvidas com objetivo de avaliar a eficácia da suplementação de enzimas exógenas sobre o desempenho produtivo de tilápias.

Segundo Gomes et al. (2018), existem diversas formas de se utilizar a enzima na alimentação animal, sendo assim, de forma unitária, na qual pode favorecer a absorção de um nutriente em específico ou na forma de mistura (blends), ou seja, enzimas com origem diferentes, ou na forma de complexo, quando as enzimas possuem a mesma origem. Dessa maneira, permite que as enzimas atuem de forma simultânea, caso sejam utilizadas na forma de complexos ou blends, possibilitando assim uma maior eficiência, visto que cada uma atua em seu substrato específico.

As enzimas possuem uma estrutura molecular que pode ser alterada através do calor, ou seja, desnaturada e assim perder sua função. Com isso, existem diversos fatores que podem influenciar na sua estabilidade, como os microrganismos utilizados na fabricação da enzima, o tipo de atividade, composição e o armazenamento da ração (Santos, 2015).

De acordo com Soares et al (2008), a introdução de aditivos enzimáticos é uma técnica que possui como objetivo complementar as enzimas que são produzidas pelos animais, entretanto são insuficientes. Dessa maneira, as enzimas exógenas atuam da mesma forma que as endógenas, visto que possuem capacidade de atuar em um substrato específico (Campestrini, 2005). Assim, faz-se necessário que a suplementação de enzimas seja ministrada de forma correta, para que possua a capacidade de atuar no substrato específico e proporcionar respostas positivas.

Ademais, protease é uma enzima que degrada proteína e assim o seu uso torna-se viável, visto que vai melhorar a eficiência desse nutriente na ração e melhor aproveitamento. Dito isso, pode ser adicionada de forma exógena na alimentação animal (Santos, 2015). Dessa forma, é possível que sejam realizados diversos testes com fontes alternativas de alimento devido o uso de enzima exógena na ração possibilitar uma melhor digestibilidade dos nutrientes.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local, fases e delineamento experimental

O experimento foi executado no Setor de Aquicultura da UFERSA, em Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil. Os procedimentos experimentais do experimento com as tilápias foram avaliados e aprovados pela CEUA/UFERSA, conforme Legislação em vigor, conforme protocolo 09/2023 (Anexo I). A água de cultivo é proveniente de poço artesiano com salinidade de 3ppt. Os alevinos foram alojados em tanques rede de malha de nylon multifilamento revestidos com PVC em malha de 5mm com 1m³ de volume útil. A alimentação foi ração extrusada, ofertada considerando a saciedade aparente.

4.2 Delineamento e tratamentos experimentais

O experimento foi organizado em um delineamento inteiramente ao acaso, com 6 tratamentos de 6 repetições cada, com 25 animais por unidade experimental conforme experimento e fase. Os tratamentos consistiram em doses crescentes da protease Precizyon PRO 50 (Quintia S.A), adicionadas na ração Controle em modo *ontop* por meio da diluição em óleo de soja e aplicada nos pellets fabricados, a seguir:

- Tratamento 1: Dieta Controle formulada conforme exigência nutricional
- Tratamento 2: Dieta Controle + Precizyon PRO 50[®], com dose de 25g/t
- Tratamento 3: Dieta Controle + Precizyon PRO 50[®], com dose de 50g/t
- Tratamento 4: Dieta Controle + Precizyon PRO 50[®], com dose de 75g/t
- Tratamento 5: Dieta Controle + Precizyon PRO 50[®], com dose de 100g/t
- Tratamento 6: Dieta Controle + Precizyon PRO 50[®], com dose de 125g/t

A enzima exógena é um aditivo enzimático, utilizado para compor rações animais. Produto da fermentação de *Aspergillus niger*, derivado da protease ácida, tendo em sua composição o nível de garantia por quilo do produto de 400.000 u/g, atuando sobre o substrato (proteínas) e ingredientes proteicos, como soja e farinha de carne e ossos, classificada assim como enzima digestiva.

A dieta controle foi formulada conforme exigências nutricionais dos animais avaliados, de acordo com as recomendações de Furuya (2010), com produtos de origem animal. As rações foram extrusadas e secas em sistema de circulação de ar, eliminados os finos em estação vibratória e armazenadas conforme recomendação. Os diâmetros e tamanho dos pellets foram de acordo com as recomendações por fase de cada animal. As dietas são apresentadas no Tabela 1.

Tabela 1. Composição alimentar e química das dietas experimentais

Descrição		Até 120g	120g +
Farelo de Soja 45%		41,6080	41,9448
Milho 8% PB		21,6921	21,1575
Farelo de Trigo		8,0000	8,0000
Óleo soja		7,0000	7,0000
Fosfato bicálcico		5,0780	6,0023
Farinha de Peixe 53%		7,2504	6,6903
Premix Peixes		3,0000	3,0000
CO ₃ Ca fino		2,4667	2,6996
Sal		1,0993	1,2024
Farinha de carne 42%		0,6134	0,5430
L-Treonina		0,2566	0,2346
L- Lisina HCl		1,3200	1,0300
DL Metionina		0,5430	0,4230
Vitamina C		0,0500	0,0500
BHT		0,0100	0,0100
Inerte		0,0125	0,0125
Total		100,0000	100,0000
Descrição, %	Unidade	Até 120g	120g +
Umidade	%	10,4608	10,1288
Mat. Seca	%	89,5392	87,5172
Cinza	%	12,7829	12,7783
Energia Digestível	kcal/kg	3036,0000	3075,0000
Proteína Digestível	%	26,8100	24,3000
Fibra	%	4,4455	4,4690
ADF	%	6,4842	6,5186
NDF	%	12,6171	12,6653
Amido	%	22,0000	22,0000
Metionina	%	0,5473	0,4774
Met+Cist	%	0,9200	0,8300
Lisina	%	1,5300	1,3800
Treonina	%	1,1800	1,0700
Triptofano	%	0,3035	0,2832
Arginina	%	1,6734	1,5366
Isoleucina	%	1,0272	0,9429
Leucina	%	1,8811	1,7309
Valina	%	1,1491	1,0425
Graxa	%	9,2613	9,8108
Ac. Linoleico	%	4,6427	5,1652
Ac. Linolênico	%	0,6139	0,6918
Ac. Araquidônico	%	0,2260	0,0924
Calcio	%	2,5000	2,5000
Fósforo	%	1,5000	1,5000
Sódio	%	0,5000	0,5000
Potássio	%	1,0446	1,0116
Cloro	%	0,7877	0,7804

4.3 Performance e Rendimentos

Para os aspectos de desempenho produtivo, foram avaliados: CMF (cm) = comprimento médio final; PMF (g) = peso médio final; GP (g) = ganho em peso: (Peso final médio – Peso inicial médio); GPD (g) = ganho em peso diário: (Ganho de peso final/Quantidade de dias experimentais); CAA (g) = conversão alimentar aparente: (CR: consumo de ração/ GP: ganho de peso); TEP (%) = taxa de eficiência proteica: ((Ganho em peso/Proteína bruta consumida)*100); TCE (% dia-1) = taxa de crescimento específico: $[(\ln \text{PMF}) - (\ln \text{PMI})/\text{Período experimental}]$ ($\ln$ = logaritmo neperiano) e SO (%) = sobrevivência.

Ao final de cada fase, três exemplares de cada unidade experimental foram eutanasiados em solução com eugenol benzocaína 200 mg.L-1 para avaliações finais de coleta do material da cavidade celômica, sendo mensurados os cálculos dos índices: PE (g) = Peixe eviscerado; IHS (%) = Índice hepatossomático: (peso do fígado (g)*100/peso final (g)); índice de gordura visceral (IGV) = [(peso da gordura visceral (g)*100)/peso final (g)]; IVS (%) = índice viscerossomático (peso das vísceras (g)/peso do peixe (g)*100).

O consumo de ração foi obtido pela diferença entre o ofertado e as sobras por unidade experimental. A conversão alimentar considerou os dados de ganho de peso e consumo de ração por unidade experimental. Ao final, após os procedimentos de pesagem e contagem, 30 animais por tratamento foram medidos o comprimento e pesados individualmente para análise e rendimentos de partes. Com os pesos finais médio foi estimado o volume de kg produzido por unidade de metro quadrado (kg/m²).

4.4 Histologia dos tecidos

Foram realizadas as verificações de alterações estruturais ou patológicas no trato digestório, como inflamação, necrose, tumores, fibrose e outras condições que possam afetar a saúde e a sobrevivência dos animais, além de altura e largura das vilosidades, contagem das células caliciformes.

Para as análises de microscopia de luz convencional, as amostras passaram por processamento histológico de rotina no Laboratório de Morfofisiologia Animal Aplicada da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, segundo metodologia descrita por Tolosa et al. (2003), adaptando-a sempre que necessário, tendo sido seguidas as seguintes etapas:

- Fixação - foram coletados fragmentos com cerca de 0,5cm e fixados em paraformaldeído a 4%, tamponado com fosfato de sódio 0,1M, pH 7,4 a 4°C;

- Desidratação - o material foi lavado em água corrente para retirada do excesso do fixador e ser iniciado o processo de desidratação das amostras, submetidas a banhos de imersão de 60 minutos em álcool nas concentrações de 70%, 80%, 90%, 95%, 100%;
- Diafanização - finalizado o processo de desidratação, os fragmentos são imersos em dois banhos de xilol, também de 60 minutos, a fim de garantir o clareamento e total retirada do álcool;
- Inclusão – realizada por meio de banhos de imersão em parafina histológica (Synt®, granulada com ponto de fusão 58°C a 62°C), na qual os fragmentos são imersos em duas parafinas a 60°C, permanecendo por “over night” no primeiro banho e por uma hora no segundo, a fim de garantir a completa impregnação do material pela parafina. Posteriormente os fragmentos são emblocados e etiquetados;
- Microtomia - foram realizados cortes de 5µ a 7µ de espessura em micrótomo (LEICA RM 2125 RT®) e coletados em lâminas de vidro e levados a estufa a 60°C por até seis horas;
- Desparafinização e reidratação - o material foi imerso em dois banhos de xilol por dez minutos, reidratados em álcoois decrescentes de 100%, 95%, 70% e água corrente, por três minutos cada;
- Coloração - Nessa etapa, as lâminas foram coradas pelas técnicas de Hematoxilina-Eosina (HE).
- O material foi analisado, sendo as imagens mais expressivas fotomicrografadas em microscópio de luz (LEICA DM 500 HD) com câmera acoplada (LEICA ICC50W).

4.5 Análises físico-químicas e instrumentais do pescado

- As medidas de pH foram realizadas utilizando-se pHmetro de bancada. As análises serão realizadas seguindo a metodologia descrita pelo MAPA (BRASIL, 2022). Foram pesadas amostras de 10g do músculo da carne, homogeneizadas em 50 mL de água destilada, em temperatura ambiente. O pH foi determinado pelo aparelho previamente calibrado. A análise foi realizada em triplicata.
- A Análise de Capacidade de Retenção de Água (CRA) foi determinada baseando-se na metodologia de Hamm (1960). Para tanto, foi pesado 2,0g da amostra entre duas folhas de papel filtro qualitativo, colocando entre duas placas de acrílico e aplicou-se um peso de 10kg, durante cinco minutos. A quantidade de água livre da amostra foi obtida pela diferença entre o peso inicial e final da amostra.

- Para determinação da Perda de Peso por Cocção (PPC) as amostras foram pesadas e submetidas à cocção em grill, onde a temperatura interna do músculo ficou em torno de 75°C, após isto, as amostras foram retiradas do grill e pesadas novamente. O resultado foi dado em porcentagem de perda de água durante o processo térmico (OSÓRIO et al., 1998).
- A força de cisalhamento (FC) foi mensurada por meio de um TEXTURE ANALYZER TA-XT-125, acoplado ao dispositivo Warner-Bratzler, o qual expressa a força em kgf/cm² (HAMM, 1960).

4.6 Análises físico-químicas da água

Parâmetros de qualidade de água foram mensurados rotineiramente ao longo dos experimentos. Ao longo dos 135 dias, a água apresentou pH em $6,783 \pm 0,404$, condutividade em $4,453 \pm 0,154$ S/cm, salinidade em $2,453 \pm 0,103$ mg/L, temperatura em $28,738 \pm 0,973$ °C, oxigênio dissolvido em $7,463 \pm 0,244$ mg/L, Sólidos dissolvidos totais em $2,24 \pm 0,088$ mg/L, amônia em $0,35 \pm 0,0503$ mg/L, e nitrito em $0,004 \pm 0,05$ mg/L. Dados foram obtidos por meio de kits da Alfakit® e por sondas de medidor multiparâmetro AK88® da Akso. Rotineiramente foi feita a troca parcial de água dos tanques.

4.7 Análise estatística

Para avaliar a melhor dose de protease a ser utilizada nas rações de tilápias, foi realizada uma análise estatística quantitativa por regressão polinomial. Inicialmente, a normalidade dos dados foi avaliada por meio do teste de Shapiro-Wilk, em seguida, foi utilizada a regressão polinomial para modelar a relação entre a dose de protease e as variáveis de resposta. Para determinar a ordem do polinômio mais adequada para o modelo, foram utilizados os testes de análise de variância (ANOVA) e coeficiente de determinação (R^2). Posteriormente, foi realizada a análise de pontos de inflexão do modelo de regressão para determinar a dose ótima de protease. Os dados foram analisados utilizando o software estatístico R (versão 4.1.0) e os resultados foram considerados significativos com $P < 0,05$ para diferenças significativas e $P < 0,10$ para tendências.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados avaliados no desempenho apresentaram efeito quadrático significativo, indicando, respectivamente para o peso vivo ($P<0,001$), o ganho de peso ($P<0,001$) e a conversão alimentar ($P<0,001$), doses ótimas de 71,15 g/t, 71,26 g/t, e 77,00 g/t da enzima exógena.

Os dados são apresentados na Tabela 2 e Figura 1, com as equações com base na média dos dados observados em cada dose de protease suplementada.

Tabela 2. Peso inicial (PV0, g/peixe), peso vivo aos 135 dias (PV, g/peixe), e dados acumulados de consumo de ração (CR, g/peixe), ganho de peso (GP, g/peixe), conversão alimentar (FCR, g/g) e viabilidade (VIAB, %) das tilápias alimentadas com dietas suplementadas com doses crescentes de protease exógena em 135 dias de cultivo

TRAT	PROTEASE g/t	PV0	PV	GP	CR	FCR	VIAB
1	0	14,987	373,661	358,674	507,822	1,426	84,720
2	25	14,607	394,851	380,244	517,075	1,362	82,833
3	50	14,031	433,309	419,277	520,710	1,246	89,040
4	75	14,091	500,386	486,295	541,532	1,130	88,016
5	100	14,590	446,214	431,624	530,233	1,236	89,200
6	125	14,143	394,046	379,904	520,866	1,375	84,368
Efeito		0,3337	<0,001	<0,001	0,6814	<0,001	0,0823
Linear		0,157	0,002	0,002	0,314	0,092	0,298
Quadrático		0,222	<0,001	<0,001	0,264	<0,001	0,048
C.V.(%)		2,8	6,65	6,87	6,84	9,73	5,23

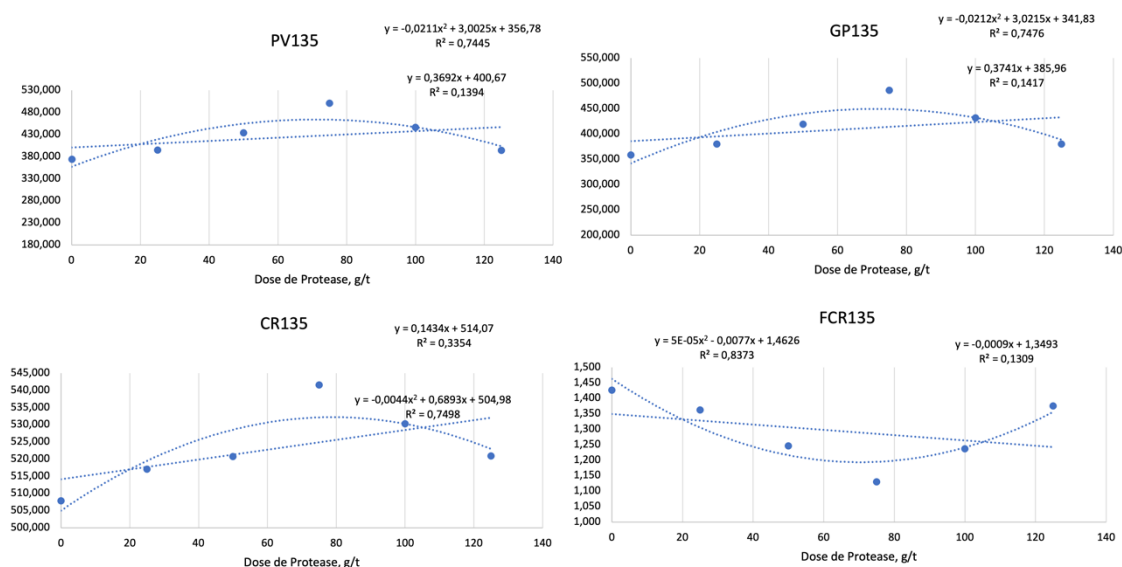


Figura 1. Efeito dos dados de desempenho de tilápias alimentadas com doses crescentes de protease exógena por um período de 135 dias.

A suplementação de enzima exógena na dieta promoveu efeito no rendimento de filé, peixe eviscerado e índice de gordura visceral, conforme apresentado na Tabela 3 e Figura 2. Nesses dados, respectivamente, as doses com resultados positivos indicam uma suplementação de 68,50 g/t, 95g/t, e 73,25g/t de protease. Esse resultado permite inferir que o uso de enzima exógena melhora a eficácia na conversão de tecido proteico não gorduroso nas tilápias.

Tabela 3. Rendimento de filé com pele (FPele, %), filé sem pele (Filé, %), peixe eviscerado (PE, %), índice hepatossomático (IHS, %), índice de gordura visceral (IGV, %), índice viscerossomático (IVS, %) das tilápias alimentadas com dietas suplementadas com doses crescentes de protease exógena em 135 dias de cultivo

TRAT	PROTEASE g/t	FPele	Filé	PE	IHS	IGV	IVS
1	0	28,092	21,478	87,831	2,313	2,081	7,973
2	25	30,219	21,601	90,535	1,711	1,244	7,871
3	50	31,049	23,354	90,551	1,875	1,161	7,076
4	75	32,963	23,442	90,322	1,783	0,829	7,136
5	100	30,490	22,961	90,436	2,100	1,253	7,152
6	125	29,867	23,197	90,778	2,186	1,424	7,400
Efeito		<0,001	0,6017	0,0091	0,2661	0,0355	0,6947
Linear		0,026	0,149	0,006	0,803	0,102	0,247
Quadrático		<0,001	0,385	0,042	0,039	0,004	0,287
C.V.(%)		6,28	14,55	2,1	33,09	61,27	21,55

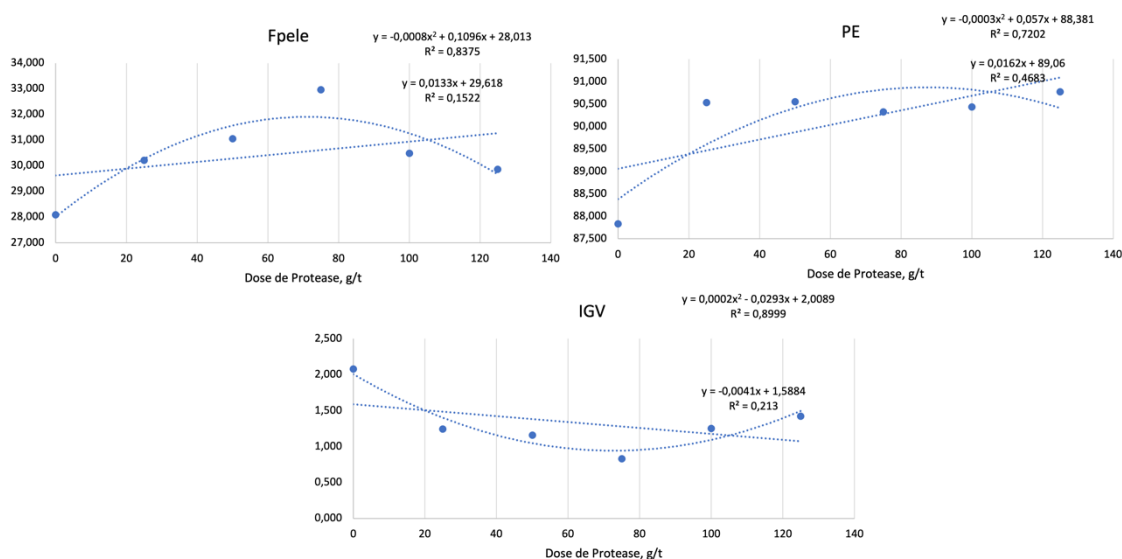


Figura 2. Efeito dos dados de rendimento de filé (Fpele, %), peixe eviscerado (PE, %) e índice de gordura visceral (IGV, %) de tilápias alimentadas com doses crescentes de protease exógena por um período de 135 dias.

Não houve efeito da suplementação da enzima sobre os dados biométricos do peixe, Tabela 4.

Tabela 4. Comprimento total (CP, cm), altura do corpo (AC, cm), largura do corpo (LC, cm), e tamanho de cabeça (TC, cm) das tilápias alimentadas com dietas suplementadas com doses crescentes de protease exógena em 135 dias de cultivo

TRAT	PROTEASE g/t	CP	AC	LC	TC
1	0	26,05	9,23	3,97	7,24
2	25	26,48	9,40	4,00	7,07
3	50	26,45	9,22	4,16	6,80
4	75	25,95	9,05	3,96	7,09
5	100	26,22	9,22	3,97	7,10
6	125	25,74	9,18	4,06	6,89
Efeito		0,648	0,783	0,137	0,273
Linear		0,347	0,478	0,745	0,244
Quadrático		0,307	0,813	0,579	0,473
C.V.(%)		4,29	5,51	4,61	6,25

A suplementação de protease mostrou influência linear decrescente no pH ($P=0,0057$) e na perda de peso por cocção ($P=0,0194$) dos filés sem pele das tilápias, conforme Tabela 5. Os demais dados não foram influenciados.

Tabela 5. Potencial hidrogeniônico (pH), luminosidade (L), teor de vermelho (a), e de amarelo (b), capacidade de retenção de água (CRA, %), perda de peso por cocção (PPC, %), e força de cisalhamento (FC, kgf/cm²) do filé sem pele de tilápias alimentadas com dietas suplementadas com doses crescentes de protease exógena em 135 dias de cultivo

TRAT	PROTEASE g/t	pH	L	a	b	CRA	PPC	FC
1	0	6,230	41,940	5,517	7,993	70,507	80,691	0,322
2	25	5,900	47,077	5,663	7,253	71,331	79,284	0,578
3	50	6,147	38,863	7,500	6,933	70,037	75,650	0,695
4	75	5,867	43,150	6,557	8,207	68,791	75,727	0,605
5	100	5,963	41,900	7,710	8,130	68,085	77,024	0,447
6	125	5,900	44,793	5,773	5,960	66,087	75,652	0,680
Efeito		0,0057	0,4613	0,8873	0,8824	0,6953	0,0194	0,1206
Linear		0,006	0,9	0,654	0,63	0,13	0,083	0,134
Quadrático		0,222	0,531	0,412	0,665	0,608	0,298	0,197
C.V.(%)		1,79	11,34	45,28	35,43	6,1	3,45	30,38

A suplementação de protease mostrou influência sobre a altura ($P<0,001$), largura ($P<0,001$) e relação comprimento: largura ($P<0,001$) das vilosidades no intestino proximal das tilápias após 135 dias de acesso às dietas experimentais. A lâmina própria não foi afetada ($P=0,0724$). Resultados similares foram observados no intestino medial e distal das tilápias, exceto para a lâmina própria ($P=0,451$), e relação altura: largura das vilosidades ($P=0,0615$) no intestino distal, Tabela 6, Figura 3. Não foram observadas alterações estruturais ou patológicas no trato digestório dos peixes, como inflamação, necrose, tumor, fibrose e outras condições que possam afetar a saúde e a sobrevivência dos animais.

No intestino proximal houve efeito quadrático significativo na altura das vilosidades, com maior valor determinado em 66,41 g/t ($P=0,023$ | $Y = -0.0104x^2 + 1,3813x + 162,5$; $R^2=0.3263$). Valores maiores de altura foram observados nas doses 25g/t e 100g/t de protease na dieta, e os menores foram observados nos extremos, 0g/t e 125g/t. Por outro lado, as vilosidades foram mais largas nas doses de 25g/t e 125g/t de protease, e a relação altura: largura foi superior na dieta com 100g/t em relação às demais.

No intestino medial, a altura das vilosidades apresentou um efeito quadrático significativo, com valor determinado em 63.23 g/t ($P<0,001$ | $Y = -0.0198x^2 + 2,504x + 177,88$; $R^2=0.8915$). Os vilos foram mais largos com 75 e 100g/t ($P<0,001$) em relação às demais doses, especialmente a dose com 50g/t que apresentou menor largura. A relação altura:largura das vilosidades foi maior com 62g/t de protease, conforme equação ($P<0,001$ | $Y = -0.0005x^2 + 0,0621x + 5,4017$; $R^2=0.5099$).

No intestino distal, a altura das vilosidades foi maior com uma dose de 60,55g/t de protease ($P<0,001$ | $Y = -0,0077x^2 + 0,9325x + 128,97$; $R^2=0.8028$). A largura mostrou um crescimento proporcional à dose de protease ($P<0,001$ | $Y=0,1451x + 34,269$; $R^2=0,328$). A lâmina própria mostrou ser influenciada pela protease, mas sem efeito linear ou quadrático, de modo que a dose controle mostrou menor espessura dessa estrutura das vilosidades em relação aos demais (8,488 μm ; $P=0,0451$), com maior valor dessa variável observado na maior dose de protease.

Tabela 6. Comprimento das vilosidades (Vilos, μm), largura das vilosidades (Largura, μm), lâmina própria (Lâmina, μm), e relação comprimento: largura (V:L, $\mu\text{m}/\mu\text{m}$) das vilosidades dos intestinos proximal, medial de tilápias alimentadas com dietas suplementadas com doses crescentes de protease exógena em 135 dias de cultivo

Intestino	PROTEASE g/t	Vilos	Largura	Lâmina	V:L
Proximal	0	150,154b	36,174b	9,172	4,498b
	25	223,988a	45,582a	11,491	5,183b
	50	188,955ab	40,512ab	8,523	4,733b
	75	180,800ab	40,398ab	10,228	4,759b
	100	229,113a	31,716b	9,989	8,154a
	125	163,723b	55,900a	11,291	3,047c
	Efeito	<0,001	<0,001	0,072	<0,001
	Linear	0,192	0,061	0,249	0,141
	Quadrático	0,023	0,163	0,430	0,613
Medial	C.V.(%)	16,130	22,490	35,530	35,190
	0	173,575	39,243b	11,353	4,862
	25	243,931	36,102b	9,966	7,177
	50	234,411	29,155c	10,581	7,453
	75	260,126	47,270a	12,457	5,647
	100	234,859	40,382a	12,601	6,129
	125	179,337	36,213b	11,055	5,266
	Efeito	<0,001	<0,001	0,425	<0,001

Distal	Linear	0,479	0,376	0,343	0,393
	Quadrático	<0,001	0,802	0,779	<0,001
	C.V.(%)	18,140	24,980	41,070	30,040
	0	134,789	31,379	8,488c	4,436
	25	135,422	50,308	14,663b	2,790
	50	160,293	34,774	10,684b	4,961
	75	157,788	43,736	10,716b	3,694
	100	148,021	36,681	10,027b	4,386
	125	122,455	63,162	17,500a	2,292
	Efeito	0,02	<0,001	0,451	0,061
	Linear	0,668	<0,001	0,2124	0,142
	Quadrático	<0,001	0,175	0,111	0,071
	C.V.(%)	22,88	33,46	49,62	34,13

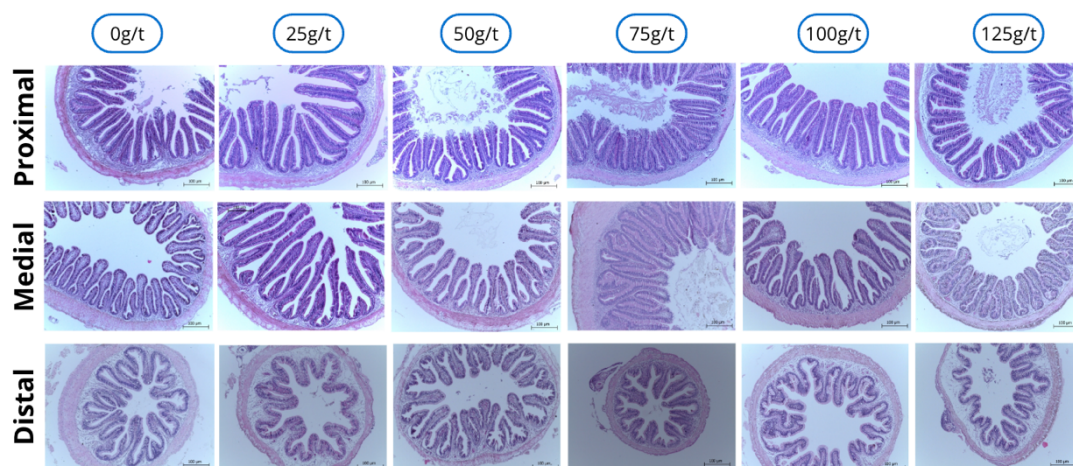


Figura 3. Imagens representativas de lâminas de intestinos de tilápias alimentadas com doses crescentes de Precizyon PRO

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).

Os resultados indicam que a suplementação de protease na dieta das tilápias mostrou efeitos significativos no desempenho e na qualidade dos filés. Para o desempenho, observou-se uma resposta quadrática, sugerindo doses ótimas para o peso vivo, ganho de peso e conversão alimentar. Essas doses otimizadas (71,15 g/t, 71,26 g/t e 77,00 g/t) podem ser consideradas na prática entre 50 e 100g/t de enzima exógena (Precizyon PRO 50), dependendo do contexto. Esse resultado tem implicações econômicas, indicando que a

suplementação pode melhorar a eficiência de conversão alimentar e o crescimento das tilápias, conforme Figura 4.

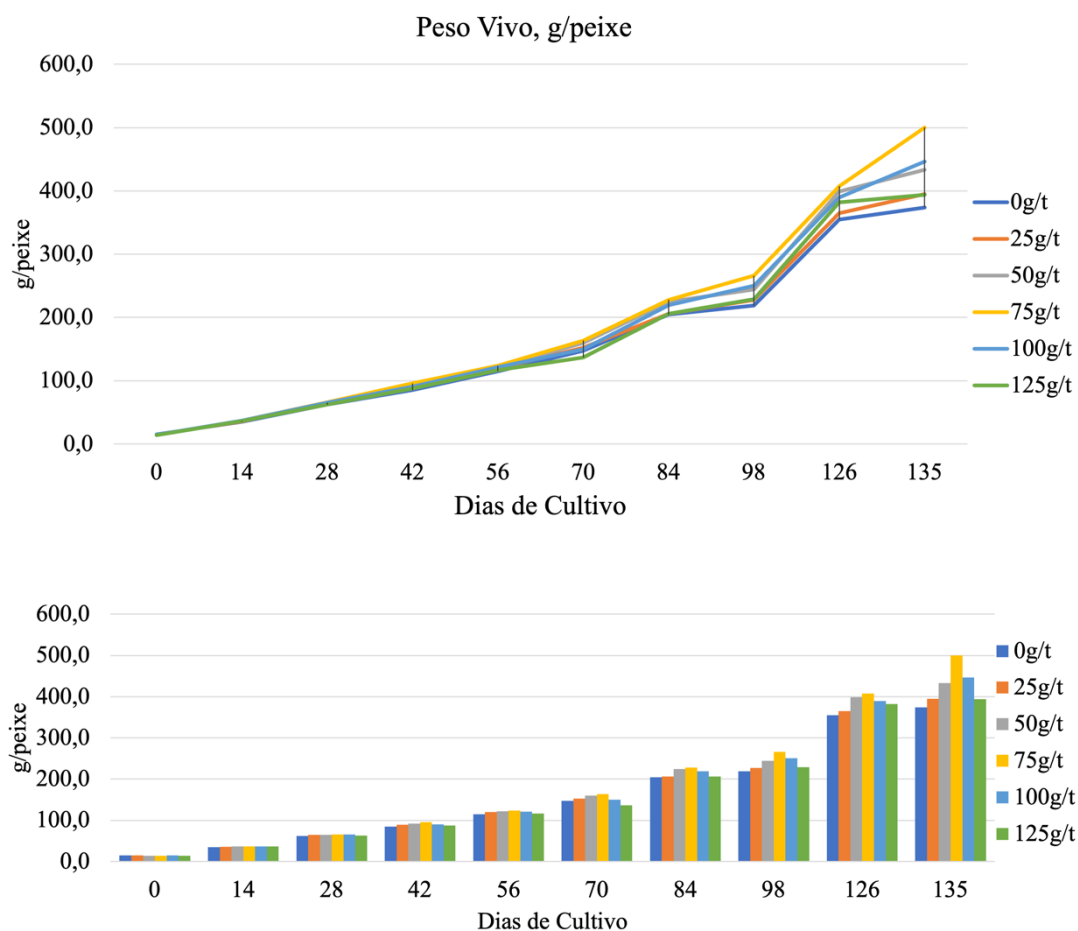


Figura 4. Evolução do ganho em peso médio por peixe, por dose da enzima.

Hassan et al. (2020), em uma avaliação com tilápias de 7.56 ± 0.06 g alimentadas por 84 dias com dietas com três níveis de protease (0, 5 e 10 g/kg de ração) observaram uma melhora no peso final ($P=0.021$), passando de 43.7c para 49.0b e 53.0a com as doses de protease, respectivamente. Mesmo efeito ocorreu no ganho de peso ($P=0.031$), e na conversão alimentar ($P=0.001$), passando de 1.7a para 1.5b e 1.4c nas mesmas doses. Os autores recomendaram o uso da enzima, indicando doses de 5 ou 10g/kg. A enzima avaliada foi Sigma-Aldrich, CAS Number 9001–927, protease proveniente de *Rhizopus sp.* Saleh et al (2021), avaliando a suplementação de 250 e 500g/t de protease (Novus Company, EUA, e tem uma atividade de 600.000 U/g) na dieta de tilápias do Nilo em duas dietas, 30 e 29% de proteína bruta, concluíram que a suplementação de protease pode melhorar o desempenho

produtivo do peixe, poupar proteína dietética e produzir dietas econômicas. Além disso, segundo Saleh et al (2021), pode ajudar a melhorar a 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 observado uma tendência de melhoria de performance e, com dados já melhores numericamente que os citados pelos estudos de Hassan et al. (2020) e de Saleh et al (2021) com o detalhe de que as doses avaliadas no estudo em tela (25 a 125g/t de enzima) são inferiores aos aplicados nos estudos.

Mesmo com aumento numérico do consumo de ração, não houve efeito significativo para essa variável com a suplementação da protease na fase completa ($P=0.6814$), por outro lado, dados de Ragaa et al. (2017), Hassan et al. (2019) e Saleh et al. (2021) mostram efeito significativo com doses de 200 e 400, 500 e 250g/t, respectivamente. Salienta-se que esses trabalhos apresentaram uma melhora na conversão alimentar, o que os torna similares ao estudo em tela, que obteve um efeito significativo ($P<0,001$) com dose estimada em 77g/t da enzima Precizyon PRO 50.

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). No estudo em tela, foi avaliado a suplementação de uma protease ácida, e por esse motivo, os resultados apresentados com seu uso nas dietas 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), o que permite, por exemplo, maior uso de nutrientes pelo peixe, inferindo sobre a sua capacidade de síntese proteica e de rendimento de filé.

No que diz respeito ao rendimento de filé e características de qualidade, doses específicas (68,50 g/t, 95g/t e 73,25g/t) mostraram resultados positivos. Isso sugere que a suplementação influencia positivamente a conversão de tecido proteico não gorduroso nas

tilápias, indicando benefícios na produção de filés mais substanciais e com menor índice de gordura visceral. Esses resultados podem ser explicados em virtude da interferência benéfica que as enzimas possuem diretamente sobre a taxa de absorção de nutrientes no trato gastrointestinal (Debnath et al., 2005; Goda et al., 2012), e como, após a digestão dos nutrientes da ração, em especial a proteína, com a consequente degradação dessa estrutura pela protease, os aminoácidos são absorvidos e transportados através da veia porta hepática do intestino para o fígado e rapidamente metabolizados (Portz, 2012) para os tecidos que demandam síntese proteica, tal como o tecido muscular.

Quanto às características de qualidade, a suplementação da enzima testada influenciou o pH e a perda de peso por cocção dos filés sem pele, indicando uma possível melhoria na textura e suculência da carne. A perda de peso por cocção está associada à retenção de sucos e umidade na carne, logo, carnes que retêm mais umidade durante o cozimento tendem a ser mais suculentas, macias e saborosas, o que contribui para uma melhor qualidade sensorial, pois melhora a aparência com uma superfície mais brilhante, melhorando o seu valor e interesse comercial. Esses resultados podem estar associados às propriedades da enzima, permitindo uma melhor ação e proteção celular dos tecidos, no entanto, não há dados de associação direta sobre protease exógena na dieta e avaliação de qualidade de carne, por esse motivo, podemos inferir que a suplementação permite melhorias e, mesmo assim, são necessárias mais investigações para entender completamente os mecanismos por trás dessas mudanças de qualidade.

Em termos dos dados histomorfométricos do intestino das tilápias, os resultados indicam que a suplementação da enzima influencia na estrutura das vilosidades intestinais das tilápias, alterando a altura e a largura das vilosidades, que aumentaram significativamente em nas seções do intestino com a suplementação, enquanto a lâmina própria não foi afetada. As doses com maiores valores observados estão próximas às doses determinadas pelos dados de desempenho, o que justifica os resultados. Salientar que a influência é diferente nos segmentos do intestino, mas é mais evidente no intestino medial e distal, onde há, proporcionalmente, mais absorção que atividade de digestão dos nutrientes.

Assim, esses resultados sugerem que a suplementação dessa protease ácida pode melhorar a saúde intestinal das tilápias, potencialmente levando a uma melhor absorção de nutrientes e crescimento, o que foi observado no desempenho. No entanto, é importante notar que a dose ideal de protease varia dependendo da seção do intestino. Além disso, não foram

observadas alterações estruturais ou patológicas no trato digestório dos peixes, sugerindo que a suplementação de enzima é segura para uso em tilápias.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo demonstrou que a suplementação de uma enzima exógena na dieta de tilápias permite melhorar o desempenho produtivo, em termos de melhor conversão e ganho de peso, além de permitir melhor rendimento de filé, de peixe eviscerado, e menor índice de gordura visceral. Assim, em conclusão, recomenda-se o uso entre 50 a 100g/t da protease no cultivo de tilápia do nilo objetivando resultados positivos no desempenho zootécnico desses animais.

7. REFERÊNCIAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL**. 19th Edition, AOAC International, Gaithersburg, MD, USA, Disponível em: www.eoma.aoac.org, 2011.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA. **Brasil produz 887.029 t de peixes de cultivo - Anuário 2024**. Peixe BR da Piscicultura. São Paulo, 2024.

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.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Instrução Normativa N° 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. *Diário Oficial da União*, Brasília, 26 ago. 2003.

BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Métodos Oficiais para Análise de Alimentos de Origem Animal. Brasília, 184p, 2022.

CAMPESTRINI, E.; SILVA, V. T. M.; APPELT, M. D. Utilização de enzima na alimentação animal. **Nutritime**, v. 2, n. 6, p. 259-272, nov./dez. 2005. Disponível em: <https://nutritime.com.br/wp-content/uploads/2020/01/Artigo-027.pdf>.

DABROWSKI, K.; GLOGOWSKI, J. Studies on the role of exogenous proteolytic enzymes in digestion processes in fish. *Hydrobiologia*, v. 54, n. 2, p. 129–134, 1977. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00034986>

DEBNATH, D. et al. Effect of dietary microbial phytase supplementation on growth and nutrient digestibility of *Pangasius pangasius* (Hamilton) fingerlings. **Aquaculture Research**, v. 36, n. 2, p. 180–187, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2004.01203.x>

EMBRAPA. **Caracterização da cadeia produtiva da tilápia nos principais polos de produção do Brasil**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, n. 26, out. 2020. ISSN 2358-6273. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/216871/1/CNPASA-2020-bpd26-2.pdf>.

FARHANGI, M.; CARTER, C. G. Effect of enzyme supplementation to dehulled lupin-based diets on growth, feed efficiency, nutrient digestibility and carcass composition of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Aquaculture Research**, v. 38, n. 12, p. 1274–1282, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01789.x>

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.

FIGUEIREDO JÚNIOR, C. A.; VALENTE JÚNIOR, A. S. Cultivo de tilápia no Brasil: origens e cenário atual. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 46., 2008, Rio Branco, Acre. Anais.... Rio Branco: SOBER, 2008. p. X-Y.

FURUYA, W. M.; PEZZATO, L. E.; BARROS, M. M. et al. Use of ideal protein concept for precision formulation of amino acid levels in fish-meal-free diets for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*

L.). **Aquaculture Research**, v. 35, p. 1110-1116, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2004.01133.x>.

GODA, M. A.A. et al. Effect of Using Baker's Yeast and Exogenous Digestive Enzymes as Growth Promoters on Growth, Feed Utilization and Hematological Indices of Nile tilapia, *Journal of Agricultural Science and Technology B*, v. 2, p. 15–28, 2012

GOMES, V. D. S.; SILVA, J. H. V.; CAVALCANTE, C. R.; FILHO, J. J.; ALMEIDA, L. S.; AMÂNCIO, A. L.; LUCENA, C. A. Avanços do uso de enzimas na nutrição de tilápias. *Visão Acadêmica*, Curitiba, v. 19, n. 1, p. 113-129, jan./mar. 2018. ISSN 1518-8361.

GLENCROSS, B.; RUTHERFORD, N.; BOURNE, N. The influence of various starch and nonstarch polysaccharides on the digestibility of diets to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, Amsterdam, v. 356–357, p. 141– 146, 2012.

HAMM, R. Biochemistry of meat hydration. *Advanced Food Research*, v. 10, p. 335–362, 1960.

KEMIGABO, C. et al. Growth response of African catfish, *Clarias gariepinus*(B.), larvae and fingerlings fed protease-incorporated diets. *Journal of Applied Ichthyology*, v. 00, p. 1–8, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1111/jai.13877>

LIMA, T. D. et al. Effects of dietary protease on growth performance, body composition, digestive enzymes activities and plasma metabolites of Nile tilapia fed diets with different protein levels. **Aquaculture**, v. 535, p. 736314, 2021.

LIN, S.; MAI, K.; TAN, B. Effects of exogenous enzyme supplementation in diets on growth and feed utilization in tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. **Aquaculture Research**, v. 38, n. 15, p. 1645–1653, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01825.x>

HASSAAN, M. S.; MOHAMMADY, E. Y.; ADNAN, A. M.; ABD ELNABI, H. E.; AYMAN, M. F.; SOLTAN, M. A.; EL-HAROON, E. R. 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*, v. 522, p. 735124, 2020. ISSN 0044-8486. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735124>.

OSÓRIO, J. C. S.; OSÓRIO, M. T. M.; JARDIM, P. O. C.; PIMENTEL, M. A.; POUHEY, J. L. O.; LÜDER, W. E. **Métodos para avaliação de carne ovina “in vivo”, na carcaça e na carne**. Pelotas: Ed. Universitária/UFPEL, 1998.

PORTZ, L.; FURUYA, W.M. Energia, proteína e aminoácidos. Capítulo 4. p. 65-77. In.: FRACALOSS, D.M.; CYRINO, J.E.P. **NUTRIAQUA**-Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2012, 375 p.

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: <https://doi.org/10.3923/pjn.2017.148.154>

RIGHETTI, J. S.; FURUYA, W. M.; CONEJERO, C. I.; GRACIANO, T. S.; VIDAL, L. V.; MICHELLATO, M. Redução da proteína em dietas para tilápias-do-nilo por meio da suplementação de aminoácidos com base no conceito de proteína ideal. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 40, n. 3, p. 469-476, 2011.

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. 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*, v. 106, p. 419–428, 2022. DOI: <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.

SANTOS, V. S. Protease exógena em ração para tilápia do nilo. 2015. 91 f. Tese (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Montes Claros, Montes Claros, 2015. Disponível em: https://repositorio.unimontes.br/bitstream/1/1487/1/Santos%2cVanessaSilvados_Proteaseexogenaemra%c3%a7aoparatilapiadonilo_2015.pdf.

SCHULTER, E. P.; FILHO, J. E. R. V. **Evolução da piscicultura no Brasil:** diagnóstico e desenvolvimento da cadeia produtiva de tilápia. Rio de Janeiro, Ago. 2017. Disponível em: https://portalantigo.ipea.gov.br/agencia/images/stories/PDFs/TDs/td_2328.pdf.

SHI, Z. et al. 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*, v. 460, p. 37–44, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.03.049>.

SOARES, E. C.; FILHO, M. P.; ROUBACH, R.; SILVA, R. C. Protease exógena em dietas para juvenis de tucunaré-paca (*Cichla* sp.). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 37, n. 6, jun. 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982008000600003>.

ANEXO I



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Mossoró, 02 de maio de 2023.

PARECER 09/2023

Certificamos que o projeto intitulado “Avaliação da eficácia de doses crescentes de protease na dieta de tilápias do Nilo” sob a responsabilidade de MATHEUS RAMALHO DE LIMA, o qual envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da lei 11.794 de 8 de outubro de 2009 e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFERSA em reunião no dia 14 de abril de 2023.

Vigência do projeto	maio a novembro/2023
Espécie/linhagem	Oreochromis niloticus
N. de Animais	1000
Peso/idade	alevinos
Sexo	machos
Origem	Setor de aquicultura da UFERSA

**SIDNEI MIYOSHI
 SAKAMOTO**

Coordenador CEUA-UFERSA