

**UNIVERSIDADE BRASIL
CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINARIA
CAMPUS FERNANDOPOLIS**

ISABELA ALTEMAR MASOCATTO

**NÍVEL IDEAL DE INCLUSÃO DE ÁCIDOS BILIARES EM DIETAS
PARA JUVENIS DE TILÁPIA-DO-NILO**

Fernandópolis – SP

2022

CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINARIA

ISABELA ALTEMAR MASOCATTO

NÍVEL IDEAL DE INCLUSÃO DE ÁCIDOS BILIARES EM DIETAS PARA JUVENIS DE TILÁPIA-DO-NILO

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado à Universidade Brasil, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Prof. Dr. Cleber Fernando Menegasso
Mansano
Orientador

Fernandópolis – SP
2022

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da Universidade Brasil,
com os dados fornecidos pelo (a) autor (a).

Masocatto, Isabela Altemar.
M368n Nível Ideal De Inclusão De Ácidos Biliares Em Dietas Para Juvenis De
Tilápia-Do-Nilo. / Isabela Altemar Masocatto.
Fernandópolis: SP. Universidade Brasil, 2022.
36f.: il.; 29,5cm.

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado à Banca Examinadora
da Universidade Brasil – Campus Fernandópolis, para obtenção do título
de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Cleber Fernando Menegasso Mansano~

1. BioPac®. 2. Desempenho. 3. Lipase. 4. *Oreochromis niloticus*

I. Título.

CDD 639.31



**UNIVERSIDADE
BRASIL**

ATA DE DEFESA DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Ao 29º dia do mês de novembro de 2022, sob presidência do **Prof. Dr. Cleber Fernando Menegasso Mansano**, em sessão pública, reuniram-se de modo híbrido na Universidade Brasil Campus Fernandópolis, Estrada Projetada F1, Faz. Santa Rita, a Comissão Examinadora do Trabalho de Conclusão de Curso de **ISABELA ALTEMAR MASOCATTO**, aluna regular e matriculada no curso de Medicina Veterinária, do Campus Fernandópolis/SP.

Iniciando os trabalhos, a candidata apresentou o Trabalho de Conclusão de Curso intitulado **NÍVEL IDEAL DE INCLUSÃO DE ÁCIDOS BILIARES EM DIETAS PARA JUVENIS DE TILÁPIA-DO-NILO**. Terminada a apresentação, procedeu-se o julgamento da prova onde verificou-se que a candidata foi APROVADA pela banca examinadora abaixo constituída. Do que constar, lavrou-se a presente ATA que segue assinada pelos Senhores Membros da Comissão Examinadora e pelo Supervisor de Estágios e de Trabalho de Conclusão do Curso de Medicina Veterinária.

Prof. Dra. Beatrice Ingrid Macente
Membro Examinador

Prof. Dra. Juliana Heloisa Pinês Américo Pinheiro
Membro Examinador

Prof. Dr. Cleber Fernando Menegasso Mansano
Presidente da Banca (orientador)

Prof. Dra. Beatrice I. Macente
**Coordenadora do Curso de Medicina Veterinária
UNIVERSIDADE BRASIL
Fernandópolis – SP**

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais e irmã, que estiveram comigo durante toda essa caminhada, sempre acreditaram em meus sonhos e me incentivaram. Sem vocês não estaria aqui hoje. Obrigada por tanto.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus, que está comigo durante todo o tempo, amparando meus estudos. Agradeço aos meus pais, pois sem eles não seria possível estar aqui hoje.

Agradeço aos professores que passaram pelo meu caminho e se dedicaram e compartilharam seus conhecimentos. E em especial ao meu orientador, que acreditou em mim e me ofereceu uma oportunidade incrível. Obrigada pela confiança, dedicação e paciência durante todo esse tempo. Esse trabalho não seria possível sem você.

Agradeço ao CNPQ (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pela bolsa de estudos e auxílio financeiro que possibilitou a realização desse projeto.

Agradeço também a MCassab, pelo fornecimento da matéria prima necessária para que esse projeto pudesse ser desenvolvido.

RESUMO

Os ácidos biliares têm importante função na degradação de moléculas com durante o processo de digestão dos animais e estão presentes de forma abundante em alimentos de origem animal. O BioPac[®] vem com a intenção de agregar às rações, que cada vez mais contam com ingredientes de origem vegetal, dessa forma, ele irá suplementar esses alimentos. No presente estudo, o ácido biliar foi utilizado em diferentes amostras para compor a ração de 336 juvenis de tilápias-do-Nilo, sendo uma dieta controle e mais cinco com adição gradativa de ácidos biliares. Os animais foram pesados em balança de precisão (0,01g) no início e ao final do período experimental, para obtenção dos parâmetros de desempenho, (ganho em peso, consumo de ração, conversão alimentar aparente, taxa de crescimento específico, taxa de eficiência proteica), deposição de nutrientes (proteína bruta) e eficiência de retenção de proteína. Foram realizadas análises laboratoriais para a mensuração de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e lipase. Os dados de desempenho foram analisados, por meio de análise de variância (ANOVA), quando observado significância estatística, foi aplicado o teste de Duncan ($P < 0,05$), para a determinação do nível mínimo necessário de ácidos biliares (BioPac[®]), foi realizada por meio do Modelo LRP - Linear Response Plateau. Desta forma, foi possível observar uma maior atividade da lipase com o aumento da inclusão de ácidos biliares nas dietas, também foi observado menor atividade da AST e ALT com as inclusões de ácidos biliares em dietas praticas, demonstrando que o produto auxilia na preservação e manutenção mais saudável do tecido hepático e conseqüentemente melhora nos índices produtivos e imunitários. Como conclusão dos dados observados foi possível inferir que o valor ideal de ácidos biliares na dieta de 479,7 mg/Kg, para o maior ganho em peso e aproveitamento da proteína (eficiência de retenção de proteína) e gordura corporal de juvenis de tilápia-do-Nilo. Também foi verificado que a inclusão de ácidos biliares em dieta para juvenis de tilápia-do-Nilo, apresenta uma melhora nos níveis de lipase, e uma melhor resposta hepática as dietas, comprovados pelos valores de ALT e AST para esta espécie.

Palavras-chave: BioPac[®]. Desempenho. Lipase. *Oreochromis niloticus*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Porcentagem de gordura corporal na matéria seca de juvenis de tilápia-do-Nilo, suplementadas com ácidos biliares (BioPac®).	21
Figura 2 - Nível ideal de ácidos biliares em função do ganho em peso para de juvenis de tilápia-do-Nilo, suplementadas com ácidos biliares (BioPac®).	222
Figura 3 - Determinação quantitativa da atividade enzimática da lipase no soro plasmático de juvenis de tilápia-do-Nilo, suplementadas com ácidos biliares (BioPac®).	233
Figura 4 - Determinação quantitativa da alanina aminotransferase (ALT) no soro plasmático de juvenis de tilápia-do-Nilo, suplementadas com ácidos biliares (BioPac®).	23
Figura 5 - Determinação quantitativa da aspartato amino transferase (AST) no soro plasmático de juvenis de tilápia-do-Nilo suplementadas com ácidos biliares (BioPac®).	244
Figura 6 - Amostras de peixes da dieta BIO 00 (controle).....	24
Figura 7 - Amostra de peixes da dieta BIO 50.....	255
Figura 8 - Amostra de peixes da dieta BIO 100.....	255
Figura 9 - Amostra de peixes da dieta BIO 200.....	25
Figura 10 - Amostra de peixes da dieta BIO 400.....	266
Figura 11 - Amostra de peixes da dieta BIO 600.....	266

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Formulação e composição das dietas experimentais suplementadas com ácidos biliares (BioPac®).	16
Tabela 2 - Média de peso inicial, ganho em peso, conversão alimentar e taxa de crescimento específico (TCE) de juvenis de tilápias-do-Nilo suplementadas com ácidos biliares (BioPac®).	200
Tabela 3 - Média das porcentagens de matéria seca, matéria mineral, proteína bruta, fósforo, cálcio corporal de juvenis de tilápias-do-Nilo suplementadas com ácidos biliares (BioPac®). Valores em base de matéria seca.	211

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS.....	13
3 MATERIAL e MÉTODOS.....	14
3.1 MATERIAL BIOLÓGICO E INSTALAÇÕES.....	14
3.2 DIETAS EXPERIMENTAIS E MANEJO ALIMENTAR	15
3.3 VARIÁVEIS ZOOTÉCNICAS E ANÁLISES QUÍMICAS LABORATORIAIS	17
3.4. ANÁLISES BIOQUÍMICAS.....	18
3.5. ANÁLISE DOS DADOS	18
4 RESULTADOS.....	20
5 DISCUSSÃO	27
6 CONCLUSÃO	31
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32

1 INTRODUÇÃO

Os ácidos biliares (ABs) são sintetizados a partir do colesterol e conjugados com glicina ou taurina nos hepatócitos pericentrais do fígado, armazenados e concentrados na vesícula biliar, e liberados no duodeno, onde desempenham um papel importante no aprimoramento da digestão de gordura pelo micelar do sal biliar (HOFMANN, 1999). Os ABs também desempenham importantes papéis na digestão de nutrientes, absorção de lipídios e vitaminas lipossolúveis e modelagem da microflora intestinal (HAGEY et al., 2010; RIDLON et al., 2014). Pesquisas indicam que os ABs apresentam ações metabólicas específicas no fígado, que funcionam diretamente na diminuição da lesão hepática, promovendo a regeneração hepática por meio da ativação de seus receptores (FAN et al., 2015).

A taurina é um aminoácido sintetizado a partir da metionina e é um dos produtos finais do metabolismo do enxofre, que atua diretamente com os ABs (TUFFT; JENSEN, 1992). A taurina desempenha várias funções no corpo, como neuromodulador, antioxidação, imunomodulador e, um papel importante nas funções cardíacas e cerebrais. A taurina está presente no intestino delgado em altas concentrações, onde desempenha um papel significativo nas funções intestinais, como na conjugação de ácidos biliares, como o ácido cólico ou quenodeoxicólico no fígado (HUANG et al., 2014).

Com o aumento do uso de ingredientes alimentares com a função de substituir a farinha de peixe e óleo de peixe na produção de rações aquícolas, a suplementação de ABs têm atraído a atenção da indústria de ração, pois alguns dos principais compostos para síntese de ABs, são colesterol e taurina que geralmente são limitados em ingredientes alimentares de origem vegetal. Estudos sobre ABs ou seus conjugados como aditivo em alimentos para animais, demonstraram efeitos positivos no desempenho de peixes onívoros e carnívoros. Adhami et al. (2017) observaram que as dietas suplementadas com ABs aumentaram a digestibilidade das proteínas e minerais da dieta, bem como a atividade da lipase em juvenis de truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss*. Similarmente, a suplementação de ABs em uma dieta à base de farelo de soja, melhorou o crescimento e a utilização de nutrientes, melhorando o processo de digestão da truta arco-íris (IWASHITA et al., 2008; YAMAMOTO et al., 2007). Taurocolato (um conjugado de ácido cólico e taurina) parcialmente suplementado, ocasionou diminuição do crescimento e a ocorrência de anormalidades histológicas no fígado de turbot (*Scophthalmus maximus*) alimentados com dietas à

base de proteínas de origem vegetal (GU et al., 2017). As descobertas acima indicaram que os ABs exógenos podem beneficiar peixes alimentados com alimentos vegetais, uma vez que estes peixes apresentam sua produção de ABs exógenos alteradas, e muitas das vezes, extremamente diminuídos.

A tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), da linhagem GIFT (Tilápia Cultivada Geneticamente Melhorada) foi desenvolvido por meio de métodos de melhoramento convencional. Esta cepa de tilápia-do-Nilo tornou-se uma das mais importantes espécies de água doce cultivadas em sistemas intensivos de aquicultura no mundo, devido às suas vantagens de crescimento rápido e alta sobrevivência (PONZONI et al., 2011). Para reduzir o custo de produção e melhorar a rentabilidade, estão sendo formulados e produzidos alimentos econômicos para esses peixes, utilizando ingredientes alternativos, incluindo farelo de soja, farelo de algodão, farinha de canola ou ingredientes proteicos não convencionais (carne e farinha de ossos, farinha de sangue e farinha de penas) e óleo de sementes de plantas. Contudo, alimentos isentos de farinha de peixe têm efeitos negativos no desempenho desses peixes: diminuição da taxa de crescimento (FONTAÍNHAS-FERNANDES et al., 1999; ZHAO et al., 2011; ZHONG et al., 2010), morfologia hepática anormal (GOU et al., 2016) e baixa tolerância ao estresse (LIN et al., 2011).

Desta forma, a melhoria do desempenho de crescimento e saúde de tilápias-do-Nilo (Linhagem GIFT) alimentadas com ausência de farinha de peixe nas dietas, continua sendo um grande desafio para a indústria aquícola. Com base nos estudos citados anteriormente sobre a suplementação de ABs, é possível inferir que a síntese e circulação destes podem ser prejudicadas no presente cenário de alimentação de alguns peixes com dietas isentas de farinha de peixe, deficientes em colesterol, taurina entre outros fatores essenciais para suas vias metabólicas.

Os ácidos biliares exógenos podem ser capazes de aliviar as influências deletérias sobre tilápias alimentadas com alimentos que não tenham farinha de peixe. Até o momento existem poucos estudos que relatam com exatidão os efeitos benéficos da suplementação de ABs e seus níveis ideais de suplementação. O ideal é que sejam testados em diferentes espécies de peixes e tamanhos variados, uma vez que podem variar entre estas quando alimentados com ração isenta de farinha de peixe. Portanto, objetiva-se com o estudo avaliar os efeitos da suplementação de ABs no crescimento e desempenho, composição corporal e parâmetros relacionados à função hepática na cepa juvenil GIFT.

2 OBJETIVOS

Objetivou-se neste estudo avaliar os efeitos da suplementação de ácidos biliares (BioPac[®]) no crescimento, desempenho, composição corporal e parâmetros relacionados à função metabólica hepática de juvenis de tilápias-do-Nilo da linhagem GIFT.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL BIOLÓGICO E INSTALAÇÕES

O ensaio experimental foi realizado no Laboratório de Aquicultura Sustentável do Centro Zootécnico da Universidade Brasil, Campus Fernandópolis/SP, e conduzido de acordo com os princípios éticos na experimentação animal, adotado pelo colégio brasileiro de experimentação (COBEA) e aprovado pela comissão de ética no uso de animais (CEUA) sob o N° 2000071. Foram utilizados 336 juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) sexualmente revertidos para machos, com peso inicial médio de $15,0 \pm 0,5$ g, provenientes da Piscicultura A3 do Grupo Ambar Amaral, localizada no município de Santa Fé do Sul/SP, distribuídos aleatoriamente em 24 caixas, cada uma representando 1 unidade experimental, de 150 L, na densidade de estocagem de 14 peixes/caixa. Após o recebimento dos peixes, os mesmos foram mantidos em período de adaptação de 14 dias antes do início do estudo. Em seguida, os peixes foram pesados e distribuídos nas unidades experimentais.

As caixas foram abastecidas continuamente por água proveniente de poço artesiano, com fluxo contínuo, temperatura em torno de 28°C e com taxa de renovação de aproximadamente 3,5 vezes ao dia. Para melhorar as condições ambientais foi utilizada aeração constante por meio de pedras porosas.

Durante o período experimental foram monitorados diariamente os parâmetros de qualidade de água tais como temperatura média, concentração de oxigênio dissolvido médio, por meio de oxímetro (Modelo AK87, Marca AKSO) e pH médio (Medidor de pH modelo HI83303-01, Marca Hanna) (Quadro 1). Além desses parâmetros, semanalmente também foram monitorados a alcalinidade total média, concentração de amônia média e nitrito médio, determinados em Fotômetro Multiparâmetro para Aquicultura “HI83303-01” respectivamente. Os valores encontrados para a qualidade de água ficaram dentro das condições ideais para cultivo da tilápia-do-Nilo, como o sugerido por Kubitza (2018) e Sipaúba, Tavares e Santeiro (2013).

Quadro 1. Média dos valores dos parâmetros de qualidade de água avaliados durante o período experimental para tilápias-do-Nilo.

Amônia mg/l	Nitrito mg/l	Nitrato mg/l	Oxigênio mg/l	Alcalinidade mg/l	pH	Temperatura °C
0,1 ± 0,01	0,04 ± 0,05	0,06 ± 0,05	7,1 ± 1,5	38,5 ± 3,5	7,8 ± 0,2	28,1 ± 0,6

3.2 DIETAS EXPERIMENTAIS E MANEJO ALIMENTAR

Na formulação das dietas experimentais foram utilizados os valores de exigências nutricionais de Furuya (2010) para aminoácidos, proteína digestível e energia digestível, para vitaminas e minerais disponíveis em literatura. Foi formulada uma dieta basal (Controle) à base de proteínas vegetais e animais, próximo de uma fórmula comercial, a qual foi suplementada com cinco níveis de ácidos biliares (BioPac[®]): 50; 100; 200; 400; 600 mg/kg (Tabela 1). Para confecção das dietas, os ingredientes foram moídos, misturados em misturador horizontal e processados em extrusora Ferraz, modelo E-62. Os grânulos foram desidratados em secadora e armazenados em refrigerador entre 5 e 7 °C até o fornecimento aos peixes.

Tabela 1 - Formulação e composição das dietas experimentais suplementadas com ácidos biliares (BioPac®).

Tratamentos	Controle	2	3	4	5	6
Níveis de ácidos biliares BioPac® (mg/kg)	00	50	100	200	400	600
Ingredientes			(%)			
Farinha de vísceras de frango	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Farinha de penas	9,00	9,00	9,00	9,00	9,00	9,00
Farinha de carne e ossos	11,00	11,00	11,00	11,00	11,00	11,00
Farelo de soja	23,00	23,00	23,00	23,00	23,00	23,00
Quirera de arroz	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Milho, grão	40,09	40,09	40,09	40,09	40,09	40,09
Óleo de soja	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50
Hemácias em pó	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
DL-metionina	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09
L-treonina	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
L-triptofano	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Antifúngico	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
BHT ¹	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Sal	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Calcário calcítico	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90
Suplemento mineral e vitamínico ²	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Veículo	0,060	0,055	0,050	0,040	0,020	0,000
Biopac® (ácidos biliares)	0,000	0,005	0,010	0,020	0,040	0,060
Composição Analisada						
Proteína bruta (%) ³	34,13	34,13	34,13	34,13	34,13	34,13
Proteína digestível (%) ⁴	30,76	30,76	30,76	30,76	30,76	30,76
Extrato etéreo bruto (%) ⁵	7,30	7,30	7,30	7,30	7,30	7,30
Energia digestível (Kcal/Kg) ⁴	3.201	3.201	3.201	3.201	3.201	3.201
Extrato não nitrogenado (%) ⁶	35,97	35,97	35,97	35,97	35,97	35,97
Fibra bruta (%) ⁷	4,54	4,54	4,54	4,54	4,54	4,54
Aminoácidos Essenciais Digestíveis (%) ^{4,8}						
Arginina	2,09	2,09	2,09	2,09	2,09	2,09
Histidina	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76	0,76
Isoleucina	1,13	1,13	1,13	1,13	1,13	1,13
Leucina	2,44	2,44	2,44	2,44	2,44	2,44
Lisina	1,61	1,61	1,61	1,61	1,61	1,61
Metionina	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52
Fenilalanina	1,48	1,48	1,48	1,48	1,48	1,48
Treonina	1,38	1,38	1,38	1,38	1,38	1,38
Triptofano	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34
Valina	1,59	1,59	1,59	1,59	1,59	1,59

¹Hidroxitolueno butilado.

²Umidade (%) 2,0, Cinzas (%) 71,6442, Colina (mg/kg) 30.000, Magnésio (%) 0,0085, Enxofre (%) 1,1589, Ferro (mg/kg) 25.714, Cobre (mg/kg) 1.960, Manganês (mg/kg) 13.345, Zinco (mg/kg) 30.000, Iodo (mg/kg) 939, Selênio (mg/kg) 30, Vitamina A (UI/kg) 600.000, Vitamina D3 (UI/kg) 600.000, Vitamina E (mg/kg) 12.000, Vitamina K3 (mg/kg) 631, Tiamina B1 (mg/kg) 1.176, Riboflavina B2 (mg/kg) 1.536, Piridoxina B6 (mg/kg) 1.274, Vitamina B12 (mcg/kg) 4.000, Niacina (mg/kg) 19.800, Ácido Pantotênico B3 (mg/kg) 3.920, Ácido Fólico (mg/kg) 192, Biotina (mg/kg) 20, Vitamina C (mg/kg) 40.250.

³Método de Dumas em aparelho Leco 528 LC (ETHERIDGE et al., 1998).

⁴Digestibilidade de acordo com Furuya (2010).

⁵Hidrólise ácida (AOAC, 2016).

⁶Extrato não nitrogenado = 100 – (Proteína bruta + Fibra bruta + Extrato etéreo + Matéria mineral).

⁷Método com filtração intermediária (AOAC, 2016).

⁸Hidrólise ácida e cromatografia de troca iônica (HPLC) (AOAC, 2016).

Os peixes foram alimentados até a saciedade aparente, três vezes ao dia (8h30min; 11h30min e 15h30min), durante 45 dias. O crescimento foi acompanhado por meio de avaliações do desempenho produtivo e eficiência nutricional.

3.3 VARIÁVEIS ZOOTÉCNICAS E ANÁLISES QUÍMICAS LABORATORIAIS

Os animais foram pesados em balança de precisão (0,01g) no início e ao final período experimental, para obtenção dos parâmetros de desempenho, (ganho em peso, consumo de ração, conversão alimentar aparente, taxa de crescimento específico, taxa de eficiência proteica), deposição de nutrientes (proteína bruta) e eficiência de retenção de proteína.

Ganho de peso vivo (g) = peso final – peso inicial

Conversão alimentar aparente (g/g) = $\frac{\text{consumo de alimento}}{\text{ganho de peso vivo}}$

Taxa de eficiência proteica (g/g) = $\frac{\text{ganho em peso vivo}}{\text{proteína bruta consumida}}$

Taxa de crescimento específico (%/dia) = $\frac{\ln(\text{peso final}) - \ln(\text{peso inicial})}{\text{tempo (dias)}}$

Deposição de nutrientes (g) = $\frac{\text{Ganho de peso vivo} \times \text{teor do nutriente no corpo}}{100}$

Eficiência de retenção de proteína bruta(%) = $\frac{((PB_F \times P_F) - (PB_I \times P_I)) \times 100}{C_{PB}}$

Onde: PBF = proteína bruta final no corpo; PBI = proteína bruta inicial no corpo; CPB = média de consumo de proteína bruta da parcela; PI, PF = peso vivo médio inicial e final da parcela.

Ao final do período experimental, seis animais de cada caixa foram submetidos a jejum prévio de 24 horas para serem amostrados. Eles foram insensibilizados e eutanasiados por aprofundamento do plano anestésico com Benzocaína (ethyl-p-aminobenzoato) 200 mg/L. Após a cessão dos movimentos operculares, os animais foram mantidos na solução de Benzocaína por mais 10 minutos. Em seguida, foram congelados, para posterior moagem em moinho de carne, secos, moídos novamente e então encaminhados para determinação da matéria seca e proteína bruta.

Para análise dos nutrientes corporais e das dietas, a proteína bruta foi

determinada através do método de Dumas em aparelho Leco 528 LC (ETHERIDGE et al., 1998). O extrato etéreo foi obtido por hidrólise ácida; A cinza foi obtida por queima em mufla; A matéria seca foi obtida em estufa a 105° C por 12 horas. As metodologias utilizadas para análises foram descritas por AOAC (2016). As análises de aminoácidos totais foram realizadas por hidrólise ácida e cromatografia de troca iônica (HPLC) no Laboratório da Empresa MCassab, São Paulo, Brasil.

3.4. ANÁLISES BIOQUÍMICAS

Após os peixes serem insensibilizados em anestésico (Benzocaína a 200 mg/L), foram então coletadas amostras de sangue (3,0 ml), dos animais em jejum prévio de 24 horas, por meio de punção na veia caudal com agulhas hipodérmicas 25x7, posteriormente acondicionadas em Tubo a vácuo com ativador de coágulo 4 ml, para a obtenção do soro.

As alíquotas de soro foram mantidas congeladas a -18 °C, até o momento das análises laboratoriais para a mensuração das seguintes variáveis: aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) e lipase, com uso de um analisador Bioquímico semiautomático modelo BIO-2000 IL (BIOPLUS PRODUTOS PARA LABORATÓRIOS LTDA).

3.5. ANÁLISE DOS DADOS

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com seis tratamentos e quatro repetições, com 14 peixes por parcela. Os dados de desempenho foram analisados pelo programa SAS (2014), por meio de análise de variância (ANOVA), normalidade dos erros (Cramer-Von-Mises) e a homocedasticidade da variância (Leveve). Quando observado significância estatística, foi aplicado o teste de Duncan ($P < 0,05$), para comparação entre as médias e o erro padrão das médias (EP).

A determinação dos melhores valores para os parâmetros de crescimento e índices zootécnicos, em função do nível mínimo necessário de BioPac (ácidos biliares), foi realizada através do modelo que melhor se ajustar ao conjunto de dados coletados (Modelo LRP - Linear Response Plateau) utilizando o software SAS (SAS instituto, 2014).

Os modelos foram submetidos à análise de resíduos conforme descrito por St-Pierre (2003). Os resíduos (observado – predito) foram regredidos em função dos

valores previstos de acordo com o seguinte modelo:

$$e_i = b_0 + b_1 (P_i - (P)^m) + \epsilon_i$$

Em que e_i é o valor residual para toda observação i ; b_0 , b_1 são as estimativas dos parâmetros; P_i é o valor previsto para todo i ; $(P)^m$ é valor médio para de todos os valores previstos; ϵ_i é o erro da regressão dos resíduos sobre os valores previstos. A regra de decisão baseia-se no pressuposto que: o modelo para ser imparcial a correlação aproxima-se de 1, quando R^2_{adjust} aproxima-se de 0, ou seja, os resíduos não estão correlacionados com as previsões, e a inclinação (b_1) do e_i em função de ϵ_i é zero se o modelo é imparcial. O modelo que gerar maior aproximação foi utilizado para a determinação do melhor nível de ácidos biliares (BioPac®).

4 RESULTADOS

Os dados de desempenho são apresentados na Tabela 2, onde o peso médio inicial dos peixes referentes aos seus tratamentos é descrito. Ainda nesta tabela é possível observar os valores de ganho em peso, com destaque de melhor resultado na inclusão dos ABs na dieta 600. Enquanto eficiência de retenção de proteína (ERP) apresentou melhor resultado na dieta 200.

Tabela 2 - Média de peso inicial, ganho em peso, conversão alimentar e taxa de crescimento específico (TCE) de juvenis de tilápias-do-Nilo suplementadas com ácidos biliares (BioPac®).

Níveis de Ácidos Biliares (mg/kg)	Peso Inicial (g)	Ganho em Peso (g)	Conversão Alimentar (g/g)	TCE (%)	ERP (%)
0	18,17±3,6	65,23±3,8 ^b	1,10±0,07	4,36±0,05 ^b	70,31±0,84 ^b
50	18,00±3,8	68,03±3,0 ^{ab}	1,07±0,03	4,42±0,04 ^{ab}	78,42±1,68 ^{ab}
100	18,00±3,3	67,83±2,3 ^b	1,12±0,03	4,39±0,02 ^{ab}	79,32±0,65 ^{ab}
200	18,51±3,7	69,67±2,8 ^b	1,14±0,05	4,40±0,03 ^{ab}	81,11±1,15 ^a
400	17,82±3,8	75,26±6,2 ^{ab}	1,09±0,04	4,43±0,07 ^{ab}	78,52±0,94 ^{ab}
600	17,74±3,8	78,07±10,7 ^a	1,09±0,05	4,53±0,10 ^a	77,67±1,08 ^{ab}
<i>Valor P</i>	<i>0,949</i>	<i>0,008</i>	<i>0,46</i>	<i>0,014</i>	<i>0,0310</i>

Letras minúsculas diferenciam médias pelo teste de Duncan ($p < 0,05$).

Outro dado que revela um importante ponto do estudo é a taxa de crescimento específico, que foi positiva e crescente conforme a adição dos ácidos biliares, sendo na dieta controle (sem adição) de 4,36% e na dieta com maior nível de inclusão (600 mg/kg de dieta) 4,53%, demonstrando a eficiência do produto teste para o crescimento dos peixes, melhorando o seu ganho diário. Já a conversão alimentar não demonstrou diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos, apenas na dieta 200 houve pequena diferença de valores quando comparada às demais.

Na análise de composição corporal na Tabela 3, os valores de matéria seca, matéria mineral, fósforo e cálcio não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, porém, a quantidade de proteína corporal e eficiência de retenção de proteína para juvenis de tilápias-do-Nilo revela uma alteração neste componente corporal, já para os primeiros grupos que receberam os ABs (50 a 600 mg/kg de dieta). Desta forma é possível inferir, que os animais que receberam os ABs apresentaram maior capacidade de retenção de proteína bruta, conseqüentemente maior crescimento e maior quantidade e tecido muscular.

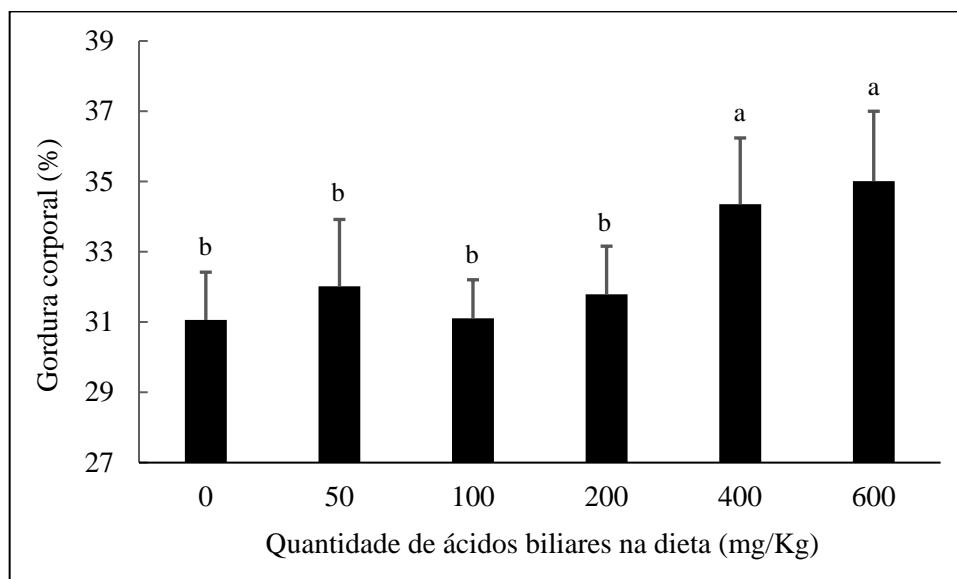
Tabela 3 - Média das porcentagens de matéria seca, matéria mineral, proteína bruta, fósforo, cálcio corporal de juvenis de tilápias-do-Nilo suplementadas com ácidos biliares (BioPac®). Valores em base de matéria seca.

Níveis de Ácidos Biliares (mg/kg)	Matéria Seca (%)	Matéria Mineral (%)	Proteína Bruta (%)	Fósforo (%)	Cálcio (%)
0	32,80±0,74	13,97±0,71	44,76±0,58 ^b	2,45±0,16	4,47±0,22
50	33,74±0,93	13,53±0,86	49,20±2,49 ^a	2,35±0,13	4,43±0,31
100	33,53±2,25	13,77±0,31	48,69±1,24 ^{ab}	2,37±0,07	4,54±0,08
200	33,73±0,58	14,01±0,30	50,52±3,74 ^a	2,48±0,06	4,54±0,13
400	34,37±1,31	13,66±0,60	48,00±1,51 ^{ab}	2,31±0,16	4,46±0,34
600	34,15±1,13	13,29±1,14	47,55±1,85 ^{ab}	2,28±0,27	4,31±0,43
<i>P-value</i>	0,660	0,725	0,049	0,508	0,866

Letras minúsculas diferenciam médias pelo teste de Duncan ($p < 0,05$).

Entre as análises realizadas de composição corporal, outro achado importante é demonstrado na Figura 1, com a porcentagem de gordura corporal na matéria seca de juvenis de tilápia-do-Nilo, onde nas dietas com 400 e 600 mg de ácidos biliares apresentaram maior deposição corporal. Uma maior quantidade de gordura depositada nesta fase pode ser considerada um fator positivo, uma vez que essas tilápias estão em fase de crescimento, sendo mais susceptíveis a períodos de estresse devido à grande manipulação nesta fase, para manejo e vacinas, onde reservas de energia extras podem ser pontos positivos para contrapor estes períodos.

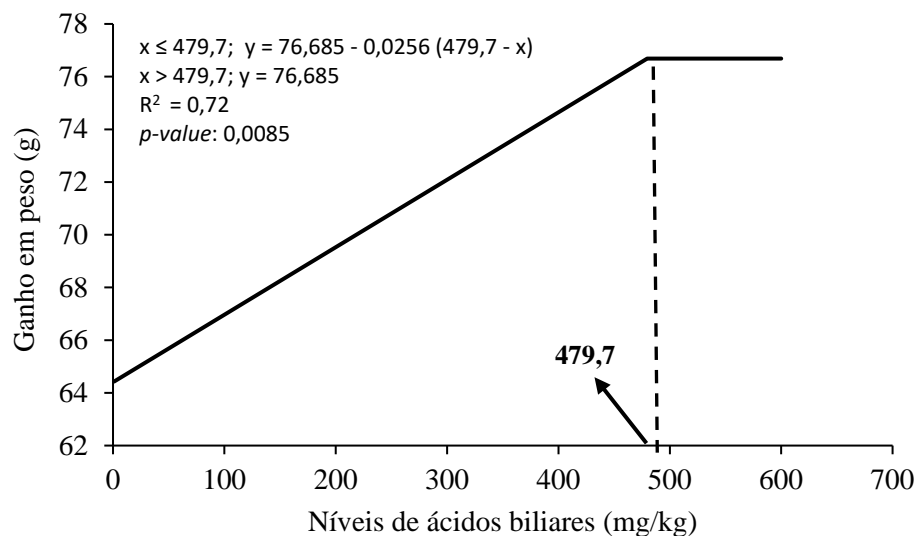
Figura 1 - Porcentagem de gordura corporal na matéria seca de juvenis de tilápia-do-Nilo, suplementadas com ácidos biliares (BioPac®).



Letras minúsculas diferenciam médias pelo teste de Duncan ($p < 0,05$).

Na Figura 2, é demonstrado uma estimativa do valor ideal de ABs (BioPac®) em dietas para tilápias para o melhor crescimento. Nesta figura é possível observar o ponto de estabilidade em função do ganho em peso de 76,6 g com um valor ideal de ácidos biliares na dieta de 479,7 mg/kg de dieta. Após essa quantidade, o ganho em peso estaciona, dessa forma, não há necessidade de incluir valores maiores para o melhor desempenho das tilápias.

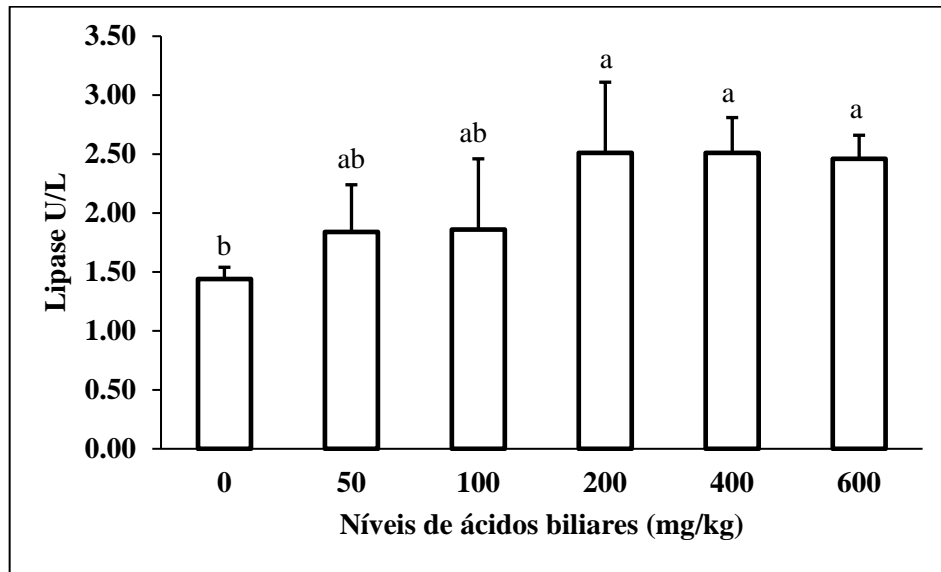
Figura 2 - Nível ideal de ácidos biliares em função do ganho em peso para de juvenis de tilápia-do-Nilo, suplementadas com ácidos biliares (BioPac®).



Nas Figuras 3, 4 e 5 é possível observar a determinação da atividade enzimática da lipase, alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST), no soro de juvenis de tilápias-do-Nilo suplementando com ABs. Desta forma, foi possível observar maior atividade da lipase com o aumento da inclusão dos ABs nas dietas, comprovando a ação dos mesmos. Também foi possível inferir menor atividade da AST e ALT com as inclusões de ABs em dietas praticas, demonstrando que o produto auxilia na preservação e manutenção do tecido hepático e conseqüentemente melhora nos índices produtivos e imunitários.

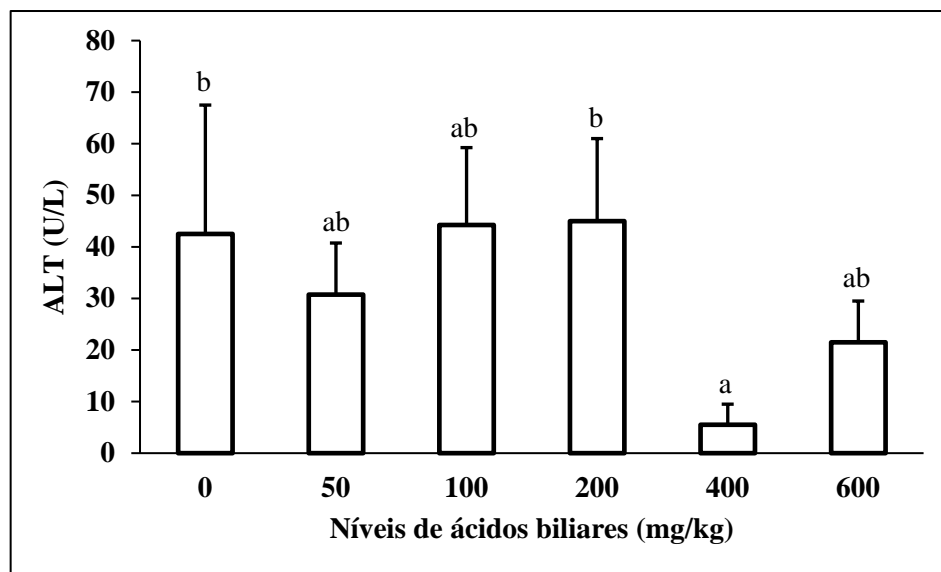
A partir da Figura 6 até a 12, podemos comparar em tamanho os peixes de cada dieta experimental. A primeira imagem corresponde à dieta controle, sem adição de ABs. Em sequência, cada imagem retrata os peixes de uma dieta, 50, 100, 200, 400 e 600 mg/kg, respectivamente. É possível perceber a olho nu a diferença de tamanho entre esses peixes, comprovando a eficiência do produto em todos os aspectos já citados.

Figura 3 - Determinação quantitativa da atividade enzimática da lipase no soro plasmático de juvenis de tilápia-do-Nilo, suplementadas com ácidos biliares (BioPac®).



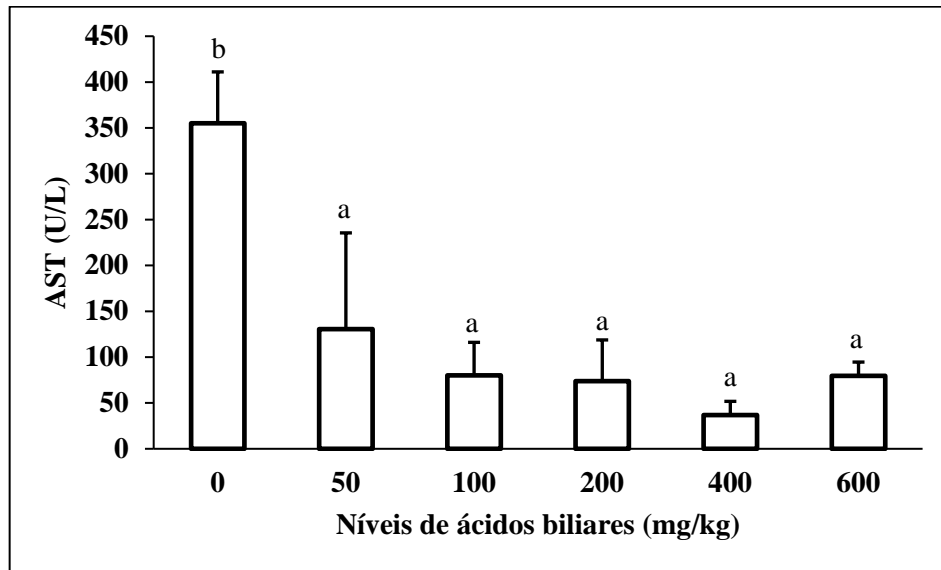
Letras minúsculas diferenciam médias pelo teste de Duncan ($p < 0,05$).

Figura 4 - Determinação quantitativa da alanina aminotransferase (ALT) no soro plasmático de juvenis de tilápia-do-Nilo, suplementadas com ácidos biliares (BioPac®).



Letras minúsculas diferenciam médias pelo teste de LSD de Fisher ($p < 0,05$).

Figura 5 - Determinação quantitativa da aspartato amino transferase (AST) no soro plasmático de juvenis de tilápia-do-Nilo suplementadas com ácidos biliares (BioPac®).



Letras minúsculas diferenciam médias pelo teste de LSD de Fisher ($p < 0,05$).

A partir da Figura 6 até a 11, podemos comparar em tamanho os peixes de cada dieta experimental. A primeira imagem corresponde à dieta controle, sem adição de ABs. Em sequência, cada imagem retrata os peixes de uma dieta, 50, 100, 200, 400 e 600 mg/kg, respectivamente. É possível perceber a olho nu a diferença de tamanho entre esses peixes, comprovando a eficiência do produto em todos os aspectos já citados.



Figura 6 - Amostras de peixes da dieta BIO 00 (controle).



Figura 7 - Amostra de peixes da dieta BIO 50.



Figura 8 - Amostra de peixes da dieta BIO 100.



Figura 9 - Amostra de peixes da dieta BIO 200.



Figura 10 - Amostra de peixes da dieta BIO 400.



Figura 11 - Amostra de peixes da dieta BIO 600.

5 DISCUSSÃO

A inclusão de ABs na dieta para juvenis de tilápias-do-Nilo melhorou o desempenho de crescimento e os parâmetros de eficiência alimentar em comparação com os peixes alimentados com a dieta sem adição de ABs. Esses resultados foram consistentes com estudos anteriores que mostraram que os ácidos biliares melhoraram o desempenho de crescimento em *Ctenopharyngodon idella* (ZHOU et al., 2017), *Seriola quinqueradiata* (DESHIMARU et al., 1982), *Anguilla japonica* (Maita et al., 1996) e *Paralichthys olivaceus* (ALAM et al., 2002). Por outro lado, o estudo prévio de Jiang et al. (2018) utilizando uma superdosagem de ácidos biliares (1,35 g/kg da dieta), apresentou efeitos negativos no desenvolvimento desses peixes.

Nesse contexto, dados de estudos nutricionais realizados com *A. japonica* (Maita et al., 1996), *P. olivaceus* (ALAM et al., 2002) e *S. prenanti* (ZHENG et al., 2016) indicaram que ABs aumentaram a atividade da lipase; assim, melhorando a digestão lipídica como tem sido relatado em estudos *in vivo* e *in vitro* em vertebrados superiores (KNARREBORG et al., 2003). Além disso, os ABs auxiliaram a emulsificação de compostos lipídicos, bem como solubilizá-los e aumentar o transporte e absorção de lipídios (MUKHOPADHYAY e MAITRA, 2004; ROMÁŃSKI, 2007). Os efeitos supracitados dos ABs na atividade da lipase, bem como no transporte e absorção de lipídios, resultaram em um melhor desempenho do crescimento em carpa capim (*C. idella*) suplementadas com gordura e ácidos biliares (ZHOU et al., 2017).

Neste estudo além de verificar maior desempenho dos peixes, como ganho em peso, também foi observado melhor eficiência de retenção de proteína, assim como maior quantidade de gordura, demonstrando que os ABs aumentam o aproveitamento dos nutrientes fornecidos, resultando em peixes mais pesados. Além disso, vários estudos demonstraram que a suplementação de ABs promoveu o crescimento dos peixes, mesmo quando alimentados com dietas contendo farinha de peixe ou outros ingredientes de origem animal (ALAM et al., 2002; JI et al, 2017; SUN et al., 2014; ZENG et al., 2017).

No presente estudo, seguindo o melhor ganho em peso, o valor ideal de ABs na dieta foi estimado em 479,7 mg/kg, com um ganho de 76,6 g em 45 dias. Já no estudo Zheng et al. (2016) estimou o nível ideal de ácidos biliares de 222-270 mg/kg com base no ganho em peso e conversão alimentar respectivamente para *Schizothorax prenanti* alimentados com dietas contendo farinha de peixe em sua

composição. A recomendação de ácidos biliares para *Ctenopharyngodon idellus* foi de 0,17 a 0,19 g/kg alimentadas com uma dieta contendo farinha de peixe e óleo de peixe (ZENG et al., 2017). Neste estudo, os valores de recomendação para tilápias-do-Nilo foi acima do encontrado. Já no estudo de Sun et al. (2014) com *Scophthalmus maximus*, recomendou nível mais alto de ABs na dieta (1,5 g/kg) do que no atual estudo. Os autores também utilizaram farinha de peixe e óleo de peixe na confecção de sua dieta teste. Esses estudos indicam que o nível ótimo de ácidos biliares em dietas para peixes pode variar dependendo do tipo de AB utilizado, espécie de peixe, formulação de ração e outras condições de cultura.

Sabe-se que os ABs funcionam facilitando a digestão de lipídios, agindo como agentes emulsificantes que tornam as gorduras acessíveis às lipases pancreáticas e aumentam a absorção intestinal de gorduras ou vitaminas lipossolúveis (MALDONADO-VALDERRAMA et., 2011), fato que pode ser observado pela maior retenção de gordura encontrada nos grupos deste estudo ao receberem maior quantidade de ABs. Alguns compostos críticos, como taurina e colesterol utilizados para a síntese de AB ou conjugados biliares, são baixos ou ausentes nas fontes de ingredientes vegetais (NRC, 2011), sendo que dietas utilizadas atualmente para tilápias-do-Nilo são em sua grande parte constituídas praticamente de ingredientes de origem vegetal. Assim, a síntese insuficiente de ABs pode ocorrer em peixes alimentados com ração à base de ingredientes vegetais, e ser responsável pela má utilização de lipídios e crescimento reduzido dos peixes. Isso pode explicar parcialmente o efeito benéfico dos ABs no desempenho e crescimento de juvenis de tilápias-do-Nilo observados neste estudo. Semelhante à observação atual, os ABs também melhoraram o desempenho e crescimento da truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (ADHAMI et al., 2017; IWASHITA et al., 2008; YAMAMOTO et al., 2007) e *Scophthalmus maximus* (GU et al., 2017) alimentados com dietas à base de proteínas vegetais. Desta forma, os estudos mencionados acima sugerem que pode ser de extrema importância a suplementação de ABs em rações à base de plantas para aumentar o crescimento dos peixes, caso essa abordagem for econômica para a indústria de rações.

Neste estudo, a suplementação de ABs afetou positivamente a quantidade de proteína corporal, no entanto não modificou a quantidade de matéria seca e minerais. No estudo de Zeng et al. (2017) também encontraram aumento significativo no teor de proteína bruta dos peixes, mas não tiveram efeito sobre a umidade e o teor de cinzas do corpo dos peixes utilizados no estudo (*Ctenopharyngodon idellus*). Por outro

lado, Sun et al. (2014) relataram que os ABs dietéticos diminuíram significativamente a umidade, aumentaram a proteína bruta e as cinzas do corpo, músculo e fígado de *Scophthalmus maximus*.

Uma das principais funções dos ABs é conhecida por estar envolvida na emulsificação lipídica que ajuda a quebrar grandes moléculas lipídicas em pequenos glóbulos, fornecendo lipase em quantidade suficiente para a digestão lipídica (NRC, 2011; OGATA et al., 2003). No presente estudo a adição de ABs nas dietas afetou significativamente a atividade da lipase, sendo que os grupos que receberam 200, 400 e 600 mg/Kg de ABs, apresentaram a maior atividade desta enzima. Em outros estudos também foi encontrado o mesmo comportamento com a inclusão de ABs na dieta, aumentando a atividade da lipase para *Oreochromis niloticus* em um estudo preliminar (JIANG et al., 2018), *Ctenopharyngodon idella* (ZHOU et al., 2017), *Anguilla japonica* (MAITA et al., 1996), *Paralichthys olivaceus* (ALAM et al., 2002) e *Schizothorax prenanti* (ZHENG et al., 2016).

No presente estudo, a inclusão de ABs nas dietas também influenciou positivamente a atividade da ALT e AST, sendo que as inclusões de 400 e 600, apresentaram menor intensidade de lesões no fígado (hepatócitos). Já no estudo de Jiang et al. (2018) os peixes alimentados com 1,35 g/kg de ABs na dieta apresentaram as maiores atividades de ALT e AST, o que sugere que as células do fígado foram parcialmente danificadas, verificando que a suplementação em excesso de ABs é tóxica para os hepatócitos, mas o mecanismo ainda precisa ser melhor elucidado. Vale ressaltar que os intervalos de referência para estas enzimas são de $102,9 \pm 51,9$ UL^{-1} , para AST, e $52,0 \pm 34,6$ UL^{-1} para ALT, segundo o estudo de Rodrigues et al. (2018), com tilápias-do-Nilo produzidas em tanques-rede. Seguindo esses parâmetros, pode ser observado que o grupo controle (sem adição de ABs) ficou três vezes acima do estabelecido como normal para esta espécie para a atividade de AST. Por outro lado, os peixes que receberam ABs apresentaram maior atividade da lipase e, conseqüentemente degradação facilitada da gordura consumida, desta forma poupando o fígado de uma maior atividade.

Os ABs utilizados neste estudo parecem melhorar o aproveitamento dos nutrientes e aumentar metabolismo lipídico. Pesquisas futuras são necessárias para entender melhor todos os mecanismos dos ABs como aditivo alimentar em dietas à base de ingredientes vegetais + animais ou somente vegetais, o que usualmente é utilizado em dietas para tilápias-do-Nilo na atualidade. Os resultados deste estudo sugerem que a suplementação de ABs pode ser um aditivo alimentar potencial para

promover melhor eficiência na utilização de dietas praticas na alimentação de tilápias-do-Nilo, principalmente de dietas que tenham na sua maioria ingrediente à base de vegetais. Mais pesquisas serão necessárias para abordar seus níveis ideais devido à natureza da formulação da ração e as diferentes espécies de peixes-alvo cultivadas em cativeiro.

6 CONCLUSÃO

Foi possível inferir que o valor ideal de ácidos biliares na dieta é de 479,7 mg/Kg, para o maior ganho em peso, aproveitamento da proteína (eficiência de retenção de proteína) e gordura corporal de juvenis de tilápia-do-Nilo nesta fase de crescimento. Também foi verificado que a inclusão de ácidos biliares (BioPac®) em dieta para juvenis de tilápia-do-Nilo, apresenta uma melhora nos níveis de lipase, e na resposta hepática as dietas, comprovados pelos valores de ALT e AST para esta espécie.

REFERÊNCIAS

- ADHAMI, B.; AMIRKOLAIE, A.K.; ORAJI, H.; KENARI, R.E. Growth performance, nutrient digestibility and lipase activity in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed fat powder in diet containing emulsifiers (cholic acid and Tween- 80). **Aquaculture Nutrition**, v.23, p.1153–1159, 2017.
- ALAM, M. S.; TESHIMA, S.; ISHIKAWA, M.; KOSHIO, S. Effects of ursodeoxycholic acid on growth and digestive enzyme activities of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* (Temminck & Schlegel). **Aquaculture Research**, v.32, p.235–243, 2002.
- AOAC (2016) (Association of Official Analytical Chemists). Official Methods of Analysis. 20^a ed. **Association of Official Analytical Chemists**, Rockville, MD, USA. Available at: <https://www.aoac.org/>
- DESHIMARU, O.; KUROKI, K.; YONE, Y. Suitable levels of lipids and ursodesoxycholic acid in diet for yellowtail. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, v.48, p.1265–1270, 1982.
- ETHERIDGE, R.D., PESTI, G.M., FOSTER, E.H. A comparison of nitrogen values obtained utilizing the Kjeldahl nitrogen and Dumas combustion methodologies (Leco, CNS 2000) on samples typical of an animal nutrition analytical laboratory. **Animal Feed Science and Technology**, v.73, 21-28, 1998.
- FAN, M.; WANG, X.; XU, G.; YAN, Q.; HUANG, W. Bile acid signaling and liver regeneration. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*- **Gene Regulatory Mechanisms**, v.1849, p.196–200, 2015.
- FONTAÍNHAS-FERNANDES, A.; GOMES, E.; REIS-HENRIQUES, M.A.; COIMBRA, J. Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of Nile tilapia: Digestibility and growth performance. **Aquaculture International**, v.7, p.57–67, 1999.
- FURUYA, W.M. Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias. Toledo: GFM, 100p, 2010.
- GOU, G.W.; JIANG, M.; WEN, H.; WU, F.; LIU, W.; TIAN, J.; YANG, C.G. Effects of dietary silymarin on growth performance, enzymes of hepatic lipid metabolism and antioxidant ability in GIFT *Oreochromis niloticus*. **Journal of Fisheries of China**, v.40, p.1309–1320, 2016.
- GU, M.; BAI, N.; KORTNER, T.M. Taurocholate supplementation attenuates the changes in growth performance, feed utilization, lipid digestion, liver abnormality and sterol metabolism in turbot (*Scophthalmus maximus*) fed high level of plant protein. **Aquaculture**, v.468, p.597–604, 2017.
- HAGEY, L.R., MØLLER, P.R., HOFMANN, A.F.; KRASOWSKI, M.D. Diversity of bile salts in fish and amphibians: Evolution of a complex biochemical pathway. **Physiological and Biochemical Zoology**, v.83, p.308-321, 2010.
- HOFMANN, A.F. The continuing importance of bile acids in liver and intestinal disease. *Archives of Internal Medicine*, v.159, p.2647–2658, 1999.

- HUANG, C.X.; GUO, Y.M.; YUAN, J.M. Dietary taurine impairs intestinal growth and mucosal structure of broiler chickens by increasing toxic bile acid concentrations in the intestine. **Poultry Science**, v.93, p.1475–1483, 2014.
- IWASHITA, Y.; SUZUKI, N.; YAMAMOTO, T.; SHIBATA, J.; ISOKAWA, K.; SOON, A. H.; GOTO, T. Supplemental effect of cholytaurine and soybean lecithin to a soybean meal- based fish meal-free diet on hepatic and intestinal morphology of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Fisheries Science**, v.74, p.1083–1095, 2008.
- IWASHITA, Y.; SUZUKI, N.; YAMAMOTO, T.; SHIBATA, J.; ISOKAWA, K.; SOON, A.H.; IKEHATA, Y.; FURUITA, H.; SUGITA, T.; GOTO, T. Supplemental effect of cholytaurine and soybean lecithin to a soybean meal-based fish meal-free diet on hepatic and intestinal morphology of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Fisheries Science**, v.74, p.1083–1095, 2008.
- JI, Y.; GU, Y.; LIU, H.; YANG, Z.; LI, C. The effects of partial replacement of white fish meal by poultry by- product meal and addition of bile acid in feed on growth, digestibility, and serum enzyme activities of the Chinese soft- shelled turtle. **Fisheries Science**, v.83, p.83–88, 2017.
- JIANG, M.; WEN, H.; GOU, G.W.; LIU, T.L.; LU, X.; DENG, D.F. Preliminary study to evaluate the effects of dietary bile acids on growth performance and lipid metabolism of juvenile genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed plant ingredient- based diets. **Aquaculture Nutrition**, v.4, n.4, p.1175–1183, 2018.
- KNARREBORG, A.; JENSEN, S.K.; ENGBERG, R.M. Pancreatic lipase activity as influenced by unconjugated bile acids and pH, measured *in vitro* and *in vivo*. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v14, p.259–265, 2003.
- KUBITZA, F. 2018. O impacto da amônia, do nitrito e do nitrato sobre o desempenho e a saúde dos peixes e camarões. A água na aquicultura, Parte 3. **Panorama da Aquicultura**, 164: 1-25.
- LIN, S.M.; MAO, S.H.; GUAN, Y. Replacement of fish meal with degossypolled cottonseed protein in low fish meal diets for tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Chinese Journal of Animal Nutrition**, v.23, p.2231–2238, 2011.
- MAITA, M.; TACHIKI, H.; KAIBARA, A.; ITAWAKI, R.; IKEDA, Y. Pharmacological effect of ursodeoxycholic acid in juvenile eel (*Anguilla anguilla* L.). **Nihon Suisan Gakkaishi**, v.62, p.129–130, 1996.
- MALDONADO-VALDERRAMA, J.; WILDE, P.; MACIERZANKA, A.; MACKIE, A. The role of bile salts in digestion. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.165, p.36–46, 2011.
- MUKHOPADHYAY, S.; MAITRA, U. Chemistry and biology of bile acids. **Current Science India**, v87, p.1666–1683, 2004.
- NRC. Nutrient requirements of fish and shrimp. Washington, D.C.: **National academy press. (2011). 392p.**

OGATA, Y.; NISHI, M.; NAKAYAMA, H.; KUWAHARA, T.; OHNISHI, Y.; TASHIRO, S. Role of bile in intestinal barrier function and its inhibitory effect on bacterial translocation in obstructive jaundice in rats. **Journal of Surgical Research**, v.115, p.18–23, 2003.

PONZONI, R.W.; NGUYEN, N.H.; KHAW, H.L.; HAMZAH, A.; BAKAR, K.R.A.; YEE, H.Y. Genetic improvement of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) with special reference to the work conducted by the WorldFish Center with the GIFT strain. **Reviews in Aquaculture**, v.3, p.27–41, 2011.

RIDLON, J.M.; KANG, D.J.; HYLEMON, P.B.; BAJAJ, J.S. Bile acids and the gut microbiome. **Current Opinion in Gastroenterology**, v.30, p.332–338, 2014.

RODRIGUES, G.M.; NASCIMENTO, F.G.O.; BIZARE, A.; OLIVEIRA, W.J.; GUIMARÃES, E.C.; MUNDIM, A.V. Perfil bioquímico sérico de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) criadas em tanques rede durante as estações do verão e inverno. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.46, pub.1529, p.1–8, 2018.

ROMAŃSKI, K.W. The role and mechanism of action of bile acids within the digestive system -bile acids in the liver and bile. **Advances in Clinical and Experimental Medicine**, v.16, p.793–799, 2007.

SAS (Statistical Analyses System), 2014. Version Release 9.4. for Windows. CD ROM.

SIPAÚBA-TAVARES, L.H.; SANTEIRO, R.M. Fish farm and water quality management, *Acta Scientiarum*. **Biological Sciences**, v.35, n.1, 21-27, 2013.

SUN, J.Z.; WANG, J.Y.; MA, J.J.; LI, B.S.; HAO, T.T.; SUN, Y.Z.; ZHANG, L.M. Effects of dietary bile acids on growth, body composition and lipid metabolism of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) at different lipid levels. **Oceanologia et Limnologia Sinica**, v.45, p.617–624, 2014.

TUFFT, LS.; JENSEN, LS. Influence of dietary taurine on performance and fat retention in broilers and turkey poults fed varying levels of fat. **Poultry Science**, v.71, p.880-885, 1992.

YAMAMOTO, T.; SUZUKI, N.; FURUITA, H.; SUGITA, T.; TANAKA, N.; GOTO, T. Supplemental effect of bile salts to soybean mealbased diet on growth and feed utilization of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Fisheries Science**, v.73, p.123–131, 2007.

YAMAMOTO, T.; SUZUKI, N.; FURUITA, H.; SUGITA, T.; TANAKA, N.; GOTO, T. Supplemental effect of bile salts to soybean meal-based diet on growth and feed utilization of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Fisheries Science**, v.73, p.123–131, 2007.

ZENG, B.H.; LIAO, Z.Y.; XIANG, X.; HE, W.X.; CEN, M.; HE, S.C. Effects of bile acids on growth performance, muscle composition and digestive enzyme activities of *Ctenopharyngodon idellus*. **Progress in Fishery Sciences**, v.38, p.99–106, 2017.

ZHAO, H.; FENG, J.; NING, Y.; PAN, Y.Y.; ZHAO, H.L. Evaluation of soybean meal as a substitute for fish meal in practical diets for juvenile genetic improvement of fabled tilapia. **Chinese Journal of Animal Nutrition**, v.23, p.1840–1846, 2011.

ZHENG, Z.L.; ZENG, B.H.; XIANG, X.; ZHOU, X.H.; CHEN, J.; LYU, G.J.; ZHU, C.K.; LI, D.J.; REN, S.J. Effects of bile acid supplemental level on growth performance physical indices and body composition of juvenile *Schizothorax prenanti*. **Chinese Journal of Animal Nutrition**, v.28, n.7, p.2423–2430, 2016.

ZHONG, W.W.; WEN, H.; JIANG, M.; WU, F.; YUAN, D.; LIU, T. Effect of plant protein sources on growth performance, body composition and apparent digestibility in juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Journal of Huazhong Agricultural University**, v.29, p.356–362, 2010.

ZHOU, J.S.; CHEN H.J.; JI H.; SHI X.C.; LI X.X.; CHEN L.Q.; DU Z.Y.; YU H.B. Effect of dietary bile acids on growth, body composition, lipid metabolism and microbiota in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Aquaculture Nutrition**, v.24, p.802–813, 2018.