

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO  
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO  
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS  
INSTITUTO DE PESCA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

AVALIAÇÃO DO ENRIQUECIMENTO NUTRICIONAL DE *Artemia* sp. COM WHEY  
PROTEIN ISOLADO PARA APLICAÇÕES EM AQUICULTURA

Gabriela Toledo Nobrega

Orientador: Vander Bruno dos Santos

Coorientador: Eduardo Gomes Sanches

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca – APTA – SAA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Pesca.

SÃO PAULO

ABRIL-2025

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO  
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO  
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS  
INSTITUTO DE PESCA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

AVALIAÇÃO DO ENRIQUECIMENTO NUTRICIONAL DE *Artemia* sp. COM WHEY  
PROTEIN ISOLADO PARA APLICAÇÕES EM AQUICULTURA

Gabriela Toledo Nobrega

Orientador: Vander Bruno dos Santos

Coorientador: Eduardo Gomes Sanches

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca – APTA – SAA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Pesca.

SÃO PAULO

ABRIL-2025

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO  
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO  
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS  
INSTITUTO DE PESCA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

ENRIQUECIMENTO DE *Artemia* sp. COM WHEY PROTEIN ISOLADO: IMPACTOS  
NA NUTRIÇÃO E CRESCIMENTO DO ACARÁ-BANDEIRA

Gabriela Toledo Nobrega

Orientador: Vander Bruno dos Santos

Coorientador: Eduardo Gomes Sanches

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto  
de Pesca – APTA – SAA, como parte dos requisitos  
para obtenção do título de Mestre em Aquicultura  
e Pesca.

SÃO PAULO

ABRIL-2025

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO  
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO  
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS  
INSTITUTO DE PESCA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO:** AVALIAÇÃO DO ENRIQUECIMENTO NUTRICIONAL DE *Artemia* sp. COM WHEY PROTEIN ISOLADO PARA APLICAÇÕES EM AQUICULTURA

**AUTOR:** GABRIELA TOLEDO NOBREGA

**ORIENTADOR:** Vander Bruno dos Santos

**CO-ORIENTADOR:** Eduardo Gomes Sanches

Aprovado como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM AQUICULTURA/PESCA pela Comissão Examinadora:




---

Prof(a). Dr(a) Vander Bruno dos Santos  
(Presidente da Comissão Examinadora - PGAP-IP)



---

Prof(a). Dr(a) Renata Guimarães Moreira Whitton

Documento assinado digitalmente  
 **CLAUDIA MARIS FERREIRA MOSTERIO**  
Data: 14/04/2025 19:40:38-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

---

Prof(a). Dr(a) Claudia Maris Ferreira Mosterio

Data da realização: 10 de Abril de 2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Elaborada pelo Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca. Instituto de Pesca, São Paulo

N355a Nobrega, Gabriela Toledo  
Avaliação do enriquecimento proteico de *artemia sp.* com Whey protein isolado para aplicações  
em aquicultura / Gabriela Toledo Nobrega – São Paulo, 2025  
82f. ; fig 05. ; tab.03. gráf. 4  
Dissertação (mestrado) apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do  
Instituto de Pesca – APTA - Secretaria de Agricultura e Abastecimento.  
Orientadora: Vander Bruno dos Santos  
1. Aquicultura. 2. Suplementação nutricional. 3. Pesca ornamental. 4. Enriquecimento proteico  
5. Hipertrofia muscular. 6. Qualidade da água  
I. Santos, Vander Bruno dos. II. Título.

CDD 574

Permitida a cópia parcial, desde que citada a fonte – O autor

## **AGRADECIMENTOS**

A jornada do mestrado foi marcada por desafios, aprendizados e transformações profundas. Neste caminho, tive a graça de contar com o apoio e a presença de pessoas e instituições que foram fundamentais para que este trabalho se tornasse realidade. Agradeço primeiramente a Deus, pela força, sabedoria e serenidade nos momentos mais desafiadores. À minha família, meu alicerce, por todo amor, paciência e incentivo constante, mesmo nas fases em que estive ausente fisicamente ou emocionalmente. O carinho de vocês foi combustível em todos os dias difíceis.

Aos meus orientadores, Dr. Vander Bruno dos Santos e Dr. Eduardo Gomes Sanches, deixo minha sincera gratidão pela orientação generosa, pela confiança depositada em meu trabalho e pela dedicação em compartilhar seus conhecimentos. Obrigada por acreditarem no meu potencial e por guiarem-me com sensibilidade e rigor científico. Aos colegas do Instituto de Pesca – especialmente do IP-Lisa – agradeço imensamente pelo companheirismo, pelo apoio técnico e emocional, e pelas trocas enriquecedoras que tornaram o ambiente de pesquisa mais leve e inspirador.

À Dr<sup>a</sup> Renata Guimarães, do Instituto de Biociências, e à Dr<sup>a</sup> Erna Bach, do laboratório multiusuário, meu muito obrigada pelo auxílio nas análises laboratoriais e pela disposição em contribuir com este projeto.

E ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), registro minha gratidão pelo apoio financeiro, por meio da concessão da bolsa (Processo nº 422390/2023-7), que foi essencial para a viabilização desta pesquisa.

Este trabalho é resultado de um esforço coletivo, e carrego comigo cada gesto de apoio, incentivo e acolhimento que fizeram parte dessa caminhada. A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste sonho, meu mais sincero e emocionado muito obrigada.

## Sumário

AGRADECIMENTOS.....	vi
RESUMO.....	ix
<b>1.INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>1</b>
2.Revisão bibliográfica.....	3
2.1 O papel dos aminoácidos e ácidos graxos na nutrição de peixes.....	3
2.4 Nutrição e crescimento muscular em peixes.....	6
OBJETIVO GERAL.....	8
Referência Bibliográfica.....	9
CAPITULO 1.....	12
1.INTRODUÇÃO.....	14
2. Materiais e Métodos.....	15
<b>2.1. Material Biológico e Condições de Cultivo.....</b>	<b>15</b>
2.2 Análise da Composição Nutricional Aminoácidos e Ácidos Graxos.....	17
2.3 Analise estatística.....	19
3. Resultados.....	19
3.1 Media e desvio padrão de Sobrevivência e crescimento entre os grupos de 12 e 24 horas.....	19
4. Discussão.....	25
5. Conclusão.....	28

<b>6. Agradecimentos .....</b>	<b>28</b>
7. Referências .....	28
CAPÍTULO 2.....	32
Resumo: .....	33
1.Introdução .....	34
2. Material e métodos.....	36
2.1 Obtenção de dados.....	36
2.2 Detalhamento da preparação experimental: tratamentos e condições iniciais.....	37
2.2.2 Preparação do aquário e da água.....	38
2.4 Análise biométrica do Acará-bandeira.....	45
2.5 Análises Histológicas do Crescimento Muscular do Acará-Bandeira .....	47
2.6 Análise dos dados .....	50
Os dados coletados foram organizados em planilhas do Microsoft Excel e submetidos à análise estatística. Inicialmente, aplicou-se a ANOVA unidirecional para comparar as variáveis de crescimento e peso entre os diferentes tratamentos, adotando $p < 0,05$ como nível de significância. Em seguida, o teste de Tukey foi utilizado para comparações múltiplas entre os grupos.....	
3.Resultados .....	50
5. Conclusão .....	61
6. Agradecimentos.....	62
8. Referências .....	62
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	64



## RESUMO

Este estudo avaliou o impacto da suplementação de ``whey protein`` na alimentação de *Artemia sp.* para o crescimento do Acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*). Utilizando diferentes concentrações de ``whey protein`` (0,0g, 0,1g, 0,5g e 1,0g) durante 60 dias, o experimento analisou sobrevivência, crescimento, composição muscular, ácidos graxos e aminoácidos. Os resultados mostraram que a suplementação de ``whey protein`` promoveu aumento significativo no crescimento morfométrico e na densidade das fibras musculares, especialmente nos tratamentos com 0,1g e 0,5g, com destaque para o tratamento 1,0g (137,78 fibras/mm<sup>2</sup>). A análise de aminoácidos e ácidos graxos indicou melhorias nos compostos essenciais, como Lys, Val, Tyr e Ile. Além disso, a sobrevivência e o crescimento das artemia foram otimizados, com melhores resultados no tratamento de 0,1g. Este trabalho destaca o potencial do ``whey protein`` como suplemento funcional, com efeitos positivos no desenvolvimento de *Pterophyllum scalare* e implicações para a produção de peixes ornamentais mais saudáveis.

**Palavras-chave:** Aquicultura, Suplementação nutricional, Pesca ornamental, Enriquecimento proteico, Hipertrofia muscular, Qualidade da água.

## ABSTRACT

This study evaluated the impact of *whey protein* supplementation in *Artemia sp.* feeding on the growth of *Pterophyllum scalare*. Using different *whey protein* concentrations (0.0g, 0.1g, 0.5g, and 1.0g) over 60 days, the experiment analyzed survival, growth, muscle composition, amino acids, and fatty acids. Results showed that *whey protein* supplementation significantly improved morphometric growth and muscle fiber density, especially in treatments with 0.1g and 0.5g, with the 1.0g treatment showing the highest fiber density (137.78 fibers/mm<sup>2</sup>). Amino acid and fatty acid analysis indicated improvements in essential compounds such as Lys, Val, Tyr, and Ile. Additionally, artemia survival and growth were optimized, with the 0.1g treatment showing the best results. This work highlights the potential of *whey protein* as a functional supplement, with positive effects on *Pterophyllum scalare* development and implications for healthier ornamental fish production.

**Keywords:** Aquaculture, Nutritional supplementation, Ornamental fish, Protein enrichment, Muscle hypertrophy, Water quality.

## 1.INTRODUÇÃO GERAL

A aquicultura ornamental tem apresentado crescimento significativo nos últimos anos, impulsionada pelo aumento da demanda por peixes ornamentais e pela valorização estética dos aquários domésticos. De acordo com relatório da Verified Market Reports (2024), o mercado global de peixes ornamentais deve atingir cifras bilionárias nos próximos anos, refletindo não apenas o interesse comercial, mas também a necessidade de avanços tecnológicos na produção aquícola, especialmente no que tange à nutrição larval.

Nesse contexto, a produção de peixes ornamentais em ambientes laboratoriais tem ganhado destaque, tanto pelo seu valor econômico quanto pelo potencial de reduzir a pressão sobre populações naturais. O Acará-bandeira (*Pterophyllum scalare* Schutze, 1823), por exemplo, é amplamente cultivado devido ao seu apelo estético, comportamento pacífico e alta capacidade reprodutiva, tornando-se uma das espécies mais populares entre aquaristas (Chapman, 2000; Luna & Gómez, 2005). No entanto, o sucesso da criação em cativeiro depende de diversos fatores biológicos e ambientais, sendo a nutrição um dos aspectos mais críticos, especialmente na fase larval, quando as exigências nutricionais são elevadas para sustentar altas taxas de crescimento (Pereira et al., 2016).

A *Artemia salina* destaca-se como um alimento vivo amplamente utilizado na larvicultura, devido à sua fácil manipulação nutricional. O enriquecimento nutricional da artemia, especialmente com fontes lipídicas e proteicas, visa atender às exigências específicas de peixes ornamentais durante suas fases iniciais de desenvolvimento. Embora estudos demonstrem que estratégias de enriquecimento lipídico podem melhorar seu valor nutricional (Lopalco et al., 2019), compreender os mecanismos metabólicos envolvidos na deposição desses nutrientes nos tecidos dos peixes é igualmente essencial.

Durante o processo de lipogênese de novo, os aminoácidos desempenham um papel fundamental como precursores na síntese de ácidos graxos.

Inicialmente, são desaminados, formando intermediários como piruvato e acetil-CoA, sendo este último convertido em malonil-CoA pela ação da acetil-CoA carboxilase. A síntese de ácidos graxos prossegue com a elongação promovida pela enzima ácido graxo sintase, utilizando unidades de malonil-CoA como substrato. Este processo ocorre predominantemente no fígado e é intensificado em situações de excesso de nutrientes, especialmente quando há abundância de aminoácidos e carboidratos na dieta (UNIPAR, 2023).

Além dos lipídios, o perfil de aminoácidos essenciais (AAEs) é um fator crítico na formulação de dietas para organismos aquáticos. Segundo meta-análise de Xing et al. (2023), há considerável variação nas exigências de AAEs entre espécies de peixes e crustáceos, sendo lisina, metionina+cistina e fenilalanina+tirosina alguns dos mais requeridos. Suprir adequadamente essas exigências é essencial para promover crescimento eficiente e reduzir impactos ambientais, como o excesso de excreção de nitrogênio.

Adicionalmente, fatores ambientais desempenham papel determinante no crescimento muscular de peixes teleósteos. Conforme Sánchez Roncancio et al. (2020), a miogênese é sensível a variáveis como temperatura, oxigenação e qualidade da água, que influenciam diretamente os processos de hiperplasia e hipertrofia muscular. Essas interações entre nutrição e ambiente são essenciais para otimizar o desempenho zootécnico e a qualidade estética dos peixes ornamentais, cujas características morfológicas são altamente valorizadas comercialmente.

Considerando a importância da nutrição na fase inicial do desenvolvimento do Acará Bandeira e o potencial do enriquecimento da *Artemia* sp. com “whey protein”, este estudo tem como objetivo avaliar os efeitos dessa suplementação sobre o crescimento e desenvolvimento muscular da espécie. A pesquisa será conduzida em ambiente laboratorial, permitindo o controle de variáveis ambientais e o monitoramento detalhado dos impactos dessa estratégia nutricional na qualidade do alimento vivo e no desempenho dos peixes. O

desenvolvimento de dietas inovadoras e sustentáveis é essencial para otimizar a produtividade da aquicultura ornamental e melhorar a qualidade dos peixes cultivados, beneficiando tanto o setor produtivo quanto a conservação de espécies aquáticas em seus habitats naturais.

## **2.Revisão bibliográfica**

### **2.1 O papel dos aminoácidos e ácidos graxos na nutrição de peixes**

A formulação de dietas balanceadas para peixes exige o conhecimento preciso das exigências nutricionais específicas das espécies, especialmente durante os estágios iniciais de desenvolvimento. Entre os nutrientes essenciais, os aminoácidos e os ácidos graxos se destacam por sua importância na promoção do crescimento, na eficiência alimentar e na sobrevivência dos peixes.

Os aminoácidos são unidades estruturais das proteínas e exercem diversas funções fisiológicas, como a síntese de tecido muscular, a formação de enzimas e hormônios, e a atuação no sistema imunológico dos peixes. São classificados como essenciais, quando não podem ser sintetizados pelo organismo, e não essenciais, quando o organismo consegue produzi-los em quantidade suficiente (Silva Liebl et al., 2021).

Estudos com peixes amazônicos, como o tambaqui (*Colossoma macropomum*), o pirarucu (*Arapaima gigas*) e o matrinxã (*Brycon amazonicus*), destacam a lisina, a metionina e a treonina como aminoácidos de maior exigência nutricional. A lisina, por exemplo, é fundamental para a deposição proteica e a produção de colágeno e carnitina, além de contribuir para a conversão alimentar e o rendimento de carcaça (Silva Liebl et al., 2021).

Em espécies marinhas como o cobia (*Rachycentron canadum*), observa-se uma alta taxa de utilização de aminoácidos, especialmente lisina, leucina e fenilalanina, durante os estágios embrionário e larval. Esses aminoácidos são mobilizados a partir do saco vitelino, sustentando o metabolismo e promovendo o crescimento nas fases iniciais (Huang et al., 2022).

Os ácidos graxos atuam como fonte de energia e componentes estruturais das membranas celulares. Durante o desenvolvimento larval, os peixes

dependem fortemente dos lipídios armazenados no vitelo, com destaque para os ácidos graxos poli-insaturados da série n-3 (PUFAs), como o ácido docosa-hexaenoico (DHA) e o ácido eicosapentaenoico (EPA) (Huang et al., 2022).

No caso do cobia, a proporção de DHA e EPA aumenta significativamente ao longo do desenvolvimento larval, evidenciando sua importância para a sobrevivência, o desenvolvimento neurológico e a integridade das membranas celulares. Por outro lado, os ácidos graxos saturados diminuem com o tempo, enquanto os PUFAs aumentam, indicando que a dieta ideal para larvas deve mimetizar a composição lipídica natural do vitelo (Huang et al., 2022).

## **2.2 Utilização de *Artemia sp.* como alimento vivo na larvicultura de peixes**

A larvicultura é uma das fases mais críticas da piscicultura, especialmente para espécies ornamentais, devido à imaturidade do sistema digestório das larvas e à sua baixa capacidade de utilizar dietas inertes (Campelo et al., 2019). Nesse contexto, o uso de alimento vivo como os náuplios de *Artemia sp.* torna-se fundamental para garantir o crescimento, a sobrevivência e o desenvolvimento adequado dos peixes.

Estudos com pós-larvas de acará-severo (*Heros severus*) demonstraram que o fornecimento de náuplios de artemia por um período de 10 dias, seguido por três dias de transição alimentar com dieta inerte, promoveu os melhores índices de desempenho produtivo, crescimento específico e desenvolvimento morfométrico (Campelo et al., 2019). A presença de enzimas digestivas naturais na artemia, bem como sua atratividade visual e química, contribui para uma maior ingestão e digestibilidade por parte das larvas, facilitando a transição para dietas secas (Campelo et al., 2019).

Além disso, a artemia possui a vantagem de ter seu valor nutricional modulado por meio da bioencapsulação. Um estudo realizado com tetras-serpa (*Hyphessobrycon eques*) alimentados com artemia enriquecida com spirulina demonstrou melhorias significativas na coloração e em parâmetros imunológicos, como a redução da atividade de protease, sugerindo aumento da

imunocompetência dos peixes (Wee et al., 2021). Os carotenoides presentes na spirulina, por exemplo, são transferidos eficientemente para os peixes por meio da artemia, favorecendo a pigmentação e possivelmente a atratividade comercial dos peixes ornamentais.

Portanto, a *Artemia sp.* destaca-se não apenas por sua alta digestibilidade e valor nutricional durante os estágios iniciais de vida, mas também como veículo eficiente para suplementações funcionais, contribuindo para a saúde, aparência e desempenho dos peixes cultivados.

### **2.3 Biologia, comportamento e condições ambientais de *Pterophyllum scalare***

O acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) é um peixe de água doce pertencente à família Cichlidae, nativo da bacia Amazônica e amplamente distribuído no Brasil, Peru, Colômbia e Guianas. Reconhecido por sua beleza e comportamento relativamente pacífico, tornou-se uma das espécies ornamentais mais populares no mercado mundial (Takahashi et al., 2010).

Em termos de biologia reprodutiva, *P. scalare* apresenta elevada fecundidade, com produção de até 1.082 ovos por fêmea de 50g, e altas taxas de sobrevivência embrionária, superiores a 96% em condições laboratoriais (Ortega-Salas et al., 2009). O crescimento larval é influenciado significativamente pela dieta, sendo os alimentos vivos, como náuplios de artemia e microcrustáceos, mais eficazes em promover maior crescimento e sobrevivência em comparação com dietas comerciais secas (Ortega-Salas et al., 2009; Takahashi et al., 2010).

O comportamento térmico de *P. scalare* também é bem caracterizado. Estudos indicam que a faixa de temperatura preferida por juvenis e adultos está entre 29,0°C e 31,1°C, sendo esta compatível com condições ideais para metabolismo, crescimento e reprodução (Pérez et al., 2003). O peixe demonstra capacidade de termorregulação comportamental, migrando para faixas térmicas favoráveis ao seu desempenho fisiológico. Ainda que tolerem temperaturas críticas de até 42,1°C (em adultos), é recomendada a manutenção de cultivos em



ambientes com temperatura estável, não excedendo 30°C, para evitar estresse térmico (Pérez et al., 2003).

Além disso, *P. scalare* adapta-se bem a diferentes sistemas de produção em cativeiro, incluindo sistemas fechados com controle ambiental. Parâmetros de qualidade da água, como pH entre 6,0 e 6,9 e temperatura entre 26,7°C e 29°C, são ideais para o cultivo da espécie, embora possam tolerar variações moderadas (Takahashi et al., 2010). O fornecimento de alimento adequado ao tamanho dos peixes e a composição nutricional balanceada das dietas são fatores cruciais para garantir o bem-estar e a uniformidade do lote, aspecto valorizado comercialmente (Takahashi et al., 2010).

#### **2.4 Nutrição e crescimento muscular em peixes**

O crescimento muscular dos peixes é determinado por dois principais processos celulares: a hiperplasia, que consiste na formação de novas fibras musculares, e a hipertrofia, caracterizada pelo aumento do diâmetro das fibras já existentes. A prevalência de cada um desses processos depende da fase de desenvolvimento do animal. Em espécies como o pirarucu (*Arapaima gigas*), de grande porte e crescimento indeterminado, a hiperplasia predomina nas fases iniciais, enquanto a hipertrofia se torna mais evidente na fase juvenil (Carani et al., 2008).

A musculatura branca, responsável por movimentos rápidos e intensos, compõe a maior parte da massa muscular dos peixes (cerca de 60%) e é a principal área de estudo nos trabalhos sobre crescimento (Carani et al., 2008). Observou-se que, em alevinos, predominam fibras de menor diâmetro (<30 µm), reflexo da intensa atividade hiperplásica. Já nos juvenis, ocorre o aumento do diâmetro das fibras (>30 µm), demonstrando o início da hipertrofia como mecanismo dominante, embora ambas as vias ainda estejam ativas.

A nutrição desempenha papel fundamental na estimulação da hiperplasia durante a fase de pós-larvas e alevinos, impactando diretamente no potencial de crescimento a longo prazo. Dietas ricas em proteína de alta digestibilidade,

aminoácidos essenciais e lipídios insaturados favorecem não apenas a deposição de proteína muscular, mas também o desenvolvimento adequado dos tecidos esqueléticos e o fortalecimento da imunidade (Castro, 2023).

No estágio de alimentação exógena, que ocorre logo após o esgotamento do saco vitelínico, as larvas ainda apresentam sistema digestivo imaturo, sendo essencial a oferta de alimentos de fácil digestão e alta qualidade nutricional. A falta de nutrientes adequados pode resultar em desenvolvimento muscular limitado ou até atrofia (Castro, 2023).

A utilização de dietas fareladas balanceadas tem se mostrado uma alternativa viável e eficaz em substituição parcial aos alimentos vivos, com vantagens como maior praticidade, menor risco sanitário e custo reduzido. Para ser eficazes, essas rações devem ter tamanho de partícula adequado à abertura bucal dos peixes, alta atratividade sensorial e ingredientes altamente biodisponíveis (Castro, 2023).

Estudos em diferentes espécies demonstram que a fase de pós-larva é crítica para a definição do potencial de crescimento. Por exemplo, em carpas e pacus, dietas ricas e equilibradas proporcionaram maiores taxas de recrutamento de fibras musculares (Alami-Durante et al., 1997; Leitão et al., 2009, apud Castro, 2023). Já dietas pobres em qualidade nutricional foram associadas a menor crescimento e alterações estruturais.

Além disso, a suplementação com aditivos como aminoácidos essenciais (ex: leucina, taurina), enzimas exógenas e prebióticos pode aumentar a eficiência digestiva e o aproveitamento dos nutrientes, refletindo em maior deposição muscular e menor mortalidade (Castro, 2023).

Portanto, a nutrição nas fases iniciais não só influencia a sobrevivência e o crescimento imediato, como também determina a qualidade do produto final, com implicações diretas no rendimento de filé e desempenho zootécnico durante todo o ciclo produtivo.

## OBJETIVO GERAL

Analisar a qualidade nutricional da suplementação proteica com ``whey protein`` isolado na *Artemia* sp. e o crescimento muscular do acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*)

## OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar a concentração ideal de ``whey protein`` isolado para o enriquecimento da *Artemia* sp.;
- Analisar os efeitos desse enriquecimento sobre a composição dos perfis de aminoácidos e ácidos graxos;
- Avaliar a sobrevivência da artemia sob diferentes concentrações de ``whey protein`` isolado;
- Investigar o crescimento dos peixes, incluindo peso, comprimento e proporções corporais, por meio de análises biométricas;
- Identificar alterações morfológicas relacionadas à hipertrofia e hiperplasia muscular.

## Referência Bibliográfica

- Campelo, D. A. V., Silva, I. C., Marques, M. H. C., Eiras, B. J. C. F., Brabo, M. F., Moura, L. B., & Veras, G. C. (2019). Estratégias alimentares na larvicultura do peixe ornamental amazônico acará-severo (*Heros severus*) (Heckel, 1840). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 71(5), 1601–1608. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-10705>
- Carani, F. R., Aguiar, D. H., Almeida, F. L. A., Gonçalves, H. S., Padovani, C. R., & Dal Pai Silva, M. (2008). Morfologia e crescimento do músculo estriado esquelético no pirarucu *Arapaima gigas* Cuvier, 1817 (Teleostei, Arapaimidae). *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 30(2), 205–211. <https://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciBiolSci/article/view/3640> (Acessado em 6 de maio de 2025) [Periódicos UEM](#)
- Castro, P. L. (2023). Nutrição para pós-larvas de peixes tropicais de água doce. *Polinutri Flash Fish*. Recuperado de <https://www.polinutri.com.br> (Acessado em 6 de maio de 2025)
- Chapman, F. A. (2000). Ornamental fish culture, freshwater. In R. R. Stickney (Ed.), *Encyclopedia of Aquaculture* (pp. 602–610). John Wiley & Sons.
- Huang, J., Li, R., Xie, R., Chen, Y., Zhang, J., Amenyogbe, E., & Chen, G. (2022). Changes in amino acid and fatty acid composition during early development in cobia (*Rachycentron canadum*). *Frontiers in Marine Science*, 9, 995616. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.995616>
- Lopalco, D. V., Di Pierro, M., Stabili, L., & Frascchetti, S. (2019). Nutritional enhancement of *Artemia salina*: Lipid enrichment strategies for aquaculture. *Aquaculture Research*, 50(4), 1103–1113.
- Luna, S. M., & Gómez, M. (2005). *Pterophyllum scalare* (Schultze, 1823). In R. Froese & D. Pauly (Eds.), *FishBase*. Recuperado de <http://www.fishbase.org> (Acessado em 6 de maio de 2025)
- Ortega-Salas, A. A., Cortés G., I., & Reyes-Bustamante, H. (2009). Fecundity, growth, and survival of the angelfish *Pterophyllum scalare* (Perciformes: Cichlidae) under laboratory conditions. *Revista de Biología Tropical*, 57(3), 741–747. Recuperado de [https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0034-77442009000300022&script=sci\\_abstract](https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0034-77442009000300022&script=sci_abstract) (Acessado em 6 de maio de 2025) [SciELO](#)

Pereira, T. G., Fonseca, F. D. C. P., Matos, J. P., & Dias, H. M. (2016). Crescimento de larvas de peixes ornamentais alimentadas com diferentes dietas e regime alimentar. *Boletim do Instituto de Pesca*, 42(1), 76–84.

Pérez, E., Díaz, F., & Espina, S. (2003). Thermoregulatory behavior and critical thermal limits of the angelfish *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein) (Pisces: Cichlidae). *Journal of Thermal Biology*, 28(6–7), 531–537. [https://doi.org/10.1016/S0306-4565\(03\)00055-X](https://doi.org/10.1016/S0306-4565(03)00055-X)

Sánchez Roncancio, C. O., da Silva Souza, J. G., & Arias Vigoya, A. A. (2020). Influência de fatores abióticos sob miogênese de peixes teleósteos. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 15(3), 41–50. <https://doi.org/10.21615/cesmvz.15.3.3>

Silva Liebl, A. R., Bussons, M. R. F. M., Pinto, E. A. S., Aride, P. H. R., & Oliveira, A. T. (2021). Exigência de aminoácidos nas dietas: uma necessidade para peixes amazônicos. In *Aquicultura na Amazônia* (Cap. 11, pp. 146–151). Atena Editora. <https://doi.org/10.22533/at.ed.04221150313>

Takahashi, L. S., Silva, T. V., Fernandes, J. B. K., Biller, J. D., & Sandre, L. C. G. (2010). Efeito do tipo de alimento no desempenho produtivo de juvenis de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*). *Boletim do Instituto de Pesca*, 36(1), 1–8. Recuperado de <https://www.dracena.unesp.br/Home/GruposdeEstudo/gaud/artigo-acara.pdf> (Acessado em 6 de maio de 2025) [Dracena UNESP](https://www.dracena.unesp.br/Home/GruposdeEstudo/gaud/artigo-acara.pdf)

UNIPAR. (2023). *Bioquímica Aplicada à Nutrição*. Universidade Paranaense – UNIPAR. Material didático.

Verified Market Reports. (2024). *Ornamental Fish Market Size And Forecast*. Recuperado de <https://www.verifiedmarketreports.com/> (Acessado em 6 de maio de 2025)

Wee, S., Loong, S., Ng, N. S. R., & Cabana, F. (2021). Artemia as a sustainably cultured live feed for ornamental fish in zoological institutions with immunostimulant properties when bioencapsulated with spirulina *Arthrospira platensis*. *Journal of Zoo and Aquarium Research*, 9(2), 110–114. <https://doi.org/10.19227/jzar.v9i2.546>

Xing, S., Liang, X., Zhang, X., Oliva-Teles, A., Peres, H., Li, M., Wang, H., Mai, K., Kaushik, S. J., & Xue, M. (2023). Essential amino acid requirements of fish and

crustaceans: A meta-analysis. *Reviews in Aquaculture*, 16, 1069–1086.  
<https://doi.org/10.1111/raq.12886>

## **CAPITULO 1**

**AVALIAÇÃO DO ENRIQUECIMENTO NUTRICIONAL DE *Artemia* sp. COM  
WHEY PROTEIN ISOLADO PARA APLICAÇÕES EM AQUICULTURA.**

## Resumo

A *Artemia* sp. é amplamente utilizada na aquicultura como alimento vivo devido à sua capacidade de bioencapsular nutrientes essenciais. No entanto, sua composição natural apresenta baixos níveis de aminoácidos essenciais e ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs), limitando seu valor nutricional. Este estudo avaliou o enriquecimento nutricional da artemia com ``whey protein`` isolado, investigando seus efeitos na composição bioquímica, no crescimento e na sobrevivência dos náuplios, com o objetivo de aprimorar seu perfil nutricional. Foram testadas quatro concentrações de ``whey protein`` (0,0 g; 0,1 g; 0,5 g; e 1,0 g) em dois tempos de exposição (12 e 24 horas), utilizando 500 náuplios por tratamento. A concentração de 0,5 g por 24 horas proporcionou a maior taxa de sobrevivência (58,80%) e crescimento médio (0,63 cm). A análise bioquímica demonstrou aumentos significativos nos níveis de aminoácidos essenciais, como lisina (399,72  $\mu$ M), tirosina (3.556,48  $\mu$ M) e isoleucina (2.277,35  $\mu$ M), além da melhora no perfil lipídico, com elevação dos níveis de ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados. Os resultados indicam que a adição de ``whey protein`` isolado diretamente na água é uma estratégia eficaz para enriquecer *Artemia* sp., contribuindo para a produção de alimento vivo de maior qualidade na aquicultura.

**Palavras-chave:** bioencapsulação, perfil lipídico, aminoácidos essenciais, crescimento, sobrevivência, nutrição aquática.



## 1.INTRODUÇÃO

A *Artemia* sp., é amplamente utilizada na larvicultura de peixes e crustáceos devido à sua elevada digestibilidade, facilidade de cultivo em laboratório e excelente valor nutricional. É especialmente recomendada como alimento inicial para larvas, contribuindo significativamente para o crescimento, sobrevivência e resistência ao estresse em diversas espécies de peixes. Em estudo com jundiá (*Rhamdia quelen*), a alimentação com artemia por 15 dias resultou em melhores índices de peso final, comprimento e sobrevivência das larvas, destacando seu papel essencial nos estágios iniciais da vida dos peixes (Diemer et al., 2012).

A eficácia da artemia como alimento vivo está diretamente relacionada à sua capacidade de ser enriquecida com diferentes compostos, como probióticos, prebióticos, lipídios, vitaminas e proteínas. Essa característica permite potencializar seu valor nutricional por meio da bioencapsulação, especialmente no que se refere ao fornecimento de aminoácidos essenciais e ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs), fundamentais para o desenvolvimento muscular, imunidade e integridade celular dos organismos aquáticos. Estudos demonstram que o enriquecimento da artemia com probióticos e prebióticos aumentou significativamente os teores de proteína (até 53,06%), lipídios (até 16,98%), além de proporcionar maiores concentrações de leucina, histidina, ácido linoleico e linolênico, em comparação ao controle (Hamsah et al., 2017).

Além de seu valor nutricional, a artemia também se destaca por suas extraordinárias adaptações biológicas. Trata-se de um microcrustáceo extremófilo, altamente especializado para sobreviver em ambientes hipersalinos, considerados inóspitos para a maioria das espécies. Entre suas principais adaptações está um sistema de osmorregulação extremamente eficiente, permitindo a sobrevivência em salinidades até 10 vezes maiores que a da água do mar. Diante de condições ambientais adversas, como a seca de lagos sazonais, as fêmeas são capazes de alternar o modo reprodutivo, produzindo cistos

altamente resistentes à dessecação e temperaturas extremas. Esses cistos funcionam como bancos genéticos, preservando a viabilidade da espécie por longos períodos (Gajardo & Beardmore, 2012).

Outros mecanismos fisiológicos incluem a produção de hemoglobinas com diferentes afinidades por oxigênio, que facilitam a respiração em ambientes com baixa concentração de oxigênio dissolvido, além da expressão de proteínas de choque térmico (Hsp70, p26), que protegem as estruturas celulares durante o estado de dormência dos cistos (Gajardo & Beardmore, 2012). Essas adaptações tornam a artemia um modelo ideal para estudos de estresse ambiental e evolução adaptativa, com relevância tanto ecológica quanto zootécnica (Roncancio et al., 2020).

Diante desse contexto, o presente estudo tem como objetivo avaliar a eficácia do enriquecimento nutricional da *Artemia* sp. com "*whey protein*" isolado, investigando seus impactos sobre a composição de aminoácidos do alimento vivo e os benefícios resultantes para larvas de peixes e crustáceos. O desenvolvimento de estratégias nutricionais inovadoras e sustentáveis é essencial para otimizar a produtividade da aquicultura e reduzir a dependência de fontes tradicionais de enriquecimento. Os resultados deste estudo poderão subsidiar melhorias nos protocolos de bioencapsulação, além de contribuir para o avanço do conhecimento científico sobre a interação entre nutrição e desempenho zootécnico em sistemas de cultivo de organismos aquáticos.

## **2. Materiais e Métodos**

### **2.1. Material Biológico e Condições de Cultivo**

Os cistos de *Artemia* sp. foram adquiridos da empresa Artêmia Salina do Rio Grande do Norte - Brasil e cultivados no Laboratório de Piscicultura Marinha do Instituto de Pesca, em Ubatuba-SP. Para a eclosão, preparou-se um recipiente com 2 litros de água salgada (salinidade 35, pH 8,3), proveniente da baía em frente ao Instituto de Pesca. Os cistos de *Artemia* sp. foram incubados em solução sob aeração constante, com temperatura controlada por banho-maria e

iluminação artificial durante 48 horas, seguindo protocolos estabelecidos na literatura (*Artemia salina* Dorn, 2025; Protocols.io, 2025). Após esse período, os náuplios eclodidos foram filtrados e transferidos para um tanque de vinil com capacidade de 2000 litros.

A estimativa da quantidade de náuplios foi baseada na taxa de eclosão dos cistos de artemia, que varia entre 70% e 85%, dependendo das condições de incubação (Corrêa et al., 2010; EMBRAPA, 2025). Considerando que foram utilizados 3 g de cistos e que a taxa de eclosão pode variar conforme a qualidade dos cistos e os parâmetros ambientais, a produção estimada foi de aproximadamente 465.000 náuplios. Essa densidade segue os parâmetros recomendados para larvicultura de organismos aquáticos, garantindo um suprimento adequado de alimento vivo.

O cultivo foi realizado nas seguintes condições: salinidade 35, pH 8,3, temperatura média de 26°C e fotoperíodo de 13 horas de luz combinadas com 11 horas de escuridão. Os organismos foram alimentados periodicamente com fermento e espirulina por 15 dias, até atingirem tamanho visível a olho nu.

Para avaliação do efeito do “*whey protein*” no enriquecimento nutricional da *Artemia* sp., foram utilizados 16 recipientes de vidro, cada um com capacidade para 2 litros, preenchidos com água salgada contendo salinidade 35 e pH de 8,3. Cada recipiente recebeu uma etiqueta identificando o tratamento e o tempo de exposição aplicados. O experimento consistiu em quatro tratamentos, com três ou quatro repetições cada: TC 0.0g sem adição de “*whey protein*”; T1 com 0,1 g de “*whey protein*”; T2 com 0,5 g de “*whey protein*”; e T3 com 1,0g de “*whey protein*”.

Os náuplios de *Artemia* sp. foram previamente contados, sendo transferidos 500 organismos para cada recipiente contendo a solução com o suplemento. Para garantir a homogeneidade da solução nutritiva, o “*whey protein*” foi dissolvido em água salgada sob aeração contínua. O processo de enriquecimento foi realizado nos períodos de 12 e 24 horas. A salinidade e o pH

da água foram mantidos em salinidade 35 e pH8,3, respectivamente, utilizando água da bacia local. A temperatura foi controlada entre 24°C e 27°C, enquanto o fotoperíodo foi ajustado para 13 horas de luz combinadas com 11 horas de escuridão, integrando iluminação natural e artificial. Além disso, a aeração foi mantida de forma contínua para assegurar a oxigenação adequada e promover o movimento dos organismos, criando condições ideais para o crescimento dos náuplios e minimizando a variabilidade externa.

Ao final dos períodos experimentais, os náuplios foram contados manualmente para calcular a taxa de sobrevivência. Aproximadamente 30 organismos de cada recipiente foram adicionados em uma placa de Petri contendo graduação em mm, sendo obtidas fotografias. As imagens foram analisadas no software LAS (Leica Application 3.7®), para analisar o comprimento total de cada artemia. Todos os dados obtidos foram organizados em planilhas do Microsoft Excel e posteriormente submetidos a análise estatística para verificar diferenças significativas entre os tratamentos, utilizando testes estatísticos apropriados para comparativo entre médias.

## **2.2 Análise da Composição Nutricional Aminoácidos e Ácidos Graxos**

A composição nutricional da *Artemia* sp. foi avaliada por meio da análise de aminoácidos e ácidos graxos. Na determinação dos aminoácidos, os organismos foram coletados, congelados e encaminhados ao Laboratório Multiusuário do Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Aquicultura do Instituto de Pesca., As amostras foram descongeladas, lavadas para remoção do excesso de sal, secas a 60°C por 48 horas para as análises. A composição de aminoácidos foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência HPLC, conforme protocolo adaptado de (Castro et al. 2009). Em 20mg de amostra, foram adicionados 5ml de água para trituração em Ultraturrax Dremel 3.000. Em 1ml deste extrato foram adicionados 0,5ml de enzima quitinase. A solução enzimática foi preparada diluindo-se 1 mg da enzima em 1 ml de tampão acetato de sódio 0,05mol/L e pH 6. O extrato foi então centrifugado por 10 minutos a 10.000 rpm.

Utilizou-se HPLC equipado com detector UV-visível (YL-9300; YL Instrument, Anyang, Korea) e temperatura da coluna (YL\_9100; YL Instrument, Anyang, Korea). Os dados foram obtidos por meio de uma coluna de fase reversa (LUNA 5u, RP-18, 250 cm × 4,6 mm; Phenomenex, Torrance, Ca, EUA), a 35°C. A separação foi feita na seguinte fase móvel: tampão acetato de sódio 10 mM em água MilliQ (A) e acetonitrila (B): 0–1min (20% B); 1,01–1,5min (5% B); 1,51–8min (4% B). A taxa de fluxo foi mantida constante em 1 mL/min e os picos foram detectados em 254nm e 340nm. O software utilizado foi o Clarity 8.1.

Aminoácidos como L-fenilalanina (Phe), L-tirosina (Tyr), L-valina (Val), L-metionina (Met), L-isoleucina (Ile), L-alanina (Ala), ácido L-aspártico (Asp), L-leucina (Leu), L-lisina (Lys), L-glutamina (Glu), L-arginina (Arg), L-triptofano (Trp), L-prolina (Pro), L-histidina (His), L-treonina (Thr), L-serina (Ser), L-cisteína (Cys) foram adquiridos da Sigma-Aldrich-Merck para serem utilizados como padrões de referência nas análises bioquímicas. A composição de ácidos graxos foi realizada no Departamento de Fisiologia do Instituto de Biociências da Universidade São Paulo – USP. A extração dos lipídeos totais da amostra foi realizada seguindo a metodologia de (Folch et al., 1972), utilizando uma mistura de clorofórmio: metanol: água (2:1:0,5).

Os extratos lipídicos foram metilados utilizando cloreto de acetila 5% de HCl em metanol (Christie et al., 2003) e a composição de AG foi analisada como metil ésteres utilizando cromatógrafo a gás Scion, modelo 436-GC equipado com um ionizador de chama (FID) e auto injetor. A coluna capilar utilizada para separar os AGs foi a CPWax 52 CB, 0.25µm de espessura, 0.25mm de diâmetro interno e 30m de comprimento. Foi utilizado o seguinte programa de temperatura: 170°C durante 1minuto, seguido de uma rampa de 2.5°C/min até alcançar 240°C, e um tempo de espera final de 5minutos, totalizando 31minutos de corrida. A temperatura foi de 250°C no injetor e 260°C no detector de ionização de chama (FID). Foram utilizados os padrões de metil ésteres (FAME – Supelco, 37 comp.; Mixtures, Me95, Me100, BR3 e BR4, Larodan) para identificar os AGs com base no tempo de retenção.

### 2.3 Análise estatística

Os dados coletados foram organizados em planilhas do Microsoft Excel e submetidos à análise estatística. Inicialmente, aplicou-se a ANOVA unidirecional para comparar as taxas de sobrevivência e os parâmetros de crescimento entre os diferentes tratamentos, adotando  $p < 0,05$  como nível de significância. Em seguida, o teste de Tukey foi utilizado para comparações múltiplas entre os grupos.

## 3. Resultados

### 3.1 Média e desvio padrão de Sobrevivência e crescimento entre os grupos de 12 e 24 horas

Na tabela 1, os resultados indicam que os tratamentos influenciam significativamente a sobrevivência e o crescimento dos organismos ao longo de 12 e 24 horas. O tratamento com 0,10 g/L apresenta as maiores taxas de sobrevivência após 24 horas ( $62,45 \pm 12,02$ ), seguido pelo tratamento com 0,50 g/L ( $58,80 \pm 9,76$ ), enquanto o tratamento com 1,00 g/L resulta nas menores taxas de sobrevivência em ambos os tempos avaliados. Em relação ao crescimento, o tratamento controle (0,0 g/L) apresenta o maior valor em 12 horas ( $0,56 \pm 0,103$ ), porém, após 24 horas, o maior crescimento é observado no tratamento com 0,10 g/L ( $0,52 \pm 0,092$ ). De maneira geral, os tratamentos com 0,10 g/L e 0,50 g/L demonstram melhor desempenho em termos de sobrevivência e crescimento ao longo do tempo experimental.

**Tabela 1. Análise de sobrevivência e crescimento nas diferentes concentrações de enriquecimento na *Artemia* sp em 12 e 24h de incubação**

Concentração g/L	Sobrevivência 12h	Sobrevivência 24h	Crescimento 12h	Crescimento 24h
0,0g	$19.25 \pm 4.43$ ab	$47.95 \pm 13.83$ ab	$0.56 \pm 0.103$ aA	$0.46 \pm 0.105$ bB
0,10g	$36.00 \pm 11.11$ a	$62.45 \pm 12.02$ a	$0.47 \pm 0.094$ cA	$0.52 \pm 0.092$ aB
0,50g	$41.75 \pm 18.95$ a	$58.80 \pm 9.76$ a	$0.52 \pm 0.103$ bA	$0.48 \pm 0.095$ abB
1,00g	$17.50 \pm 2.38$ b	$20.50 \pm 22.99$ b	$0.50 \pm 0.115$ bcA	$0.46 \pm 0.094$ bB

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Médias

seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas entre os tempos de enriquecimento (12h e 24h).

### **3.2 Perfil nutricional de *Artemia* sp. Pós enriquecimento**

#### **3.2.1 Perfil nutricional de aminoácidos em *Artemia* sp.**

A Tabela 2 apresenta os valores das concentrações de aminoácidos detectados na *Artemia* sp. após o enriquecimento com diferentes concentrações de *whey protein* por 12 e 24 horas. Embora não tenha sido possível aplicar testes estatísticos devido à ausência de repetições experimentais, os dados obtidos sugerem que a suplementação esteve associada a concentrações mais elevadas de diversos aminoácidos em comparação à *Artemia* sp. não suplementada (controle).

**Lisina (Lys):** Os níveis de lisina variaram de 22,06  $\mu\text{M}$  no controle (0,0 g - 12 h) até 399,72  $\mu\text{M}$  na concentração de 1,0 g - 24 h. Valores mais elevados foram observados em todos os tratamentos suplementados.

**Tirosina (Tyr):** Observou-se maior concentração de tirosina nos tratamentos com 0,5 g (3556,48  $\mu\text{M}$  - 12 h) e 1,0 g (2743,9  $\mu\text{M}$  - 24 h), em comparação ao controle (271,75  $\mu\text{M}$  - 12 h).

**Valina (Val):** A valina apresentou concentrações mais altas nos grupos com 0,5 g - 12 h (237,58  $\mu\text{M}$ ) e 1,0 g - 12 h (226,83  $\mu\text{M}$ ), em relação ao controle (113,3  $\mu\text{M}$  - 12 h).

**Isoleucina (Ile):** Os valores oscilaram entre 1448,82  $\mu\text{M}$  (controle - 12 h) e 2277,35  $\mu\text{M}$  (1,0 g - 12 h), com tendência de maiores concentrações nas artemias suplementadas.

**Cisteína (Cys):** Os valores aumentaram progressivamente com a suplementação, com destaque para 43,2  $\mu\text{M}$  (1,0 g - 24 h), frente a 17,56  $\mu\text{M}$  no controle (12 h).

**Triptofano (Trp):** As maiores concentrações foram observadas nos tratamentos suplementados, especialmente em 1,0 g - 12 h (786,91 nM), comparado ao controle (220,78 nM - 12 h).

**Fenilalanina (Phe):** Comportamento mais variável, com valores elevados em 0,1 g - 24 h (2630,82 nM) e 0,5 g - 12 h (2276,17 nM), mas com uma queda em 1,0 g - 24 h (664,08 nM).

**Tabela 2. Concentração de aminoácidos (AA) em artemias expostas a diferentes concentrações de ``whey protein`` por 12 ou 24 horas**

AA	0,0g 12h	0,0g 24h	0,1g 12h	0,1g 24h	0,5g 12h	0,5g 24h	1,0g 12h	1,0g 24h
Cys (uM)	17.56	32.42	26.92	36.45	38.49	34.53	37.04	43.2
Lys (uM)	22.06	246.08	233.59	282.26	341.08	338.34	376.86	399.72
Val (uM)	113.3	120.96	117.14	153.51	237.58	162.86	226.83	214.36
Tyr (uM)	271.75	785.6	534.51	911.39	3113.49	2694.94	3556.48	2743.9
Ile (uM)	1448.82	1606.57	1476.57	1630.07	2204.28	2199.27	2277.35	2087.45
Pro (uM)	43.18	69.55	64.87	71.1	81.47	82.35	89.92	85.01
Trp (nM)	220.78	433.66	397.14	477.65	492.12	492.12	786.91	676.37
Phe (nM)	2283.24	1687.57	1890.41	2630.82	2068.37	2068.37	2276.17	664.08

Cisteína - Cys, Lisina - Lys, Valina - Val, Tirosina - Tyr, Isoleucina - Ile, Prolina - Pro, Triptofano - Trp e Fenilalanina - Phe)



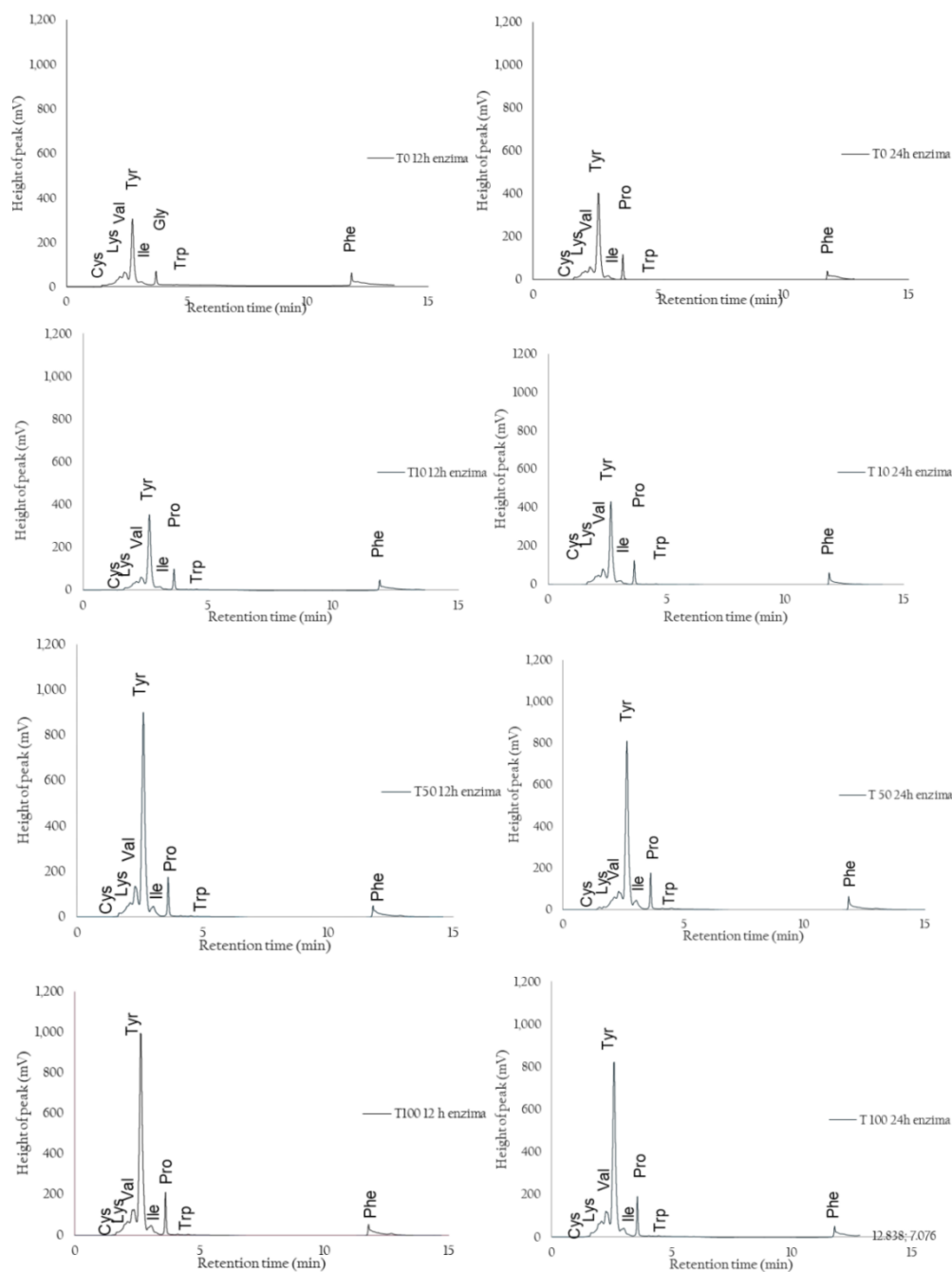


Figura 1. Cromatogramas de HPLC representando a detecção de aminoácidos em *Artemia salina* em diferentes tempos de exposição ao “*whey protein*”, Cisteína - Cys, Lisina - Lys, Valina - Val, Tirosina - Tyr, Isoleucina - Ile, Prolina - Pro, Triptofano - Trp e Fenilalanina - Phe).

Os cromatogramas de HPLC obtidos demonstram a composição de aminoácidos livres resultante da hidrólise enzimática da *Artemia* sp. enriquecida com “*whey protein*”. Foram analisadas diferentes concentrações enzimáticas (0,0g/L, 0,1g/L, 0,5g/L e 1,0g/L) em dois tempos de hidrólise (12h e 24h).

**0,0g/L (12h e 24h):** Como controle, este tratamento apresentou os menores picos de aminoácidos, indicando baixa ou nenhuma degradação proteica significativa. Pequenas quantidades de cisteína (Cys), lisina (Lys), valina (Val) e tirosina (Tyr) foram detectadas, com um leve aumento na intensidade dos picos após 24h.

**0,1g/L (12h e 24h):** O aumento da concentração enzimática resultou em maior liberação de aminoácidos, com destaque para tirosina (Tyr), prolina (Pro) e fenilalanina (Phe). A diferença entre 12h e 24h foi sutil, sugerindo que a hidrólise ocorreu majoritariamente nas primeiras 12h.

**0,5g/L (12h e 24h):** Neste tratamento, os picos de tirosina (Tyr) aumentaram expressivamente, indicando que a degradação proteica foi intensificada. Além disso, verificou-se maior concentração de triptofano (Trp) e isoleucina (Ile), reforçando a efetividade do tratamento. A variação entre 12h e 24h foi mínima, sugerindo um efeito mais acentuado nas primeiras horas da hidrólise.

**1,0g/L (12h e 24h):** A maior concentração enzimática promoveu a liberação máxima de aminoácidos, evidenciada pelos picos intensificados de tirosina (Tyr), lisina (Lys) e valina (Val). O tempo de retenção dos aminoácidos manteve-se constante, mas a intensidade dos picos em 1,0g foi significativamente superior em relação aos demais tratamentos. Assim como nos outros tratamentos, a diferença entre 12h e 24h foi pequena.

### 3.2.2 Perfil nutricional de ácidos graxos em *Artemia* sp.

A Tabela 3 apresenta o perfil dos ácidos graxos encontrados na *Artemia* sp. após o processo de enriquecimento com “whey protein” em diferentes concentrações e tempos. Assim como nos aminoácidos, não foi possível realizar testes estatísticos por falta de repetições; no entanto, os dados descritivos sugerem variações nos perfis lipídicos entre os grupos.

**SFA (ácidos graxos saturados):** O ácido láurico (C12:0) apresentou maior concentração na artemia controle (24,7 – 12 h), com valores decrescentes nos grupos suplementados, especialmente em 1,0 g – 12 h (2,3). Já o ácido esteárico (C18:0) mostrou-se mais elevado nas condições de 0,5 g – 24 h (11,6) e 1,0 g – 24 h (8,9), frente ao controle.

**MUFA (ácidos graxos monoinsaturados):** A concentração de C18:1n7 aumentou progressivamente nas condições suplementadas, com valor máximo em 0,5 g – 24 h (9,8). O C20:1n9 manteve-se em alta nos grupos suplementados, com destaque para 0,5 g – 24 h (45,0), em comparação ao controle (28,4 – 12 h).

**PUFA (ácidos graxos poli-insaturados):** O DHA (C22:6n3) foi mais prevalente no controle (3,1 – 12 h) e apresentou valores mais baixos nos grupos suplementados. Por outro lado, ácidos como o C20:2n6 e C22:4n6 apresentaram concentrações elevadas nos tratamentos com 0,5 g e 1,0 g, atingindo 20,2 em 1,0 g – 12 h para o C20:2n6. O ácido araquidônico (C20:4n6) foi detectado em níveis discretos e semelhantes entre os grupos.

**Tabela 3. Perfil de ácidos graxos (AG) em diferentes em artemias enriquecidas com “whey protein”.**

AG	0g 12h	0g 24h	0,10g 12h	0,10 24h	0,50 12h	0,50 24h	1,00 12h	1,00 24h
<b>SFA</b>								
C12:0	24.7	12.6	5.9	5.7	3.6	5.1	2.3	3.8
C18:0	5.8	10.8	7.2	7.8	7.9	11.6	7.9	8.9
C20:0	5.7	10	7.1	6.9	6.7	8.3	6.9	6.9
C24:0	-	0.4	-	-	-	-	-	-
<b>MUFA</b>								
C18:1n9	0.5	0.8	0.7	0.6	0.7	0.8	0.7	0.7
C18:1n7	5	6.8	7.7	8.5	8.6	9.8	7.6	9.2
C20:1n9	28.4	44.5	39.3	36.5	38.6	45	39.6	39.3
<b>PUFA</b>								
C18:3n3	10.2	7.1	3.9	3.7	2.3	2.2	1.6	1.5
C18:2n6	-	-	0.6	1.2	0.5	0.8	0.4	0.6
C18:2n6t	0.3	0.6	-	-	-	-	-	-
C18:3n6	1	1.8	1.6	2	1.5	4	1.4	1.7
C22:6n3	3.1	1	0.6	0.5	0.6	-	0.6	0.4
C20:2n6	8.4	2.8	12.5	12.5	18.1	10.1	20.2	19.2
C20:3n6	3.1	0.5	4.2	2.7	3.5	-	3.5	1.5
C20:4n6	0.7	-	0.8	1	0.7	-	1	0.7
C22:4n6	2.2	-	4	4.6	3.3	-	3.3	2.2

Os ácidos graxos estão agrupados em categorias: saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA) e poliinsaturados (PUFA). Valores mais altos indicam maior retenção do ácido graxo na *Artemia* sp. ao longo do tempo e do tratamento.

#### 4. Discussão

Os resultados obtidos no presente estudo sobre a aplicação de *Artemia* sp. enriquecida com “whey protein” isolado corroboram, em parte, com achados anteriores sobre os efeitos do tempo de enriquecimento nutricional. Conforme relatado por Maganhe & Sanches (2024), o período de 12 horas foi mais eficiente para alterar a composição bioquímica da artemia, promovendo incremento nos níveis de nutrientes essenciais. Contudo, os autores também indicam que a extensão do enriquecimento para 24 horas pode reduzir a quantidade de lipídios armazenados, sugerindo a existência de um tempo ótimo para absorção e retenção de nutrientes.

De forma semelhante, Joshua et al. (2022) destacam que o tempo ideal de enriquecimento depende do tipo de nutriente utilizado. O período entre 12 e 24 horas é amplamente empregado para elevar os níveis de ácidos graxos essenciais

e outros componentes. Em seu estudo, a artemia enriquecida por 12 horas com óleo de fígado de bacalhau, ácido ascórbico e gema de ovo apresentou concentrações mais elevadas de ácidos graxos individuais, em comparação com náuplios recém-eclodidos. A bioencapsulação por 24 horas com dietas comerciais ricas em lipídios e proteínas também gerou variações na composição lipídica final.

No presente estudo, a suplementação com “*whey protein*” influenciou a composição lipídica da *Artemia sp.*, promovendo alterações nos perfis de ácidos graxos saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA) e poli-insaturados (PUFA). Em relação aos SFA, o ácido esteárico (C18:0) apresentou maior concentração no tratamento controle (0,0 g / 24h) com 10,8%, enquanto os tratamentos enriquecidos apresentaram valores variáveis, como 11,6% (0,5 g / 24h) e 8,9% (1,0 g / 24h). Essa variação pode estar associada ao redirecionamento metabólico dos lipídios, implicando maior mobilização de triacilgliceróis (TAGs) para sustentar o metabolismo.

Durante o processo de **lipogênese de novo**, os aminoácidos desempenham um papel fundamental como precursores na síntese de ácidos graxos. Inicialmente, são desaminados, formando intermediários como piruvato e acetil-CoA, sendo este último convertido em malonil-CoA pela ação da acetil-CoA carboxilase. A síntese de ácidos graxos prossegue com a elongação promovida pela enzima ácido graxo sintase, utilizando unidades de malonil-CoA como substrato. Este processo ocorre predominantemente no fígado e é intensificado em situações de excesso de nutrientes, especialmente quando há abundância de aminoácidos e carboidratos na dieta (UNIPAR, 2023).

No perfil de MUFA, o ácido oleico (C18:1n9) apresentou valores relativamente homogêneos entre os tratamentos, com destaque para os grupos 0,5 g / 24h e controle 0,0 g / 24h (ambos com 0,8%). Já o ácido eicosenóico (C20:1n9) variou expressivamente, com o maior valor em 0,5 g / 24h (45%) e o menor em 0,0 g / 12h (28,4%). Tal variação pode estar associada à taxa de

incorporação e metabolização de aminoácidos durante os diferentes tempos de exposição.

A análise do aminograma revelou que a suplementação com *“whey protein”* resultou em concentrações elevadas de aminoácidos essenciais. A lisina atingiu 399,72  $\mu\text{M}$  em 1,0 g / 24h, enquanto a tirosina e a isoleucina alcançaram 3556,48  $\mu\text{M}$  e 2277,35  $\mu\text{M}$ , respectivamente. Esses valores superam os reportados por Sveshnikova et al. (2023) em cistos descapsulados de artemia, sugerindo que a absorção de aminoácidos exógenos altera significativamente o perfil bioquímico do organismo.

A valina, essencial para síntese proteica e crescimento celular (Lehninger et al., 2017), também apresentou aumento relevante, atingindo 237,58  $\mu\text{M}$  em 0,5 g / 12h e 226,83  $\mu\text{M}$  em 1,0 g / 12h. Comparado aos dados de García-Ortega et al. (2001), que descrevem concentrações mais baixas, os resultados sugerem que a adição de *“whey protein”* favorece a retenção desse aminoácido.

A fenilalanina variou entre 664,08 nM e 2630,82 nM, enquanto o triptofano atingiu 786,91 nM. A literatura aponta deficiência natural desses aminoácidos na artemia, reforçando o potencial da suplementação como forma de suprir tais lacunas (Sveshnikova et al., 2023).

Com relação às taxas de sobrevivência, os melhores índices foram registrados com 0,5 g de *“whey protein”*, com  $41,75 \pm 18,95\%$  (12h) e  $58,80 \pm 9,76\%$  (24h). O grupo 0,1 g também apresentou desempenho satisfatório. Já os grupos controle e 1,0 g apresentaram as menores taxas. Tais dados sugerem que concentrações intermediárias de *“whey protein”* são mais adequadas para o enriquecimento, evitando efeitos adversos associados ao excesso de proteína.

Dessa forma, a utilização de *“whey protein”* como suplemento para o enriquecimento de artemia representa uma alternativa nutricionalmente eficaz e potencialmente sustentável para a aquicultura. Entretanto, ajustes na concentração e no tempo de exposição são necessários para maximizar os

benefícios, o que reforça a importância de estudos adicionais com foco em bioeficiência e retenção de nutrientes.

## 5. Conclusão

A exposição de *Artemia sp.* ao “whey protein” isolado por 12 e 24 horas demonstrou potencial para modificar favoravelmente seu perfil bioquímico, promovendo alterações na composição de aminoácidos e lipídios. O enriquecimento com esse suplemento proteico representa uma alternativa promissora para aprimorar o valor nutricional da *Artemia sp.*, tornando-a um alimento vivo mais balanceado e funcional na aquicultura. A adoção de estratégias de suplementação como essa pode contribuir para a eficiência alimentar e o desempenho zootécnico de organismos cultivados. Nesse contexto, os resultados obtidos reforçam a relevância de estudos futuros voltados à otimização das concentrações e tempos de enriquecimento, visando à aplicação prática dessa técnica em sistemas produtivos.

## 6. Agradecimentos

Agradecemos ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo apoio financeiro recebido por meio da concessão da bolsa PIBG Mestrado, sob o número do processo de concessão 422390/2023-7.

## 7. Referências

Benetti, D. D., et al. (2010). O cultivo de bijupirá em sistemas intensivos. *Aquaculture Research*, 41(5), 613–630.

Boyd, C. E. (2015). *Water quality: An introduction* (2ª ed.). Springer.

Calbet, A., et al. (2014). *Artemia salina* as a tool for assessing environmental toxicity in coastal ecosystems. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 33(6), 1299–1308. <https://doi.org/10.1002/etc.2557>

Carvalho, R. M., Almeida, T. S., & Martins, F. A. (2019). Efeito da suplementação de *Artemia salina* com proteínas hidrolisadas na composição de aminoácidos e desempenho larval. *Aquaculture Research Journal*. (Verificar se há DOI ou link disponível)

Castro, A. H., Guinea, F., Peres, N. M. R., Novoselov, K. S., & Geim, A. K. (2009). The electronic properties of graphene. *Reviews of Modern Physics*, 81(1), 109–162. <https://doi.org/10.1103/RevModPhys.81.109>

Cheban, L., Khudiy, O., Prusińska, M., et al. (2020). Survival, proximate composition, and proteolytic activity of *Artemia salina* bioencapsulated with different algal monocultures. *Fisheries & Aquatic Life*, 28, 205–215. <https://doi.org/10.2478/aopf-2020-0023>

Christie, W. W. (2003). *Lipid analysis: Isolation, separation, identification and structural analysis of lipids*. The Oily Press.

Cohen, J. (1988). *Statistical power analysis for the behavioral sciences* (2<sup>a</sup> ed.). Lawrence Erlbaum Associates.

Conceição, L. E. C., Yufera, M., Makridis, P., et al. (2010). Live feeds for early stages of fish rearing. *Aquaculture Research*, 41(5), 613–630. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02334.x>

Corrêa, C. F., Silva, J. C., & Santos, M. L. (2010). Estimativa da eclosão e biomassa total no cultivo de *Artemia* sp. (Crustacea, Branchiopoda, Anostraca) submetida a diferentes dietas. *Pubvet*, 4(23), 1–8.

Dhont, J., & Van Stappen, G. (2003). Basic and applied aspects of artemia research. *Advances in Limnology*, 58, 61–96.

Duarte, C., et al. (2019). Nutritional value of *Artemia salina* as live feed for marine fish larvae: A review. *Aquaculture Research*, 50(3), 847–863. <https://doi.org/10.1111/are.13960>

El-Dahhar, A. A., Rashwan, R. S., El-Zaeem, S. Y., et al. (2024). Evaluation of the nutritional value of *Artemia* nauplii for European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.) larvae. *Aquaculture and Fisheries*, 9, 78–84. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2023.09.005>

EMBRAPA. (2025). *Produção e manejo de Artemia salina para alimentação de larvas*. Recuperado de <https://www.embrapa.br>



FAO. (2020). *Sustainable aquaculture guidelines*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Furquim, K. C., Melo, A. P., & Costa, R. T. (1997). Enriquecimento de alimentos vivos para alimentação de larvas de organismos marinhos: Uma breve revisão. *Boletim do Instituto de Pesca*. Recuperado de <https://www.bvs-vet.org.br>

García, L., et al. (2020). Sustainability of artemia production for aquaculture: Opportunities and challenges. *Aquaculture Environment Interactions*, 12(2), 127–139. <https://doi.org/10.3354/aei00364>

García-Ortega, A., Huisman, E. A., Sorgeloos, P., & Verreth, J. (2001). Evaluation of protein quality in microbound starter diets made with decapsulated cysts of artemia and fishmeal for fish larvae. *Journal of the World Aquaculture Society*, 32(3), 317–327. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2001.tb00459.x>

García-Ulloa, J., Rodríguez, M. A., & Mora, C. V. (2013). Effects of supplementation of artemia with different enriched diets on the nutritional quality of artemia and the survival of marine fish larvae. *Aquaculture Nutrition*, 19(6), 1059–1067. <https://doi.org/10.1111/anu.12031>

Golubev, A. S., Khrapalova, I. N., Boiko, N. E., Kozhevnikova, L. A., & Khrapalov, A. V. (2008). The mechanism of transformation of life history parameters in artemia populations under changes in salinity. *Russian Journal of Ecology*, 39(1), 26–31. <https://doi.org/10.1134/S106741360801004X>

Gomes, J., Vilela, C. L., Bexiga, R., et al. (2007). Fish antibiotherapy: Bioencapsulation of flumequine using adult brine shrimp (*Artemia salina*). *Aquaculture Research*, 38(6), 613–617. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01703.x>

Hamre, K., et al. (2013). Fish larval nutrition and feed formulation: Past, present and future. *Aquaculture*, 414–415, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.08.037>

Herawati, V. E., Hutabarat, J., & Radjasa, O. K. (2014). Nutritional content of *Artemia* sp. fed with *Chaetoceros calcitrans* and *Skeletonema costatum*. *Hayati Journal of Biosciences*, 21, 166–172. <https://doi.org/10.4308/hjb.21.4.166>

Hoff, F. H., & Snell, T. W. (1999). Plankton culture manual (5<sup>a</sup> ed.). Florida Aqua Farms Inc.

Joshua, W. J., Kamarudin, M. S., Ikhsan, N., et al. (2022). Development of enriched *Artemia* and *Moina* in larviculture of fish and crustaceans: A review. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 50, 144–157. <https://doi.org/10.3856/vol50-issue1-fulltext-2807>

Kamaszewski, M., Kolman, R., Glogowski, J., et al. (2014). Effects of *Artemia* sp. enrichment with essential fatty acids on functional properties of digestive enzymes in larval sterlet *Acipenser ruthenus*. *Aquaculture*, 418–419, 170–176. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.10.046>

Sargent, J. R., Tocher, D. R., & Bell, J. G. (1999). Development and nutrition of marine fish larvae. *Aquaculture*, 179(1–4), 217–229. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00191-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00191-X)

Sorgeloos, P., Bengtson, D. A., Deckers, P., & Jaspers, E. (1980). International study on *Artemia* – XLI. *Journal of the World Aquaculture Society*, 11(1–4), 135–140. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1980.tb00032.x>

Tocher, D. R. (2010). Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. *Aquaculture Research*, 41(5), 717–732. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02150.x>

## **CAPÍTULO 2**

### **ENRIQUECIMENTO DE *Artemia* sp. COM WHEY PROTEIN ISOLADO: IMPACTOS NA NUTRIÇÃO E CRESCIMENTO DO ACARÁ-BANDEIRA**

**Resumo:**

Este estudo avaliou os efeitos da alimentação com *Artemia sp.* enriquecida com ``whey protein`` isolado sobre o crescimento e a morfologia muscular do Acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*). Os resultados demonstraram diferenças estatisticamente significativas entre o grupo controle e o grupo experimental. Os peixes alimentados com artemia enriquecida apresentaram maior comprimento padrão ( $23,61 \pm 0,99$  mm) em comparação ao grupo controle ( $19,17 \pm 1,40$  mm), além de maior peso corporal ( $0,23 \pm 0,03$  g contra  $0,16 \pm 0,02$  g), com  $p < 0,05$ . Também foi observada hipertrofia muscular significativa nos peixes do grupo tratado, com média da área muscular dorsal de  $4,08 \pm 0,33$  mm<sup>2</sup>, superior à do grupo controle ( $3,05 \pm 0,26$  mm<sup>2</sup>), com  $p < 0,05$ . Os resultados indicam que a suplementação com ``whey protein`` isolado melhora significativamente o desenvolvimento somático e muscular dos peixes, sendo uma alternativa promissora para a aquicultura ornamental.

**Palavras-chave:** *Pterophyllum scalare*, crescimento, ``whey protein`` isolado, artemia enriquecida, aquicultura ornamental, músculo, suplementação proteica.

## 1.Introdução

A produção de peixes ornamentais em cativeiro no Brasil tem evoluído gradualmente, impulsionada pela crescente demanda por espécies de alta qualidade no mercado nacional e internacional. Apesar da grande diversidade de espécies nativas e das condições climáticas favoráveis, o país ainda explora pouco seu potencial nesse setor. Um dos marcos históricos da aquicultura ornamental no Brasil foi a introdução de espécies asiáticas por imigrantes japoneses em 1926, seguido do crescimento da atividade comercial nas décadas seguintes, especialmente na região Sudeste. No entanto, o setor ainda enfrenta entraves como a falta de regulamentações claras, baixa disponibilidade de linhas de crédito específicas e carência de dados estatísticos atualizados. Mesmo assim, o Brasil se destaca como um celeiro de espécies nativas valorizadas internacionalmente, como o acará-disco (*Symphysodon* spp.) e o acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*), que possuem grande potencial para cultivo comercial em sistemas controlados (Rezende & Fujimoto, 2021).

O *Pterophyllum scalare*, também conhecido como acará-bandeira, pertence à família Cichlidae e destaca-se no mercado de peixes ornamentais devido à sua beleza e comportamento reprodutivo interessante. A espécie apresenta dimorfismo sexual sutil, reprodução ovípara e cuidado parental biparental. Em estudos reprodutivos realizados com a indução hormonal por Ovaprim (sGnRH + domperidona), observou-se resposta eficaz na dose de 0,35 mL/kg de peso corporal, com elevadas taxas de fecundidade e fertilização, além de tempo de resposta reduzido (Paul et al., 2023).

Para o cultivo eficiente do *Pterophyllum scalare*, é essencial manter condições ambientais estáveis e adequadas. Os parâmetros físico-químicos ideais incluem temperatura em torno de 27 °C, pH entre 6,8 e 7,0, e oxigênio dissolvido entre 7,7 e 8,0 mg/L. A manutenção do fotoperíodo natural e o uso de sistemas de aeração contínua contribuem significativamente para o bem-estar dos peixes.

Além disso, práticas como a limpeza regular dos tanques e o controle da densidade populacional são fundamentais para evitar o estresse e a proliferação de doenças (Paul et al., 2023).

A nutrição do Acará-bandeira deve ser ajustada conforme as fases do seu desenvolvimento e seu hábito alimentar onívoro. Durante a fase reprodutiva, a alimentação com *Artemia* sp. e rações comerciais específicas para ciclídeos mostra-se eficaz. A formulação das rações deve considerar a inclusão de aminoácidos essenciais, como lisina, metionina e treonina, que participam diretamente na síntese proteica e no crescimento muscular (Liebl et al., 2021).

Além dos aminoácidos, os ácidos graxos poliinsaturados das séries ômega-3 e ômega-6 são fundamentais. Embora peixes de água doce, como o Acará-bandeira, apresentem maior capacidade de alongar e dessaturar ácidos graxos de cadeia curta, a inclusão de fontes lipídicas como óleo de linhaça e canola tem sido estudada como alternativa sustentável ao óleo de peixe marinho. Essa estratégia visa melhorar o perfil lipídico do peixe e, ao mesmo tempo, contribuir para a saúde humana com produtos finais mais nutritivos (Souza et al., 2007).

A qualidade das rações utilizadas influencia diretamente a digestibilidade, a palatabilidade e a estabilidade na água. Rações extrusadas, por exemplo, são preferidas por apresentarem boa flutuabilidade, maior digestibilidade e menor perda de nutrientes por lixiviação, o que contribui para a eficiência do cultivo (Rodrigues et al., 2014).

A hipótese deste estudo é que a *Artemia* sp. enriquecida com “whey protein” isolado, em diferentes concentrações, apresenta potencial para promover melhorias significativas no crescimento muscular do acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*), sendo possível identificar uma concentração ideal que maximize o desempenho produtivo da espécie em cativeiro. Ao buscar compreender o impacto dessa suplementação na espécie, o projeto contribui para o desenvolvimento de práticas nutricionais mais eficazes e sustentáveis na

aquicultura ornamental, com potencial para melhorar a qualidade e o desempenho produtivo dos peixes cultivados em ambiente controlado.

## **2. Material e métodos**

### **2.1 Obtenção de dados**

O experimento foi conduzido no Núcleo Regional de Pesquisa do Litoral Norte do Instituto de Pesca, no Laboratório de Piscicultura Marinha, localizado em Ubatuba, São Paulo. A manutenção dos exemplares e todas as práticas experimentais foram realizadas com a devida aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais do Instituto de Pesca, sob o número de controle CEUA-IP 022/24.

Foram coletados dados biométricos de 400 exemplares de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*), todos nascidos e criados na própria instituição até a finalização do projeto. Esses animais foram submetidos à análise histológica com o objetivo de validar a metodologia proposta.

A reprodução dos animais foi realizada por meio da formação de três casais de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*, Schultze, 1823), mantidos em aquários de 60 × 30 × 45 cm, com capacidade para 80 litros. Os reprodutores foram alimentados duas vezes ao dia com náuplios de *Artemia sp.* e ração comercial, de modo a garantir um aporte nutricional adequado ao sucesso da reprodução e ao cuidado parental. Os casais foram mantidos em aquários individuais, equipados com sistema de suporte à vida dimensionado para assegurar condições ideais de manutenção da espécie. Os parâmetros ambientais foram monitorados regularmente, com pH entre 6,0 e 6,5 e temperatura variando entre 25 °C e 27 °C. O sistema contava com filtragem mecânica e trocas parciais de 20% do volume de água a cada 15 dias.

O experimento principal foi conduzido com os 400 exemplares juvenis de acará-bandeira, distribuídos em 16 aquários de vidro com dimensões de 40 × 40 × 40 cm, cada um com capacidade para 42 litros. Inicialmente, cada aquário recebeu 20 indivíduos, o que resultou em uma densidade de estocagem de 0,625

peixe/L. No entanto, em função do índice de mortalidade observado durante o período de aclimação, a densidade foi ajustada para cinco peixes por aquário no início do experimento.

Parte dos animais foi anestesiada com uma solução composta por 1,5 mL de água e 0,15 mL de eugenol puro (totalizando 1,65 mL), sendo posteriormente eutanasiada. Após o procedimento, os peixes foram fotografados e fixados em solução tampão de formol a 10% para análise histológica da musculatura dorsal.

Os aquários foram devidamente etiquetados e organizados aleatoriamente por meio do delineamento inteiramente ao acaso, compondo quatro grupos experimentais com quatro repetições cada. Os tratamentos consistiram na aplicação de diferentes concentrações de “*whey protein*” na alimentação das *Artemia sp.* utilizadas como dieta para os peixes: TC (controle, 0,0 g), T1 (0,1 g), T2 (0,5 g) e T3 (1,0 g) por aquário. O objetivo foi avaliar os efeitos da suplementação proteica sobre o crescimento muscular dos animais mantidos em ambiente controlado.

## **2.2 Detalhamento da preparação experimental: tratamentos e condições iniciais**

### **2.2.1 Reprodução do acará-bandeira**

A reprodução das matrizes de Acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) foi iniciada com a formação de casais em um ambiente especialmente projetado para atender às exigências biológicas da espécie. Foram utilizados 12 exemplares alocados em um tanque de 200 litros (100 × 40 × 50 cm), equipado com sistema de suporte à vida que incluía dois filtros de esponja para garantir filtração mecânica e biológica. Os parâmetros físico-químicos da água foram cuidadosamente monitorados e ajustados semanalmente, mantendo-se o pH entre 6,0 e 6,5 e a temperatura entre 25 °C e 27 °C. Trocas parciais de 20% da água eram realizadas a cada 15 dias, e a alimentação dos peixes consistia em ração comercial de alta qualidade, oferecida duas vezes ao dia, complementada com



náuplios de *Artemia* sp. e artemia adulta para garantir um suporte nutricional adequado à reprodução.

Durante a formação de casais, os acarás-bandeiras exibiram comportamentos sociais característicos, como interações de dominância e a escolha de parceiros específicos. A presença de esconderijos, superfícies adequadas para a desova (como pedras e folhas grandes) e a estabilidade dos parâmetros ambientais foram fatores determinantes para o sucesso reprodutivo. Destacaram-se comportamentos como a defesa territorial, intensificação da coloração dos machos – sinalizando prontidão reprodutiva – e a natação sincronizada dos casais, o que reforçava o vínculo entre os parceiros e facilitava a escolha do local ideal para a desova. Após a formação dos casais, os peixes foram realocados individualmente, um casal por aquário, para reduzir a competição, minimizar o estresse e melhorar as condições para o comportamento reprodutivo. A alimentação foi intensificada, com oferta de *Artemia* sp. em diferentes estágios duas vezes ao dia, estimulando a desova e contribuindo para a qualidade dos ovos.

Cerca de 25 dias após a formação dos casais, foi observada a desova sobre superfícies planas, seguida por um comportamento biparental essencial para o sucesso da reprodução. Os pais defenderam ativamente o território, protegendo os ovos contra ameaças externas. Após a eclosão, os alevinos permaneceram aderidos ao substrato sob constante vigilância dos progenitores. No quinto dia, os filhotes se tornaram livres-nadantes, sendo guiados pelos pais para áreas seguras. Durante essa fase inicial, a alimentação com náuplios de *Artemia* sp. foi mantida, assegurando o desenvolvimento adequado e o suprimento das necessidades nutricionais dos alevinos.

### **2.2.2 Preparação do aquário e da água**

Ao início do protocolo de experimentação, foi realizada a preparação do aquário onde o experimento seria conduzido. Foram dispostos 16 aquários de 40x40x40 cm com volume de 42 L cada, abastecidos com água corrente, que

passou por um processo de maturação. Essa etapa é essencial para permitir a dissipação de cloro em sistemas que utilizam água tratada, ajustar naturalmente o pH e a temperatura, e para o desenvolvimento de colônias de bactérias benéficas como *Nitrosomonas* e *Nitrobacter*. Estas bactérias são responsáveis por converter amônia em nitrito e depois em nitrato, reduzindo compostos tóxicos na água e contribuindo para a qualidade ambiental. Durante o período de 15 dias, o processo de maturação contou com aeração constante, o que foi fundamental para a saúde dos peixes e para o crescimento das bactérias nitrificantes. Após esse período, foi instalado um filtro de esponja, que proporcionou a filtração mecânica e biológica do sistema.

Além disso, para enriquecer a qualidade da água, foram coletadas folhas de amendoeira *Terminalia catappa* e colocadas dentro dos aquários. As folhas de amendoeira desempenham um papel importante na liberação de taninos, compostos fenólicos que ajudam a reduzir o pH da água, tornando-a ligeiramente ácida, o que é útil para manter a água em faixas de pH mais baixas, ideal para espécies ornamentais. Além disso, os taninos possuem propriedades antimicrobianas e antifúngicas, ajudando a prevenir infecções causadas por bactérias e fungos nos peixes. Essas propriedades também atuam como antioxidantes, o que pode reduzir o estresse oxidativo nos organismos aquáticos.

A qualidade da água foi monitorada utilizando o peixe espadinha vermelho *Xiphophorus helleri* como organismo-teste. Essa espécie é amplamente reconhecida pela sua sensibilidade a variações nos parâmetros físico-químicos da água, sendo uma ferramenta eficiente para o monitoramento da qualidade ambiental dos sistemas experimentais. A seleção dos aquários experimentais foram feitos a partir do método de seleção por randomização, esse processo assegura que os tratamentos sejam alocados aleatoriamente aos tanques, sem qualquer influência de fatores externos, permitindo uma avaliação mais precisa dos efeitos dos tratamentos sobre os organismos. As distribuições dos tanques ficaram com as seguintes identificações:

TC- Tratamento com 0.0g de ``Whey protein``

T1- Tratamento com 0.1g de ``Whey protein``

T2- Tratamento com 0.5g de ``Whey protein``

T3- Tratamento com 1.0g de ``Whey protein``

A randomização foi realizada utilizando um sistema de sorteio, no qual os tanques foram numerados e os tratamentos atribuídos de maneira aleatória a cada tanque. Esse processo teve como objetivo garantir que todos os tanques tivessem a mesma probabilidade de receber qualquer um dos tratamentos, assegurando que os resultados do experimento fossem livres de viés e influenciados apenas pelas variáveis experimentais. Para evitar interferências externas, todos os aquários foram configurados com parâmetros ambientais uniformes, incluindo pH, temperatura, oxigênio dissolvido e taxa de troca parcial de água (TPA). Esses parâmetros foram rigorosamente monitorados ao longo do experimento: o pH foi aferido com medidor digital semanalmente; a temperatura da água foi mantida constante com auxílio de termostatos, sendo verificada diariamente com termômetro de precisão; os níveis de oxigênio dissolvido foram medidos duas vezes por semana com oxímetro digital; e a TPA foi padronizada em 20% a cada 15 dias. Com esse controle rigoroso, garantiu-se a estabilidade do ambiente experimental, permitindo que quaisquer diferenças observadas entre os grupos fossem atribuídas exclusivamente aos tratamentos aplicados.

### **2.2.3 Aclimação dos peixes na unidade experimental**

Após o período de preparação do aquário e da água, os peixes foram transferidos para a unidade experimental. Durante essa transferência, foi realizado um controle térmico, com a finalidade de permitir que a temperatura da água se ajustasse naturalmente, o que ajudou a reduzir o impacto da mudança do ambiente e minimizar o estresse dos animais, evitando o choque térmico e a mortalidade. A transferência dos alevinos foi realizada com o esgotamento parcial da água, retirando as matrizes e realizando a coleta dos alevinos por meio de um tubo flexível, que direcionou os indivíduos para um tanque de PVC com a própria água do sistema de origem. Os alevinos de Acará-Bandeira foram distribuídos de forma aleatória nas unidades experimentais,

garantindo que não houvesse viés na composição dos tratamentos. Isso foi feito para intensificar o objetivo da pesquisa, que é identificar diferenças nos tratamentos sem levar em conta características individuais dos alevinos.

Para garantir o sucesso do delineamento experimental, foi adotada a estratégia de compensação de mortalidade, prevista desde a submissão ao Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA). Embora o delineamento experimental tenha sido padronizado para a utilização de 320 exemplares, foi aprovada a utilização de até 400 peixes, prevendo perdas ao longo do experimento. Dessa forma, ao início do ensaio, foram inseridos 25 peixes por unidade experimental, sendo que o número final necessário era de 20 indivíduos por unidade. Essa abordagem visou compensar eventuais perdas relacionadas ao estresse de manejo, mortalidade durante o período de aclimação e outras intercorrências, assegurando que, mesmo com essas perdas, o número de organismos em cada unidade experimental estivesse de acordo com o delineamento estabelecido.

Além disso, para evitar que diferenças individuais entre os peixes ou variações ambientais interferissem nos resultados, foram implementados rigorosos processos de padronização e controle experimental. Todos os peixes passaram por um período de aclimação sob condições ambientais controladas e uniformes. A distribuição dos animais nos tratamentos foi realizada de forma aleatória, garantindo homogeneidade inicial entre os grupos experimentais. O experimento foi conduzido com réplicas para cada tratamento, o que permitiu diluir possíveis efeitos de variações individuais ou ambientais, fortalecendo a confiabilidade e a robustez dos dados obtidos.

### **2.3 Enriquecimento de *Artemia* sp. para dieta de acará-bandeira**

O enriquecimento de *Artemia* sp., utilizado como alimento vivo, foi implementado como método para avaliar o impacto do “whey protein” no crescimento muscular do acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*, Schutze 1823). A escolha deste organismo baseia-se em sua elevada biodisponibilidade de

nutrientes e eficiência como veículo para a entrega de suplementos proteicos aos peixes. Essa abordagem permite a introdução direta do “*whey protein*” na dieta experimental, assegurando que as concentrações testadas sejam efetivamente assimiladas pelos indivíduos. Essa etapa experimental é fundamental para conectar as intervenções nutricionais aos desfechos analisados, viabilizando a mensuração da eficácia da suplementação proteica por meio de análises biométricas peso, comprimento e morfometria e histológicas hipertrofia e hiperplasia das fibras musculares. O enriquecimento da artemia com “*whey protein*” garante uniformidade na oferta de nutrientes aos grupos experimentais, permitindo uma avaliação precisa das respostas fisiológicas relacionadas ao crescimento e desenvolvimento muscular.

Foi estipulado que os alevinos de Acará-bandeira seriam alimentados com organismos vivos do gênero *Artemia* sp., enriquecidos com diferentes dosagens de “*whey protein*” proteína do soro do leite. O objetivo foi avaliar os efeitos de diferentes concentrações do suplemento, permitindo a observação das peculiaridades de cada tratamento, conforme demonstrado na Figura 1. A oferta desses organismos ocorreu duas vezes ao dia, às 8:00 e 14:00h, ao longo de um período experimental de 60 dias. A quantidade fornecida foi de 200 *Artemia* sp. por aquário, medida com o auxílio de um recipiente padronizado para garantir a uniformidade da alimentação entre os tratamentos.

**TC-0.0g Sem Enriquecimento:** A artemia é um alimento vivo amplamente utilizado para peixes ornamentais devido ao seu perfil de nutrientes, contendo aminoácidos essenciais e alguns ácidos graxos. No entanto, sem enriquecimento, a artemia pode ter níveis limitados de certos ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs) e outros nutrientes necessários para otimizar o crescimento e a reprodução, este tratamento serve como controle para comparar os efeitos do “*whey protein*” como suplementação proteica adicional.

**T1-0.1g de “Whey Protein”:** Uma dose baixa de “*whey protein*” (0,1g) adicionada à dieta visa fornecer proteínas de alta qualidade com um perfil completo de aminoácidos essenciais. O “*whey protein*” é rapidamente digerido e

absorvido, fornecendo aminoácidos para síntese proteica e auxiliando no crescimento e na manutenção de tecidos. Esta pequena quantidade pode beneficiar o metabolismo proteico, oferecendo uma base para observar possíveis efeitos positivos sem causar sobrecarga no metabolismo do peixe.

**T2-0,5g de ``Whey Protein``:** Um nível intermediário de suplementação com 0,5g de ``whey protein`` busca avaliar se doses maiores podem resultar em um crescimento mais acentuado, sustentando a hipertrofia e a hiperplasia dos tecidos musculares. Esta quantidade pode aumentar a síntese proteica e melhorar a resistência e o desenvolvimento muscular dos alevinos, proporcionando nutrientes adicionais que a artemia isoladamente pode não oferecer.

**T3-1,0g de ``Whey Protein``:** A dose mais alta (1,0g) explora o limite superior da suplementação para entender se há benefícios adicionais no crescimento ou se surgem efeitos negativos, como acúmulo excessivo de resíduos nitrogenados devido ao metabolismo da proteína. Estudos mostram que altos níveis de proteína podem favorecer o crescimento muscular, mas também podem exigir um sistema de excreção mais eficiente para evitar o acúmulo de amônia na água (Luo et al.,2014). Esse tratamento ajuda a definir a dosagem máxima de proteína que o acará-bandeira consegue utilizar efetivamente.



Figura 1. Metodologia ilustrativa referente ao enriquecimento de *Artemia* sp. para alimento dos peixes

As *Artemias* sp. utilizadas no experimento com o intuito de minimizar contaminação por patógenos, fizemos a aquisição de cistos da empresa Artemia Salina Rio Grande do Norte, foram eclodidas após a incubação de 48h e transferidas para tanques, com água marinha proveniente da baía frente ao Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento do Litoral Norte, Instituto de Pesca em Ubatuba-Sp, com salinidade 35, temperatura 27°C e pH 8,3. todos os tanques utilizados para o cultivo desses crustáceos foram mantidos em ambiente externo, com fotoperíodo natural 13C:11E e protegidos da luz solar direta por áreas de sombra, observamos o crescimento destes animais, realizamos coletas e foi novamente filtrada com a malha de 200 µm e lavada em água doce corrente, enriquecidas por 24h nas diferentes dosagens estipuladas.

### **2.3.1 Análise da eficácia do enriquecimento protéico com *whey protein* isolado no acará-bandeira durante período experimental.**

A eficácia da suplementação com “*whey protein*” é avaliada por meio de análises biométricas e histológicas realizadas ao longo do experimento. Os dados biométricos, incluindo massa corporal, comprimento padrão, comprimento total e proporções corporais como altura da cabeça e altura caudal, são coletados em intervalos regulares nos dias 0, 20, 40 e 60. Para garantir a máxima precisão das medições, são utilizados instrumentos calibrados, como uma balança de precisão para aferição da massa corporal e o software LAS (Leica Application 3.7®) para análises morfométricas dos peixes.

Os dados biométricos são analisados estatisticamente por meio de testes de variância (ANOVA), com o objetivo de comparar os diferentes tratamentos em relação ao ganho de massa corporal e ao crescimento linear. Quando identificadas diferenças significativas, aplica-se o teste post-hoc de Tukey para determinar quais tratamentos apresentam os melhores resultados em relação ao grupo controle e entre si. Considera-se o tratamento eficaz quando os peixes

suplementados demonstram ganhos significativos em massa corporal e comprimento em comparação ao grupo controle.

As análises histológicas são realizadas para investigar as alterações estruturais nas fibras musculares do Acará-bandeira. São avaliados o diâmetro das fibras musculares, a densidade de fibras (número de fibras por mm<sup>2</sup>) e a proporção entre hipertrofia (aumento do tamanho das fibras) e hiperplasia (aumento do número de fibras). Os cortes histológicos são preparados com resina Historesin e analisados em microscópio acoplado a um sistema de captura de imagens. As imagens obtidas são processadas por meio do software Leica, permitindo medições detalhadas e precisas. Os dados gerados são submetidos a análises estatísticas, utilizando ANOVA e medidas descritivas como média e desvio-padrão, a fim de identificar diferenças significativas entre os tratamentos. Além disso, realiza-se a correlação entre os resultados biométricos e histológicos, verificando se o crescimento observado nos peixes está relacionado a alterações estruturais no tecido muscular.

Os resultados biométricos e histológicos são integrados para validar a eficácia da suplementação com *“whey protein”*. O ganho de massa corporal é analisado em conjunto com as alterações nas fibras musculares, identificando se o crescimento observado é acompanhado por mudanças estruturais consistentes, como o aumento na densidade ou no diâmetro das fibras. Essa abordagem possibilita compreender, de forma abrangente, o impacto da suplementação com *“whey protein”* no crescimento e desenvolvimento muscular do Acará-bandeira, reforçando a validade dos tratamentos aplicados.

## **2.4 Análise biométrica do Acará-bandeira**

Para garantir a precisão dos dados coletados e minimizar o impacto no bem-estar dos animais, foi estabelecida uma metodologia criteriosa para a realização das análises biométricas. O delineamento experimental adotado buscou equilibrar a coleta de informações relevantes, sem comprometer a saúde



dos organismos experimentais, assegurando a integridade dos dados obtidos ao longo do estudo.

Cada aquário experimental (com volume de 40L) foi inicialmente povoado com 25 indivíduos de Acará-bandeira. Para a análise biométrica, quatro peixes foram coletados em intervalos pré-determinados, nos dias 0, 20, 40 e 60 do experimento. Ao final do estudo, a amostragem totalizou um conjunto representativo de indivíduos, permitindo uma avaliação detalhada da influência dos diferentes tratamentos nutricionais.

A escolha da eutanásia dos peixes amostrados foi baseada em critérios éticos e metodológicos, considerando a alta sensibilidade da espécie às variações nos parâmetros físico-químicos da água. Essa abordagem evitou possíveis efeitos adversos no restante do plantel, como o comprometimento da saúde dos indivíduos remanescentes devido à presença de resíduos anestésicos na água. Dessa forma, a prática adotada seguiu as diretrizes de bem-estar animal em pesquisas científicas, minimizando o sofrimento e garantindo a validade dos resultados obtidos.

As análises biométricas incluíram a coleta dos seguintes parâmetros morfométricos, conforme demonstrado na Figura 2.

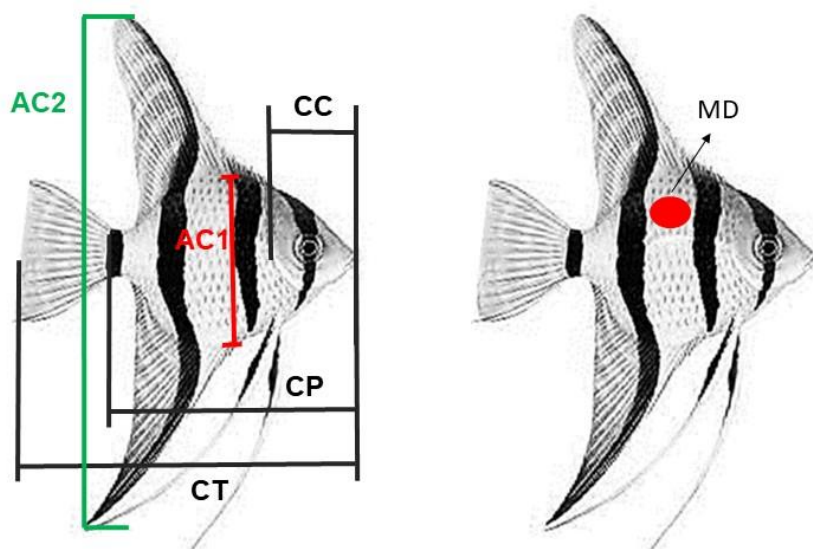


Figura 2: Esquema das medições morfométricas e locais de amostragem muscular no *Pterophyllum scalare*. À esquerda, representação das medidas biométricas: **CC** (comprimento da cabeça), **CP** (comprimento padrão), **CT** (comprimento do tronco), **AC1** (altura da cabeça) e **AC2** (altura caudal). À direita, indicação da região de coleta muscular: **MD** (músculo dorsal).

Amostras da região da nadadeira dorsal (MD) foram coletadas para análises histológicas, permitindo a investigação de alterações estruturais associadas ao crescimento muscular e ao desenvolvimento dos peixes sob diferentes condições nutricionais. Os dados coletados foram registrados e analisados por meio de ferramentas de estatística descritiva e inferencial, garantindo uma avaliação precisa dos efeitos do enriquecimento proteico sobre o desenvolvimento morfológico da espécie.

## 2.5 Análises Histológicas do Crescimento Muscular do Acará-Bandeira

Para avaliar os efeitos do enriquecimento proteico na morfologia muscular de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*, Schutze 1823), foram realizadas análises histológicas detalhadas das fibras musculares dorsais. O processamento histológico foi conduzido utilizando o sistema Historesin (Leica Biosystem), uma resina plástica de alta penetração, ideal para cortes ultrafinos e preservação estrutural das amostras biológicas. A escolha desse método visou proporcionar maior precisão na análise histológica, permitindo a identificação de padrões de hipertrofia (aumento do tamanho das fibras) e hiperplasia (aumento do número de fibras).

O tecido muscular foi coletado da região dorsal dos peixes e imediatamente fixado em formaldeído neutro tamponado a 10%, garantindo a preservação da integridade celular e prevenindo a degradação das fibras musculares. Em seguida, as amostras passaram por um processo de desidratação progressiva, utilizando concentrações crescentes de etanol 70% a 90%, permitindo a remoção gradual da água e facilitando a infiltração da resina.

Após a desidratação completa, os tecidos foram imersos na solução Historesin, assegurando a penetração da resina nos espaços intracelulares e

garantindo a preservação das estruturas musculares. Posteriormente, ocorreu a polimerização da resina, formando blocos sólidos que possibilitaram a obtenção de cortes ultrafinos. Esses cortes, com espessura entre 2 e 4  $\mu\text{m}$ , foram obtidos com o uso de um micrótomo de precisão, foram montados em lâminas histológicas e submetidos à coloração com hematoxilina-eosina HE e azul de toluidina, permitindo a visualização detalhada das fibras musculares e a diferenciação das estruturas celulares.

A análise microscópica foi realizada com um microscópio Leica, acoplado a um sistema de captura de imagens. As imagens obtidas foram processadas e analisadas por meio do software LAS (Leica Application 3.7®), permitindo a quantificação do diâmetro das fibras musculares, da densidade de fibras e dos padrões de crescimento muscular. Para cada peixe dos diferentes tratamentos, foram contadas 100 fibras musculares, assegurando uma amostragem representativa e permitindo uma análise detalhada das variações estruturais entre os grupos experimentais.

Os achados histológicos foram correlacionados com os dados biométricos coletados ao longo do experimento, possibilitando a avaliação dos efeitos da suplementação proteica sobre a estrutura muscular dos peixes. Essa abordagem permitiu identificar possíveis mudanças no crescimento muscular, evidenciando se o aumento no peso e no comprimento dos animais esteve acompanhado por modificações estruturais nas fibras musculares.

### **2.5.1 Análise das fibras musculares hipertrofia e hiperplasia**

Para a avaliação histológica do tecido muscular do Acará-bandeira, foram realizadas análises em cortes transversais da musculatura dorsal corados e observados em microscópio óptico. A imagem representada na Figura 3-A ilustra o procedimento utilizado para a contagem da densidade de fibras musculares. Uma área padronizada foi delimitada (com 52.760,560  $\mu\text{m}^2$ ), e dentro dessa região foram contadas todas as fibras presentes, permitindo a obtenção da densidade de fibras por unidade de área (número de fibras/ $\text{mm}^2$ ). Essa análise tem como

objetivo avaliar a ocorrência de hiperplasia, caracterizada pelo aumento no número de fibras musculares em resposta à suplementação com *whey protein*.

Paralelamente, foi realizada a mensuração das áreas das fibras musculares individuais, como ilustrado na Figura 3-B. Para isso, fibras selecionadas foram contornadas manualmente e suas respectivas áreas calculadas em micrômetros quadrados ( $\mu\text{m}^2$ ), utilizando o software de análise de imagem Leica. Esses valores foram posteriormente utilizados para o cálculo dos diâmetros das fibras, servindo como parâmetro para a análise de hipertrofia muscular, ou seja, o aumento do tamanho das fibras. Ambas as abordagens – densidade e área/diâmetro – foram integradas para determinar os efeitos da suplementação proteica no desenvolvimento muscular dos peixes, associando crescimento estrutural com desempenho biométrico.

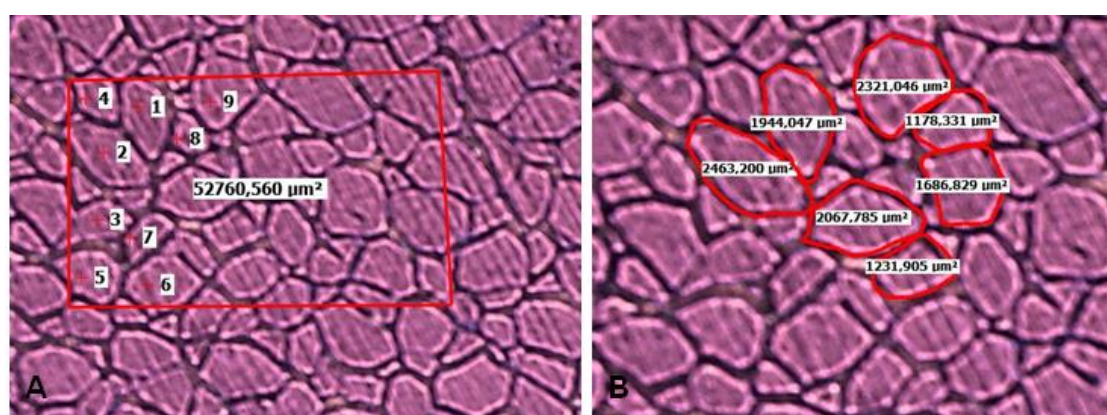


Figura 3. Imagens da secção transversal da musculatura dorsal de acara-bandeira. A) Determinação da quantidade de fibras musculares presentes em uma determinada área. B) Determinação das áreas das fibras musculares para posterior cálculo dos diâmetros.

## 2.6 Análise dos dados

Os dados coletados foram organizados em planilhas do Microsoft Excel e submetidos à análise estatística. Inicialmente, aplicou-se a ANOVA unidirecional para comparar as variáveis de crescimento e peso entre os diferentes tratamentos, adotando  $p < 0,05$  como nível de significância. Em seguida, o teste de Tukey foi utilizado para comparações múltiplas entre os grupos.

## 3.Resultados

A tabela 1, ao início do experimento (Tempo 0), não foram observadas diferenças significativas entre os grupos experimentais para a maioria das variáveis morfométricas analisadas, como comprimento total (CT), comprimento padrão (CP), altura corporal 1 (AC1), altura corporal 2 (AC2) e peso ( $p > 0,05$ ). Apenas a circunferência corporal (CC) apresentou diferença estatística entre os grupos ( $p = 0,02$ ), com destaque para o grupo T2, que exibiu valor médio superior ( $0,53 \pm 0,06$  cm) em relação ao grupo T3 ( $0,44 \pm 0,01$  cm). Esses resultados indicam que os peixes iniciaram o experimento com características morfométricas relativamente homogêneas, com exceção da variável CC

Tabela 1. Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) das variáveis morfométricas dos peixes Acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) no dia inicial de experimento submetidos a diferentes tratamentos com suplementação .

Variável	TC	T1	T2	T3	P>
CT(cm)	1.76 $\pm$ 0.15	1.92 $\pm$ 0.28	1.58 $\pm$ 0.08	1.50 $\pm$ 0.09	0.35
CP(cm)	1.40 $\pm$ 0.13	1.36 $\pm$ 0.18	1.28 $\pm$ 0.06	1.16 $\pm$ 0.10	0.21
CC(cm)	0.53 $\pm$ 0.05b	0.53 $\pm$ 0.06a	0.51 $\pm$ 0.05cb	0.44 $\pm$ 0.01bc	0.02
AC1(cm)	0.73 $\pm$ 0.10	0.71 $\pm$ 0.12	0.63 $\pm$ 0.07	0.56 $\pm$ 0.02	0.17
AC2(cm)	0.21 $\pm$ 0.03	0.22 $\pm$ 0.03	0.20 $\pm$ 0.02	0.18 $\pm$ 0.00	0.29
Peso (g)	0.06 $\pm$ 0.00	0.08 $\pm$ 0.00	0.08 $\pm$ 0.00	0.07 $\pm$ 0.00	1

TC - controle (0,0 g de "whey protein"); T1 - 0,1 g de "whey protein"; T2 - 0,5 g de "whey protein"; T3 - 1,0 g de "whey protein". CT - comprimento total; CP - comprimento padrão; CC - comprimento da cabeça; AC1 e AC2 - alturas corporais; P - valor de significância. Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem estatisticamente entre si ( $p < 0,05$ ). Médias expressas como valor médio  $\pm$  desvio padrão

Após 20 dias de experimento, observou-se que o comprimento da cabeça (CC) foi a única variável morfométrica que apresentou diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos ( $p = 0,01$ ). O grupo T2 apresentou o maior valor médio ( $0,85 \pm 0,05$  cm), significativamente superior ao grupo TC ( $0,69 \pm 0,04$  cm). As demais variáveis – comprimento total (CT), comprimento padrão (CP), altura corporal 1 (AC1), altura corporal 2 (AC2) e peso – não diferiram estatisticamente entre os grupos ( $p > 0,05$ ). Essas informações estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) das variáveis morfométricas dos peixes Acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) após 20 dias de experimento, submetidos a diferentes tratamentos com suplementação

Variável	TC	T1	T2	T3	P
CT(cm)	2.33 $\pm$ 0.26	2.35 $\pm$ 0.36	2.98 $\pm$ 0.29	2.35 $\pm$ 0.54	0.08
CP(cm)	1.76 $\pm$ 0.23	1.80 $\pm$ 0.27	2.19 $\pm$ 0.28	1.81 $\pm$ 0.38	0.16
CC(cm)	0.69 $\pm$ 0.04b	0.68 $\pm$ 0.06ab	0.85 $\pm$ 0.05a	0.73 $\pm$ 0.09ab	0.01
AC1(cm)	0.89 $\pm$ 0.15	1.05 $\pm$ 0.18	1.29 $\pm$ 0.15	1.10 $\pm$ 0.30	0.1
AC2(cm)	3.10 $\pm$ 0.47	3.18 $\pm$ 0.82	4.14 $\pm$ 0.54	3.24 $\pm$ 1.28	0.31
Peso (g)	0.46 $\pm$ 0.05	0.44 $\pm$ 0.11	0.52 $\pm$ 0.10	0.38 $\pm$ 0.07	0.18

TC – controle (0,0 g de “*whey protein*”); T1 – 0,1 g de “*whey protein*”; T2 – 0,5 g de “*whey protein*”; T3 – 1,0 g de “*whey protein*”. CT – comprimento total; CP – comprimento padrão; CC – comprimento da cabeça; AC1 e AC2 – alturas corporais; P – valor de significância. Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem estatisticamente entre si ( $p < 0,05$ ). Médias expressas como valor médio  $\pm$  desvio padrão

Aos 40 dias de experimento, observou-se diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos para todas as variáveis morfométricas, exceto para o peso ( $p = 0,13$ ). O grupo controle (TC) apresentou os menores valores médios em todas as variáveis, enquanto os grupos suplementados (T1, T2 e T3) demonstraram crescimento significativamente superior (Tabela 3).

O grupo T2 obteve o maior valor médio de comprimento total (CT:  $5,59 \pm 0,55$  cm) e comprimento padrão (CP:  $4,11 \pm 0,40$  cm), não diferindo significativamente de T1 e T3. O comprimento da cabeça (CC) também foi maior nos grupos tratados, com destaque para T3 ( $1,68 \pm 0,21$  cm). A altura corporal 1 (AC1) apresentou diferença marcante, com T3 atingindo o maior valor médio ( $7,77 \pm 1,01$  cm), significativamente superior aos demais grupos ( $p < 0,001$ ). A altura corporal 2 (AC2) seguiu a mesma tendência, com T2 apresentando o maior valor ( $7,77 \pm 2,95$  cm), estatisticamente superior ao grupo controle.

Tabela 3. Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) das variáveis morfométricas dos peixes Acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) após 40 dias de experimento, submetidos a diferentes tratamentos com suplementação

Variável	TC	T1	T2	T3	P
CT(cm)	$2.76 \pm 0.42b$	$4.86 \pm 0.72a$	$5.59 \pm 0.55a$	$5.41 \pm 1.23a$	0.0013
CP(cm)	$2.14 \pm 0.34b$	$3.73 \pm 0.53a$	$4.11 \pm 0.40a$	$4.16 \pm 0.87a$	0.0012
CC(cm)	$0.83 \pm 0.14b$	$1.49 \pm 0.11a$	$1.60 \pm 0.09a$	$1.68 \pm 0.21a$	0.0001
AC1(cm)	$1.07 \pm 0.19c$	$1.90 \pm 0.35bc$	$2.41 \pm 0.29b$	$7.77 \pm 1.01a$	0
AC2(cm)	$3.10 \pm 0.64b$	$6.60 \pm 1.01a$	$7.77 \pm 2.95a$	$7.44 \pm 2.95a$	0.0062
Peso (g)	$0.87 \pm 0.19$	$1.41 \pm 0.51$	$1.19 \pm 0.46$	$1.54 \pm 0.46$	0.13

TC - controle (0,0 g de "whey protein"); T1 - 0,1 g de "whey protein"; T2 - 0,5 g de "whey protein"; T3 - 1,0 g de "whey protein". CT - comprimento total; CP - comprimento padrão; CC - comprimento da cabeça; AC1 e AC2 - alturas corporais; P - valor de significância. Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem estatisticamente entre si ( $p < 0,05$ ). Médias expressas como valor médio  $\pm$  desvio padrão

Aos 60 dias experimentais, todas as variáveis morfométricas analisadas apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ), indicando efeito da suplementação na resposta de crescimento dos peixes (Tabela 4).

O grupo T1 destacou-se com os maiores valores médios de comprimento total (CT:  $5,59 \pm 0,50$  cm), comprimento padrão (CP:  $4,11 \pm 0,40$  cm), comprimento

da cabeça (CC:  $1,60 \pm 0,04$  cm), altura corporal 1 (AC1:  $2,41 \pm 0,26$  cm) e altura corporal 2 (AC2:  $7,77 \pm 1,17$  cm), sendo significativamente superior aos demais grupos. O grupo T2 apresentou resultados intermediários, com desempenho superior ao controle (TC) nas variáveis CP, CC, AC1, AC2 e peso. Já o grupo T3, apesar de apresentar o maior peso médio ( $2,91 \pm 0,56$  g), teve os menores valores de crescimento linear e corporal em todas as demais variáveis.

Esses resultados indicam que o tratamento T1 proporcionou o melhor desempenho morfométrico geral dos peixes, enquanto o T3, embora tenha gerado maior acúmulo de peso, apresentou menor desenvolvimento corporal proporcional, sugerindo possível deposição de massa não relacionada ao crescimento estrutural.

Tabela 4. Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) das variáveis morfométricas dos peixes acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) após 60 dias de experimento, submetidos a diferentes tratamentos com suplementação

Variável	TC	T1	T2	T3	P>
CT (cm)	$3.14 \pm 0.25bc$	$5.59 \pm 0.50a$	$3.48 \pm 0.12b$	$2.32 \pm 0.12c$	0
CP (cm)	$2.45 \pm 0.13bc$	$4.11 \pm 0.40a$	$2.68 \pm 0.17b$	$1.83 \pm 0.17c$	0
CC (cm)	$0.97 \pm 0.10bc$	$1.60 \pm 0.04a$	$0.99 \pm 0.11b$	$0.72 \pm 0.11c$	0.0001
AC1 (cm)	$1.28 \pm 0.17bc$	$2.41 \pm 0.26a$	$1.59 \pm 0.17b$	$0.95 \pm 0.17c$	0
AC2 (cm)	$3.71 \pm 0.43bc$	$7.77 \pm 1.17a$	$4.68 \pm 0.55b$	$2.76 \pm 0.55c$	0
Peso (g)	$1.19 \pm 0.51c$	$1.56 \pm 0.60bc$	$1.88 \pm 0.56b$	$2.91 \pm 0.56a$	0.0046

TC – controle (0,0 g de “whey protein”); T1 – 0,1 g de “whey protein”; T2 – 0,5 g de “whey protein”; T3 – 1,0 g de “whey protein”. CT – comprimento total; CP – comprimento padrão; CC – comprimento da cabeça; AC1 e AC2 – alturas corporais; P – valor de significância. Médias seguidas por letras diferentes na linha diferem estatisticamente entre si ( $p < 0,05$ ). Médias expressas como valor médio  $\pm$  desvio padrão

### 3.1 Análise histológica

A análise histológica da musculatura do *Pterophyllum scalare* revelou que o diâmetro médio das fibras musculares não diferiu significativamente entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ), com valores variando de  $33,52 \pm 4,89$   $\mu$ m no grupo



suplementado com 1,0 g a  $37,81 \pm 6,55 \mu\text{m}$  no grupo controle (0,0 g). Em contrapartida, a densidade de fibras musculares por milímetro quadrado foi significativamente menor no grupo controle ( $556,85 \pm 152,78$  fibras/ $\text{mm}^2$ ), em comparação aos grupos suplementados, que apresentaram médias superiores e estatisticamente semelhantes entre si:  $806,14 \pm 222,06$  (0,1 g),  $779,93 \pm 253,71$  (0,5 g) e  $858,99 \pm 244,53$  fibras/ $\text{mm}^2$  (1,0 g) ( $p < 0,05$ ). No entanto, não houve diferença significativa na distribuição das classes de diâmetro das fibras musculares entre os tratamentos (Figura 4).

Tabela 5. Média e desvio padrão do diâmetro e densidade das fibras musculares do acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) após 60 dias de alimentação com artemia enriquecida com “whey protein”

Tratamento	Diâmetro ( $\mu\text{m}$ )	Densidade (fibras/ $\text{mm}^2$ )
0,0g	$37.81 \pm 6.55$ a	$556,85 \pm 152,78$ b
0,1g	$34.91 \pm 6.85$ a	$806,14 \pm 222,06$ a
0,5g	$36.46 \pm 8.02$ a	$779,93 \pm 253,71$ a
1,0g	$33.52 \pm 4.89$ a	$858,99 \pm 244,53$ a

Valores expressos como média  $\pm$  desvio padrão. (TC – 0,0g de “whey protein”; T1 – 0,1g de “whey protein”; T2 – 0,5g de “whey protein”; T3 – 1,0g de “whey protein”) Letras distintas na mesma coluna indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos ( $P < 0,05$ )

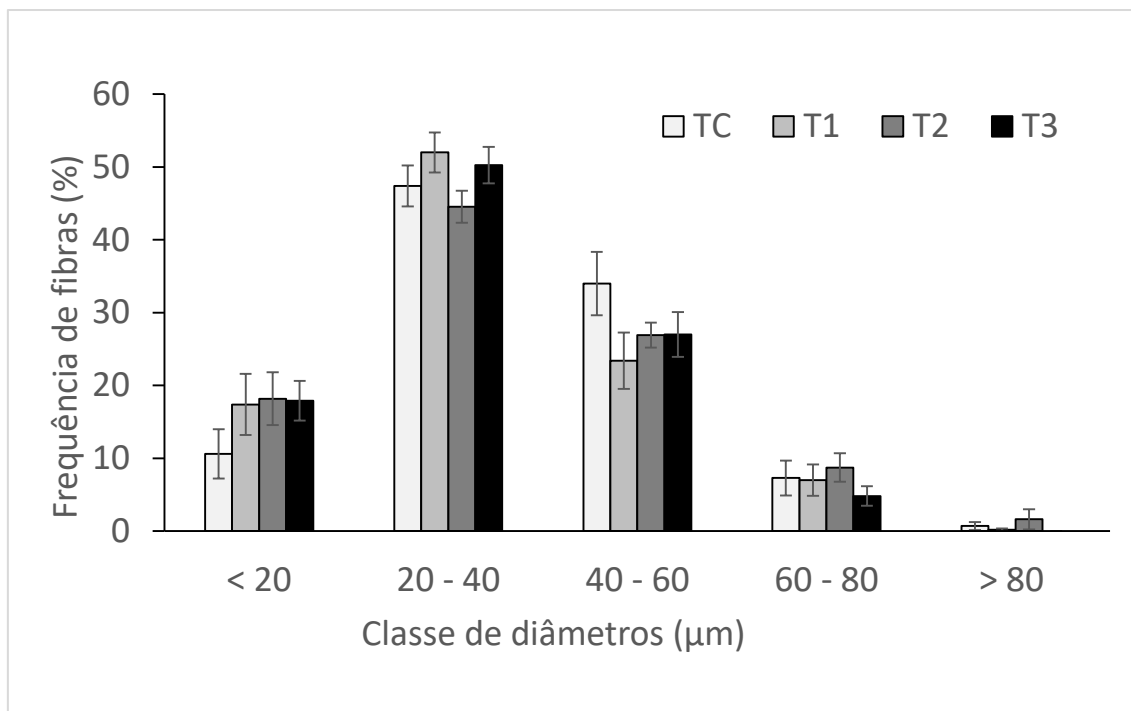


Figura 4. Efeito dos Diferentes Tratamentos no Crescimento Muscular do Acará Bandeira (*Pterophyllum scalare*). (TC - 0,0g de "whey protein"; T1 - 0,1g de "whey protein"; T2 - 0,5g de "whey protein"; T3 - 1,0g de "whey protein")

#### 4. Discussão

O crescimento dos peixes em sistemas de cultivo é um processo multifatorial, influenciado por variáveis ambientais e nutricionais que afetam diretamente o desenvolvimento muscular, ósseo e metabólico. A suplementação proteica desempenha um papel fundamental nesse contexto, pois fornece aminoácidos essenciais para a síntese proteica, contribuindo para a regulação hormonal e a eficiência alimentar dos organismos aquáticos (Jia et al., 2022). No presente estudo, investigou-se o impacto da suplementação com "whey protein" no crescimento do Acará-bandeira, evidenciando que concentrações moderadas (T1 e T2) favoreceram o crescimento estrutural, enquanto a maior concentração (T3) apresentou efeitos menos expressivos no crescimento linear.

Esse resultado é compatível com a hipótese de sobrecarga metabólica, amplamente discutida por (Melo et al. 2006), que observaram em *Rhamdia quelen* um aumento expressivo na atividade de enzimas catabólicas (ALAT, ASAT, GDH e arginase) e na concentração de amônia e ureia plasmáticas, quando

alimentados com dietas hiperaproteicas. Tais alterações indicam uma limitação fisiológica na capacidade de metabolização e excreção de resíduos nitrogenados, o que pode levar à ineficiência no aproveitamento da proteína excedente e à redistribuição energética desfavorável ao crescimento.

O crescimento dos peixes é regulado pelo eixo somatotópico GH/IGF-1, que controla a síntese proteica, a remodelação óssea e a deposição muscular (Al-Emran et al., 2024). A disponibilidade de proteínas de alta qualidade influencia diretamente esse eixo, modulando a conversão alimentar e a deposição de massa corporal. Os dados de crescimento apresentados nas Tabelas 1 a 4 indicam que os peixes suplementados com 0,1 g e 0,5 g de *“whey protein”* (T1 e T2) apresentaram crescimento significativo em comprimento total (CT) e comprimento padrão (CP) aos 20, 40 e 60 dias, sugerindo que essa suplementação otimizou a conversão alimentar e favoreceu o crescimento estrutural. Já os indivíduos expostos à maior concentração (1,0 g) apresentaram crescimento inferior, especialmente no comprimento total e na altura corporal, possivelmente devido à sobrecarga metabólica e ao balanço energético inadequado, resultando em menor eficiência na deposição proteica.

Melo et al. (2006) demonstraram que, em dietas com alto teor proteico, há um aumento significativo no catabolismo de aminoácidos com consequente elevação dos níveis de metabólitos nitrogenados. Isso reforça que o excesso de proteína, embora potencialmente anabólico, pode ultrapassar a capacidade fisiológica dos peixes, induzindo reações compensatórias como a gluconeogênese a partir de aminoácidos — processo energeticamente custoso que reduz a eficiência de conversão alimentar.

Além do crescimento linear, a suplementação proteica influenciou o desenvolvimento muscular e a adaptação locomotora dos peixes. Estudos sobre biomecânica da natação demonstram que o crescimento muscular ocorre tanto por hiperplasia (aumento do número de fibras musculares) quanto por hipertrofia (aumento do tamanho das fibras), sendo ambos os processos dependentes da qualidade da proteína ingerida (Voesenek et al., 2018). No

presente estudo, foi observado aumento significativo no comprimento da cabeça (CC) e na altura caudal (AC2) nos grupos suplementados, especialmente em T2, aos 40 e 60 dias, indicando que a adição de “*whey protein*” favoreceu a deposição muscular em regiões essenciais para a locomoção e captura de alimento. Essa adaptação pode ser interpretada como um mecanismo compensatório, no qual os peixes priorizam o crescimento de estruturas estratégicas para a sobrevivência.

O crescimento alométrico em peixes é um fenômeno dinâmico, influenciado pela distribuição diferencial de energia entre tecidos e estruturas ao longo do desenvolvimento (Liu et al., 2015). Os dados do presente estudo indicaram que a suplementação proteica impactou especialmente o crescimento craniano nos estágios iniciais do experimento, com diferenças significativas no comprimento da cabeça (CC) aos 20 dias. Esse achado sugere uma priorização do desenvolvimento ósseo e muscular na região cefálica, possivelmente impulsionada pela maior disponibilidade de aminoácidos essenciais. Estudos anteriores indicam que a alocação diferencial de energia para determinadas estruturas é uma resposta funcional do organismo à dieta, influenciando padrões distintos de crescimento muscular e esquelético (Voesenek et al., 2018).

A análise dos tratamentos revelou que os grupos TC e T1 promoveram um crescimento linear mais equilibrado, enquanto T3 resultou em menor crescimento estrutural, possivelmente devido a limitações metabólicas na conversão proteica em tecido muscular (Jia et al., 2022). O excesso de proteína pode não ser eficientemente convertido em crescimento, sobrecarregando vias metabólicas e aumentando o custo energético da excreção de metabólitos nitrogenados.

Esse fenômeno foi bem descrito por Melo et al. (2006), ao demonstrarem que dietas com 41% de proteína induziram uma elevação nas atividades das enzimas ALAT, ASAT e GDH, além de aumento nos níveis de amônia e ureia plasmáticas em *R. quelen*. Esses marcadores bioquímicos são indicativos de uma intensa degradação de aminoácidos para fins energéticos, o que diminui a disponibilidade de nitrogênio para síntese proteica e crescimento estrutural.

Assim, os dados do presente estudo corroboram com a ideia de que existe um ponto ótimo de suplementação, além do qual há mais perdas do que ganhos zootécnicos.

Dessa forma, a suplementação proteica deve ser ajustada para garantir um equilíbrio entre deposição muscular e crescimento estrutural harmonioso. A suplementação proteica é um fator determinante no crescimento e desenvolvimento muscular de peixes cultivados. Estudos demonstram que a biodisponibilidade de peptídeos bioativos pode estimular processos anabólicos e otimizar a deposição de proteína no tecido muscular (Xie et al., 2021). No presente estudo, os peixes suplementados com 0,1 g de *“whey protein”* apresentaram crescimento mais eficiente, indicando que doses moderadas são mais adequadas para otimizar o desenvolvimento estrutural e muscular. Em contrapartida, a maior dose de suplementação não resultou em ganhos proporcionais, possivelmente devido a limitações na capacidade de metabolização dos aminoácidos, corroborando a hipótese de um efeito limiar na absorção de proteína pelos organismos aquáticos.

Esses achados têm implicações diretas para a aquicultura, pois reforçam a importância de um manejo nutricional equilibrado, que atenda às necessidades metabólicas dos peixes sem gerar sobrecarga proteica. A escolha da fonte proteica e sua concentração na dieta são fatores determinantes na conversão alimentar e na eficiência do crescimento (Jia et al., 2022). Além disso, ajustes na formulação da dieta podem ser combinados com fatores ambientais, como fotoperíodo e temperatura, para maximizar a eficiência do crescimento e garantir melhor desempenho zootécnico.

O presente estudo demonstra que a suplementação proteica influencia significativamente o crescimento estrutural dos peixes, com efeitos positivos quando utilizada em concentrações moderadas e possíveis impactos negativos em doses excessivas. Fatores como regulação hormonal (Al-Emran et al., 2024), qualidade da fonte proteica (Jia et al., 2022) e adaptações biomecânicas (Voesenek et al., 2018) desempenham papéis fundamentais na modulação do crescimento,

reforçando que esse processo ocorre de forma adaptativa, dependendo da interação entre nutrição, metabolismo e condições ambientais.

O crescimento dos peixes em sistemas de cultivo é um processo multifatorial, influenciado por variáveis ambientais e nutricionais que afetam diretamente o desenvolvimento muscular, ósseo e metabólico. A suplementação proteica desempenha um papel fundamental nesse contexto, pois fornece aminoácidos essenciais para a síntese proteica, contribuindo para a regulação hormonal e a eficiência alimentar dos organismos aquáticos (Jia et al., 2022). No presente estudo, investigou-se o impacto da suplementação com *“whey protein”* no crescimento do Acará-bandeira, evidenciando que concentrações moderadas (T1 e T2) favoreceram o crescimento estrutural, enquanto a maior concentração (T3) apresentou efeitos menos expressivos no crescimento linear.

O crescimento dos peixes é regulado pelo eixo somatotópico GH/IGF-1, que controla a síntese proteica, a remodelação óssea e a deposição muscular (Al-Emran et al., 2024). A disponibilidade de proteínas de alta qualidade influencia diretamente esse eixo, modulando a conversão alimentar e a deposição de massa corporal. Os dados de crescimento apresentados nas **Tabelas 1 a 4** indicam que os peixes suplementados com 0,1 g e 0,5 g de *“whey protein”* (T1 e T2) apresentaram crescimento significativo em comprimento total (CT) e comprimento padrão (CP) aos 20, 40 e 60 dias, sugerindo que essa suplementação otimizou a conversão alimentar e favoreceu o crescimento estrutural. Já os indivíduos expostos à maior concentração (1,0 g) apresentaram crescimento inferior, especialmente no comprimento total e na altura corporal, possivelmente devido à sobrecarga metabólica e ao balanço energético inadequado, resultando em menor eficiência na deposição proteica.

Além do crescimento linear, a suplementação proteica influenciou o desenvolvimento muscular e a adaptação locomotora dos peixes. Estudos sobre biomecânica da natação demonstram que o crescimento muscular ocorre tanto por hiperplasia (aumento do número de fibras musculares) quanto por hipertrofia (aumento do tamanho das fibras), sendo ambos os processos

dependentes da qualidade da proteína ingerida (Voesenek et al., 2018). No presente estudo, foi observado aumento significativo no comprimento da cabeça (CC) e na altura caudal (AC2) nos grupos suplementados, especialmente em T2, aos 40 e 60 dias, indicando que a adição de “*whey protein*” favoreceu a deposição muscular em regiões essenciais para a locomoção e captura de alimento. Essa adaptação pode ser interpretada como um mecanismo compensatório, no qual os peixes priorizam o crescimento de estruturas estratégicas para a sobrevivência.

O crescimento alométrico em peixes é um fenômeno dinâmico, influenciado pela distribuição diferencial de energia entre tecidos e estruturas ao longo do desenvolvimento (Liu et al., 2015). Os dados do presente estudo indicaram que a suplementação proteica impactou especialmente o crescimento craniano nos estágios iniciais do experimento, com diferenças significativas no comprimento da cabeça (CC) aos 20 dias. Esse achado sugere uma priorização do desenvolvimento ósseo e muscular na região cefálica, possivelmente impulsionada pela maior disponibilidade de aminoácidos essenciais. Estudos anteriores indicam que a alocação diferencial de energia para determinadas estruturas é uma resposta funcional do organismo à dieta, influenciando padrões distintos de crescimento muscular e esquelético (Voesenek et al., 2018).

A análise dos tratamentos revelou que os grupos TC e T1 promoveram um crescimento linear mais equilibrado, enquanto T3 resultou em menor crescimento estrutural, possivelmente devido a limitações metabólicas na conversão proteica em tecido muscular (Jia et al., 2022). O excesso de proteína pode não ser eficientemente convertido em crescimento, sobrecarregando vias metabólicas e aumentando o custo energético da excreção de metabólitos nitrogenados. Dessa forma, a suplementação proteica deve ser ajustada para garantir um equilíbrio entre deposição muscular e crescimento estrutural harmonioso.

A suplementação proteica é um fator determinante no crescimento e desenvolvimento muscular de peixes cultivados. Estudos demonstram que a biodisponibilidade de peptídeos bioativos pode estimular processos anabólicos

e otimizar a deposição de proteína no tecido muscular (Xie et al., 2021). No presente estudo, os peixes suplementados com 0,1 g de “*whey protein*” apresentaram crescimento mais eficiente, indicando que doses moderadas são mais adequadas para otimizar o desenvolvimento estrutural e muscular. Em contrapartida, a maior dose de suplementação não resultou em ganhos proporcionais, possivelmente devido a limitações na capacidade de metabolização dos aminoácidos, corroborando a hipótese de um efeito limiar na absorção de proteína pelos organismos aquáticos.

Esses achados têm implicações diretas para a aquicultura, pois reforçam a importância de um manejo nutricional equilibrado, que atenda às necessidades metabólicas dos peixes sem gerar sobrecarga proteica. A escolha da fonte proteica e sua concentração na dieta são fatores determinantes na conversão alimentar e na eficiência do crescimento (Jia et al., 2022). Além disso, ajustes na formulação da dieta podem ser combinados com fatores ambientais, como fotoperíodo e temperatura, para maximizar a eficiência do crescimento e garantir melhor desempenho zootécnico.

O presente estudo demonstra que a suplementação proteica influencia significativamente o crescimento estrutural dos peixes, com efeitos positivos quando utilizada em concentrações moderadas e possíveis impactos negativos em doses excessivas. Fatores como regulação hormonal (Al-Emran et al., 2024), qualidade da fonte proteica (Jia et al., 2022) e adaptações biomecânicas (Voeselek et al., 2018) desempenham papéis fundamentais na modulação do crescimento, reforçando que esse processo ocorre de forma adaptativa, dependendo da interação entre nutrição, metabolismo e condições ambientais.

## 5. Conclusão

A suplementação de “*whey protein*” na dieta de Acará-bandeira (*Pterophyllum scalare* Schutze, 1823), teve um impacto significativo no crescimento e desenvolvimento dos peixes, com efeitos positivos em doses moderadas e redução no desempenho na concentração mais alta. Os resultados indicam que a dieta enriquecida influenciou a morfologia e o crescimento estrutural da espécie,



destacando a importância de um balanço nutricional adequado para otimizar a criação em cativeiro. Assim, o uso estratégico de suplementos proteicos pode ser uma alternativa viável para melhorar a qualidade e o desempenho zootécnico do acará-bandeira na aquicultura ornamental.

## 6. Agradecimentos

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo apoio financeiro, por meio da concessão da bolsa (Processo nº 422390/2023-7), que foi fundamental para o desenvolvimento deste trabalho.

## 8. Referências

Alho, C. J. R. (2010). Integração entre biodiversidade e aplicação de pesquisa científica resultando em manejo para uso sustentável e conservação. *Revista Uniara*, 13(1), 125–134.

Araújo, J. G., Santos, M. A. S., Rebello, F. K., & Isaac, V. J. (2017). Cadeia comercial de peixes ornamentais do Rio Xingu, Pará, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*, 43(2), 297–307.

Bai, S. C., & Lee, K. J. (2017). Effect of dietary whey protein on growth performance, immune responses, and disease resistance of ornamental fish. *Aquaculture Research*, 48(12), 6692–6700. <https://doi.org/10.1111/anu.13125>

Brandão, M. L., et al. (2020). Understanding behaviour to improve the welfare of an ornamental fish. *Journal of Fish Biology*. <https://doi.org/10.1111/jfb.14802>

Campelo, D. A. V., et al. (2019). Estratégias alimentares na larvicultura do peixe ornamental amazônico acará-severo (*Heros severus*) (Heckel, 1840). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 71, 1601–1608.

Campelo, D. A. V., et al. (2020). Use of different feeds in larviculture of the Amazon ornamental fish *Severum*. *Braz. J. of Develop.*, 6(3), 14035–14049.

Campos, A. L., et al. (2018). Influence of dietary protein levels on muscle growth and hypertrophy in fish. *Aquaculture Nutrition*, 26(1), 206–215. <https://doi.org/10.1111/anu.13125>

- Carneiro, P. S., et al. (2021). Muscle growth mechanisms and their impact on aquaculture production of fish. *Reviews in Aquaculture*, 13(4), 1814–1829. <https://doi.org/10.1111/raq.12576>
- Chapman, F. A. (2000). Ornamental fish culture, freshwater. In R. Stickney (Ed.), *Encyclopedia of Aquaculture* (pp. 602–610). Wiley-Interscience.
- Costa, F., et al. (2020). Morphometric analysis of fish growth and size. *Aquaculture and Fisheries*, 5(3), 95–104. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2019.10.003>
- Cruz, M. E. P., et al. (2008). Frecuencia de desove de diferentes variedades del Pez Ángel Pterophyllum scalare (Pisces: Cichlidae). *Rev. Aquatic, Zaragoza*, 16
- Dulloo, M. E., et al. (2019). Impact of genetic selection on growth rates of ornamental fish. *Aquaculture Genetics*, 12(2), 35–45. <https://doi.org/10.1002/aqg.11005>
- Fabregat, T. E. H. P., et al. (2017). Larvicultura do betta em água levemente salinizada. *Boletim do Instituto de Pesca*, 43(2), 164–171.
- Genereux, M. J., et al. (2022). Aquatic metabolism and nutrient dynamics in freshwater ornamental species. *Freshwater Ecology Reports*, 8(1), 101–113. <https://doi.org/10.1002/fer.22100>
- Hung, S. S. O., et al. (1990). Growth and feed efficiency of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) sub-yearlings at different feeding rates. *Aquaculture*, 80, 147–153.
- Jia, Y., et al. (2020). Protein feedstuffs for aquatic animals: A review. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1354, 307–328.
- Jones, C., et al. (2015). Efeitos do oxigênio dissolvido no metabolismo dos peixes e respostas ao estresse. *Fish Biology Research*, 38(5), 487–501.
- Kacperczyk, A., et al. (2011). Differentiation and growth of myotomal muscles in a non-model tropical fish *Pterophyllum scalare* (Teleostei: Cichlidae). *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 40(6), 411–418. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0264.2011.01086.x>
- Lee, K., et al. (2016). Densidade populacional e respostas hormonais em sistemas de aquacultura intensiva. *Aquatic Stress Physiology Review*, 15(4), 332–340.

- Lemos, L., et al. (2021). Application of digital morphometry in the study of ornamental fish growth. *Aquaculture Research*, 52(10), 3125–3134. <https://doi.org/10.1111/are.15477>
- Liebl, A. R. S., Bussons, M. R. F. M., Pinto, E. A. S., Aride, P. H. R., & Oliveira, A. T. (2021). Exigência de aminoácidos nas dietas: uma necessidade para peixes amazônicos. In E. Sadalla et al. (Eds.), *Aquicultura na Amazônia* (pp. 146–149). Editora Atena. <https://www.researchgate.net/publication/350076052>
- Liu, H., et al. (2015). Growth performance, body composition, and muscle development in juvenile golden pompano (*Trachinotus ovatus*) fed diets with varying protein and lipid levels. *Aquaculture International*, 23(4), 1009–1022.
- López-Sánchez, M. I., Olivar, M. P., & Catalán, I. A. (2020). Larval development and allometric growth of the black-faced blenny *Tripterygion delaisi*. *Journal of Fish Biology*, 97(5), 1253–1263. <https://doi.org/10.1111/jfb.14487>
- Luna, F., & Gómez, J. P. E. (2018). Incorporação de *Culex quinquefasciatus* e *Daphnia* sp. na dieta e sua influência na reprodução de *Pterophyllum scalare* (Pisces: Cichlidae). *Revista Naturaleza y Desenvolvimento*, 3(1), 5–10.
- Melo, J. F. B., Lundstedt, L. M., Metón, I., Vázquez Baanante, I., & Moraes, G. (2006). Effects of dietary levels of protein on nitrogenous metabolism of *Rhamdia quelen* (Teleostei: Pimelodidae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 145(2), 181–187. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.06.007>

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente pesquisa reforça a importância do estudo e aprimoramento das técnicas de nutrição aplicadas à aquicultura ornamental, especialmente no que se

refere a espécies nativas como o acará-bandeira (*Pterophyllum scalare* Schutze, 1823). Embora a aquicultura de organismos ornamentais ainda esteja em fase inicial no Brasil, seu potencial para o desenvolvimento sustentável e a conservação da biodiversidade é inegável.

O uso de alimentos vivos enriquecidos, como *Artemia* sp. suplementada com ``whey protein`` isolado, mostrou-se uma estratégia promissora para melhorar o crescimento e a qualidade dos peixes, atendendo às exigências nutricionais da espécie. Além disso, o presente estudo contribui de forma inédita para o conhecimento da histologia das fibras musculares do acará-bandeira, tema ainda escasso na literatura científica, oferecendo subsídios para futuras pesquisas relacionadas à morfologia e ao desenvolvimento muscular em espécies ornamentais.

Esses avanços não apenas contribuem para uma produção mais eficiente e sustentável, como também incentivam a valorização de espécies nativas no mercado ornamental, reduzindo a pressão sobre populações selvagens. Dessa forma, estudos como este são fundamentais para impulsionar o setor aquícola, fornecendo bases científicas para a adoção de estratégias nutricionais mais eficazes e sustentáveis.