

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**XILANASE E β -GLUCANASE EM DIETAS PARA
TILÁPIA-DO-NILO CONTENDO GRÃOS SECOS DE
DESTILARIA COM SOLÚVEIS DE SORGO**

Autor: Élisson Silva de Macêdo

Orientador: Prof. Dr^o. Wilson Massamitu Furuya

MARINGÁ
Estado do Paraná
Fevereiro - 2022

**XILANASE E β -GLUCANASE EM DIETAS PARA
TILÁPIA-DO-NILO CONTENDO GRÃOS SECOS DE
DESTILARIA COM SOLÚVEIS DE SORGO**

Autor: Élisson Silva de Macêdo

Orientador: Prof. Dr^o. Wilson Massamitu Furuya

“Tese apresentada, como parte das exigências para a obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração Produção Animal”.

MARINGÁ
Estado do Paraná
Fevereiro - 2022

Ficha Catalográfica Preparada pela Seção de Catalogação e Classificação da
Biblioteca Central da UEM

M141x Macêdo, Élison Silva de
Xilanase e β -glucanase em dietas para tilápia-do-
nilo contendo grãos secos de destilaria com solúveis
de sorgo / Élison Silva de Macêdo . -- Maringá,
2022.
xvi, 40 f.: il. color., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya.
Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de
Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento
de Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia, 2022.

1. Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) -
Dietas. 2. Farelo de soja. 3. Coproduto do etanol.
4. Sorgo I. Furuya, Wilson Massamitu, orient. II.
Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências
Agrárias. Departamento de Zootecnia. Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia.

CDD 21.ed.638.1



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**XILANASE E β -GLUCANASE EM DIETAS PARA
TILÁPIA DO NILO CONTENDO GRÃOS SECOS
DESTILADOS COM SOLÚVEIS DE SORGO**

Autor: Élisson Silva de Macêdo

Orientador: Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya

TITULAÇÃO: Doutor em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

APROVADO em 24 de maio de 2022.

Prof. Dr. Luiz Edivaldo Pezzato



Documento assinado digitalmente

ANA LUCIA SALARO

Data: 25/05/2022 18:02:22-0300

Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof^ª Dr^ª Ana Lucia Salaro



Documento assinado digitalmente

ALTEVIR SIGNOR

Data: 25/05/2022 11:26:30-0300

Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Altevir Signor



Documento assinado digitalmente

LUIZ VITOR OLIVEIRA VIDAL

Data: 25/05/2022 09:50:30-0300

Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Luiz Vitor Oliveira
Vidal



Documento assinado digitalmente

WILSON MASSAMITU FURUYA

Data: 25/05/2022 12:32:17-0300

Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya
(Orientador)

EPÍGRAFE

“Mas o Senhor conhece todas as coisas, desde o começo; portanto Ele prepara um caminho para realizar todas as Suas obras entre os filhos dos homens; pois eis que Ele tem todo o poder para fazer cumprir todas as suas palavras. E assim é. Amém.”

**1 Néfi 9:6, Livro de Mórmon. Outro testamento
de Jesus Cristo**

Aos meus pais Edleuza Rocha Silva de Macêdo e Edimar Willians Bomfim de Macêdo,
a minha esposa Luciana de Paula Costa Alves Macêdo e meu filho Elói Alves Macêdo,
que sempre estiveram atentos às minhas necessidades me incentivando e apoiando.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, quero agradecer ao meu Pai Celestial, por me permitir fazer essa jornada terrena e por ter preparado mais dois de seus filhos para serem meus Pais, e seu primogênito para ser nosso Salvador, permitindo que retornemos a sua presença. E justamente a eles, minha mãe Edleuza e meu pai Edimar, que serei eternamente grato pelo amor, compreensão e apoio de que tanto precisei. À minha esposa Luciana, fiel companheira com quem compartilho todo o meu amor, conquistas e decepções. Também sou grato a Deus por conceder mais um de seus filhos nós, Elói Alves Macêdo, para cuidar, educar e vê-lo crescer.

Ao CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela concessão da bolsa de estudo.

À BASF, pelo apoio financeiro ao projeto de pesquisa.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya não somente pelas tarefas difíceis de orientar, acompanhar, ensinar, repreender e corrigir, mas pelo respeito, amizade e gratidão que sente ao contribuir no desenvolvimento de recursos humanos.

Ao doutorando do PPZ, Allan Vinicius Urbich, amigo e companheiro, meus sinceros agradecimentos por sempre ajudar quando era necessário no laboratório.

Aos meus amigos do grupo de pesquisa *Fish Nutrition*, Allan Vinicius Urbich, Ângelo Machado Soltes Filho, Vitória, Valéria Rossetto Barriviera Furuya, Luiz Fernando Eirin Cancela Filho, Tânia Cristina Pontes, Jessica Sayuri Ticse Nakamura, Johnny Martins de Brito, Paola Aparecida Paulovski Panaczewicz, Alycia Renata Rudnik, João Antônio Galiotto Miranda, Maytê Vedam Dimbarre, Ana Flávia Moreira, Fernanda Eleutério

Miara de Almeida e Thais Pereira da Cruz, pelo apoio, amizade, companheirismo em todos os momentos durante o doutorado. Muito Obrigado!

À minha amiga, Mestranda do PPZ, Jessica Sayuri Ticse Nakamura, pela confiança e disposição em ajudar durante a condução do experimento.

À Doutoranda do PPZ, Analene Alves Nascimento, pela amizade e disponibilidade ao me ensinar algumas análises laboratoriais.

Ao Bruno Wernick, Coordenador de Serviços Técnicos da BASF Animal Nutrition, Brasil, pelo apoio ao projeto de pesquisa

A Chefia do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Ponta Grossa - UEPG, Prof^ª. Dr^ª. Verônica Oliveira Vianna e aos técnicos Valquíria Nanuncio Chochel do Laboratório de Anatomia e Reprodução Animal e Antônio do Espírito Santo do Prado do Laboratório de Nutrição Animal, ambos do Departamento de Zootecnia da UEPG, pela colaboração. A Marilene, zeladora do prédio de Zootecnia da UEPG, pelo companheirismo e dedicação em ajudar no laboratório.

Aos demais professores e pós-graduandos que ajudaram nas análises laboratoriais: Prof. Dr. Ivo Mottin Demiate e Ana Claudia Bedin do Complexo de Laboratórios Multiusuários (C-LabMu) da UEPG e, Prof. Dr. Leandro Cavalcante Lipinski e Bruna Carletto do Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da UEPG.

A toda a equipe da professora Dr^ª. Lilian Carolina Rosa Silva da UNIOESTE, pela colaboração na extrusão das dietas experimentais.

Aos membros da banca examinadora deste trabalho, Dr. Luiz Edivaldo Pezzato, Dr. Luiz Vitor Oliveira Vidal, Dr^ª. Ana Lúcia Salaro e Dr. Altevir Signor, pela empatia e esforço extra em nos ajudar a lapidar este estudo, assim como também feito pela Dr^ª. Mariana Michelato Kawakami.

Aos dias de confraternização, com todo o grupo de pesquisa reunido, vibrantes com cada conquista, seja experimento concluído, títulos conquistados etc., tudo passou a ser motivo de comemoração.

E, a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para realização desse trabalho, meu muito obrigado.

BIOGRAFIA

Élison Silva de Macêdo, filho de Edimar Willians Bonfim de Macêdo e Edleuza Rocha Silva de Macêdo, nasceu na cidade de São Luís Gonzaga do Maranhão - MA, em 19 de julho de 1993. Nesse mesmo município estudou no Jardim de Infância Anne Emanuele e concluiu o ensino fundamental no Complexo Educacional de Ensino Fundamental e Médio Nazaré Ramos. Concluiu o ensino médio no ano de 2010, no Colégio Reis Magos, no município vizinho, Bacabal (MA). Ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, campus São Luís (MA) em março de 2011, e desenvolveu atividades de iniciação científica e estágio extracurriculares no setor de Cunicultura (UEMA), Embrapa Cocais (São Luís – MA) e na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Brasília – DF). Graduou-se como Bacharel em Zootecnia em março de 2016. Ingressou no Programa de Pós-graduação em Ciência Animal e Pastagens da Universidade Federal Rural de Pernambuco (Garanhuns-PE) em março de 2016, submetendo-se à defesa da dissertação para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal e Pastagens no dia 23 de fevereiro de 2018. No mês de dezembro de 2017 foi aprovado em processo seletivo ao doutorado em Zootecnia nas Universidades UNIOESTE (PR) e UEM (PR). Em março de 2018 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, área de concentração em Produção Animal. Qualificou-se para defesa do doutorado em 04 de setembro de 2021 e apresentou sua tese no dia 24 de maio de 2022

ÍNDICE

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
CAPÍTULO I - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	15
2. Panorama geral da aquicultura e alimentos alternativos na alimentação de peixes....	16
3. Fibra alimentar e sua relação com o desempenho dos peixes.....	20
4. Efeito das carboidrases exógenas na dietas para peixes	21
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
OBJETIVOS	32
CAPÍTULO II – ARTIGO CIENTÍFICO.....	34
Dietas à base de farelo de soja ou da mistura de farelo de soja e grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) de sorgo com xilanase/ β -glucanase sobre o desempenho produtivo, enzimas digestivas, digestibilidade e microbioma intestinal de tilápia-do Nilo.....	
	9
RESUMO.....	9
1. INTRODUÇÃO	10
2. MATERIAL E MÉTODOS	11
3. RESULTADOS	19
4. DISCUSSÃO	21
5. CONCLUSÕES	26
REFERÊNCIAS.....	27

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Pesca de captura e produção de aquicultura mundial (FAO, 2020). 17
- Figura 2. Efeito principal da fonte de proteína (A; $P = 0,009$) e suplementação de xilanase e β -glucanase (XB; $P = 0,004$) sobre os valores de energia digestível (ED) em dietas com farelo de soja (FS) ou mistura de farelo de soja e destilados de grãos secos de sorgo (FS/DDGS) de sorgo, sem (-XB) ou com (+XB) suplementação de mistura de xilanase e β -glucanase (XB) na proporção de 0,2 g/kg, contendo valores médios analisados de 1228 TXU/kg dieta de endo-1,4 β -xilanase e 514 TGU/kg dieta de endo-1,4- β -glucanase. Barras representam média \pm erro padrão para cada tratamento ($n = 4$). Barras com letras distintas indicam diferenças dentro de cada tratamento e entre os tratamentos pelo teste de Kruskal-Wallis complementado com o teste de comparação múltipla de Dunn ($P < 0,05$). 9
- Figura 3. Box plot do índice de diversidade pelo número de OTUs observados no conteúdo intestinal de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados com dietas com farelo de soja (FS) ou mistura de farelo de soja e destilados de grãos secos de sorgo (DDGS), sem (-XB) ou com (+XB) suplementação de xilanase/ β -glucanase (XB) na proporção de 0,2 g/kg, contendo valores médios analisados de 1228 TXU/kg dieta de endo-1,4 β -xilanase e 514 TGU/kg dieta de endo-1,4- β -glucanase. As linhas nas barras de box plot representam a mediana da diversidade para cada tratamento ($n = 4$). Box plots com letras distintas indicam diferenças dentro de cada tratamento e entre os tratamentos pelo teste de Kruskal-Wallis complementado com o teste de comparação múltipla de Dunn ($P < 0,05$). 10
- Figura 4. Diagrama de Venn mostrando sobreposições de OTUs com a distribuição percentual da comunidade microbiana central (16 OTU) em nível de filo (A) e abundância relativa de unidades taxonômicas com distância euclidiana apresentando a associação entre filo (B). Os dados representam amostras do conteúdo intestinal de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados com dieta tendo como principal fonte de proteína o farelo de soja (FS) ou mistura de farelo de soja e destilados de grãos secos de sorgo (DDGS) sem (-XB) ou com (+XB) suplementação de xilanase e β -glucanase na

proporção de 0,2 g/kg com valores médios analisados de 1228 TXU/kg dieta de endo-1,4 β -xilânase e 514 TGU/kg dieta de endo-1,4- β -glucanase.....	11
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição proximal para grãos secos de destilaria com solúvel (DDGS) de diferentes fontes de grãos (milho e sorgo) e do farelo de soja (g/kg de matéria natural).	19
Tabela 2. Formulação e composição analisadas das dietas experimentais.	12
Tabela 3. Desempenho de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas experimentais.	13
Tabela 4. Composição corporal de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas experimentais.	14
Tabela 5. Atividade de enzimas digestivas em juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas experimentais.	15
Tabela 6. Parâmetros bioquímicos do sangue de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas experimentais.	16
Tabela 7. Coeficiente de digestibilidade aparente (%) de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas experimentais.	17

RESUMO

O estudo foi conduzido com o objetivo de avaliar dietas contendo farelo de soja (FS) ou a mistura de farelo de soja com grãos secos da destilaria com solúveis (DDGS) de sorgo suplementadas ou não com o complexo enzimático de xilanase e β -glucanase (XB) para juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) sobre desempenho, digestibilidade, parâmetros sanguíneos, atividade de enzimas digestivas e microbioma intestinal. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 2 x 2. Os peixes (n = 240; peso inicial $11,33 \pm 0,3$ g) foram alimentados com dietas à base de farelo de soja (FS) ou à base da mistura de farelo de soja com grãos secos de destilaria com solúveis de sorgo (FS/DDGS). Ambas as dietas foram suplementadas ou não com 0,2 g/kg de XB. O complexo XB apresenta valores médios de 1228 TXU/kg de endo-1,4 β -xilanase e 514 TGU/kg de endo-1,4- β -glucanase. Para as variáveis de desempenho, houve interação entre fonte de proteína e XB apenas para o índice viscerossomático. Independente da suplementação enzimática, peixes alimentados com a dieta FS apresentaram menor consumo (-5,56%), maior eficiência alimentar (+6,98%) e taxa de eficiência proteica (+7,75%) em relação aos que consumiram as dietas FS/DDGS ($P < 0,05$). Independente da fonte proteica, a XP aumentou a taxa de eficiência proteica dos peixes em 4,35% ($P = 0,018$). Não ocorreu interação entre fonte e XB para composição corporal, atividade de enzimas digestivas e digestibilidade, e os peixes alimentados com a dieta FS apresentaram maior atividade da enzima protease, resultando em maior digestibilidade da proteína bruta dietética e conseqüentemente, maior deposição de proteína corporal ($P < 0,05$), em comparação aos peixes que receberam a dieta FS/DDGS. A XB promoveu maior deposição de gordura corporal nos peixes (+6,78%; $P = 0,048$) em comparação a gordura corporal dos peixes que consumiram a dieta sem adição de XB. Os parâmetros bioquímicos plasmáticos dos peixes não foram influenciados pelos tratamentos avaliados ($P > 0,05$). A adição de XB promoveu aumento na diversidade de táxons bacterianos e, particularmente em peixes que receberam dieta com FS/DDGS. A inclusão de FS/DDGS também resultou em aumento nos filos de bactérias benéficas *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* e *Proteobacteria*. Conclui-se que a mistura FS/DDGS de sorgo equivale ao uso do farelo de soja em dietas para juvenis de tilápia-do-Nilo, sem prejuízo ao desempenho dos animais e a suplementação de XB promove

melhor aproveitamento da proteína e energia da dieta que contém mistura de farelo de soja e DDGS de sorgo.

Palavras-chave: coproduto do etanol, carboidratos, digestibilidade, microbioma intestinal, *Oreochromis niloticus*

ABSTRACT

The study was conducted to evaluate diets with soybean meal (SF) or a mixture of soybean meal with Sorghum Distiller's Dried Grains and Solubles (DDGS) supplemented or not with the enzyme complex of xylanase and β -glucanase (XB) for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles on performance, digestibility, blood parameters, digestive enzyme activity and intestinal microbiome. The experiment was carried out in a completely randomized design, 2 x 2 factorial. The fish (n = 240; initial weight 11.33 ± 0.3 g) were fed with diets based on soybean meal (FS) or a mixture of soybean meal with Sorghum Distiller's Dried Grains and Solubles (FS/DDGS). Both diets were supplemented or not with 0.2 g/kg XB. The XB complex has mean values of 1228 TXU/kg of endo-1,4 β -xylanase and 514 TGU/kg of endo-1,4- β -glucanase. For the performance variables, there was interaction between protein source and XB only for the viscerosomatic index. Regardless of enzyme supplementation, fish fed with FS diet had lower consumption (-5.56%), higher feed efficiency (+6.98%) and protein efficiency rate (+7.75%) compared to those that consumed the FS/DDGS diets ($P < 0.05$). Regardless of the protein source, XP increased the fish protein efficiency rate by 4.35% ($P = 0.018$). There was no interaction between source and XB for body composition, digestive enzyme activity and digestibility, where fish fed with FS diet showed higher protease enzyme activity, resulting in higher digestibility of dietary crude protein and, consequently, higher body protein deposition ($P < 0.05$), compared to fish that received the FS/DDGS diet. XB promoted greater deposition of body fat in fish (+6.78%; $P = 0.048$) compared to body fat in fish that consumed diet without the XB addition. The plasma biochemical parameters of fish were not influenced by the treatments evaluated ($P > 0.05$). The XB addition promoted an increase in the diversity of bacterial taxa, particularly in fish that received a diet with FS/DDGS. The FS/DDGS inclusion also resulted in an increase in the beneficial bacterial phyla Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria and Proteobacteria. It is concluded that the FS/ sorghum DDGS mixture is equivalent to the use of soybean meal in diets for Nile tilapia juveniles, without prejudice the animals' performance and the XB supplementation promotes better use of protein and energy from diet than contains blend of soybean meal and sorghum DDGS.

Key words: ethanol co-product, carbohydrase, digestibility, microbiota, Nile tilapia

CAPÍTULO I - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. INTRODUÇÃO GERAL

As dietas para tilápias são compostas basicamente de grãos de cereais, como o milho, e suplementos proteicos de origem animal ou vegetal, capazes de fornecer aos peixes a energia e os nutrientes exigidos para manutenção e ganho corporal (NRC- National Research Council, 2011). Dentre os ingredientes proteicos, o farelo de soja se destaca pelo seu valor nutricional e nutritivo (Cho e Kim, 2011; Gatlin et al., 2007). No entanto, pela alta demanda do farelo de soja para outros setores produtivos, há necessidade da busca por alimentos alternativos de origem proteica em dietas para peixes (Maas et al., 2020a). Grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) são coprodutos de cereais das indústrias de biocombustíveis que possuem altos teores de energia e nutrientes, sendo utilizado como ingrediente alternativo em dietas para peixes (Kim et al., 2008). No entanto, trata-se de coproduto fibroso, rico em polissacarídeos não amiláceos (PNAs) (Maas et al., 2020b). Dietas ricas em PNAs, possuem baixo valor nutritivo para peixes de hábito alimentar onívoro, que não possuem enzimas digestivas para degradar esses compostos (Krogdahl et al., 2005a). O desempenho de peixes como a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) é diminuído devido os PNAs diminuírem a utilização de energia e nutrientes do alimento (Brito et al., 2021). Além do efeito sobre o desempenho, o baixo aproveitamento dos nutrientes presentes na dieta são posteriormente lançados nos corpos d'água e contribuem para eutrofização dos ambientes aquáticos naturais.

Uma solução ao uso de alimento com alto teor de PNAs em dietas para peixes é realizar a suplementação com carboidrases exógenas à dieta, o que permite neutralizar ou minimizar os efeitos negativos dos PNAs sob o desempenho dos peixes (Sinha et al., 2011). Entre as enzimas exógenas que degradam os PNAs, a xilanase e a β -glucanase são amplamente usadas, uma vez que arabinosilanos e β -glucanos são mais predominantes em dietas com altos teores de fibras (Castillo e Gatlin, 2015). No entanto, existem poucas informações sobre os efeitos da suplementação de xilanase e β -glucanase em dietas com inclusão de DDGS de sorgo para tilápia-do-Nilo.

Para aumentar a produção de peixes considerando a sustentabilidade econômica e ambiental, a inclusão de carboidrases em alimentos de baixo valor agregado, como por exemplo o DDGS de sorgo, deve ser avaliada para garantir o desempenho e a saúde dos peixes. Outro parâmetro que permite conhecer a saúde dos peixes é a avaliação do microbioma intestinal, uma vez que a substituição de proteínas vegetais na dieta pode comprometer a saúde intestinal em diferentes espécies de peixes diminuindo a presença de bactérias benéficas ao intestino (Hartviksen et al., 2014; Xie et al., 2021a, 2021b). Assim, com este estudo objetivou-se avaliar a utilização de dietas contendo farelo de soja ou a mistura de farelo de soja com grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) de sorgo suplementadas ou não com o complexo enzimático xilanase e a β -glucanases para juvenis de tilápia-do-Nilo.

2. Panorama geral da aquicultura e alimentos alternativos na alimentação de peixes

A indústria aquícola tem evoluído rapidamente em comparação com outros setores de produção animal (FAO, 2020). Isso ocorre pela estabilização da extração dos recursos naturais pesqueiros (Figura 1) e a crescente demanda por fonte saudável de proteína animal para consumo humano (FAO, 2020; Zaibel et al., 2021). Dentre as espécies criadas

globalmente, a tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) é a terceira espécie mais produzida, e sua produção global aumentou aproximadamente 41% de 2010 a 2018 (FAO, 2020). No Brasil, a tilápia-do-Nilo é a espécie mais cultivada, sendo que a produção de tilápias lidera a produção total oriunda da piscicultura e representa 61% da produção nacional, com aproximadamente 486 toneladas (Peixe BR, 2021). Devido ao crescente avanço da piscicultura, novas estratégias surgem com o objetivo de minimizar os custos de produção ou o impacto da atividade no meio ambiente.

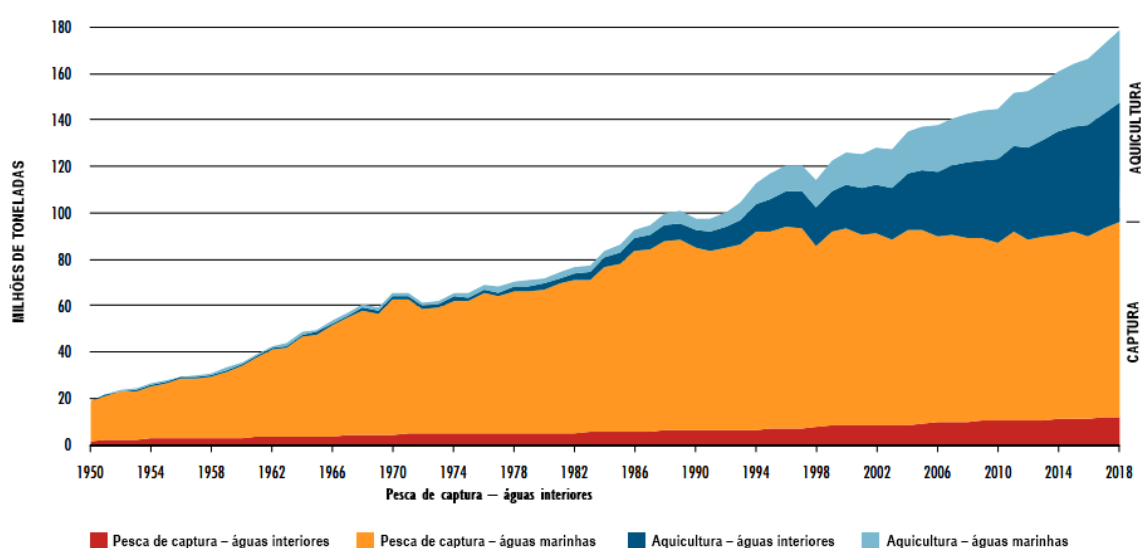


Figura 1. Pesca de captura e produção de aquicultura mundial (FAO, 2020).

Há grande demanda para elaboração de dietas equilibradas nutricionalmente e de baixo custo (Daniel, 2018). Assim, muitas fontes proteicas foram testadas e implementadas em dietas para organismos aquáticos, com destaque para o farelo de soja (Wang et al., 2020). No entanto, a utilização do farelo de soja em outros setores, como no mercado pet, assim como em produtos para alimentação humana, elevou seu custo de aquisição para aplicação em dieta de peixes (Silva et al., 2018; Vanelli et al., 2021).

O crescimento da indústria de etanol aumentou a disponibilidade dos coprodutos de sua matéria-prima e abriu novas possibilidades para a indústria de rações (Silva e Castañeda-Ayarza, 2021). A ampla diversidade de coprodutos das indústrias de etanol podem incluir os grãos úmidos de destilaria (*wet distillers grains*, WDG), grãos secos de destilaria (*distillers dried grains*, DDG), grãos secos de destilaria com solúveis (*distillers' dried grains with solubles*, DDGS) e grãos secos de destilaria com solúveis de alta proteína (*high protein distillers dried grains with solubles*, HP-DDGS). Além dessa variação, os coprodutos da indústria de etanol podem apresentar especificidades pelas diferentes matérias-primas empregadas.

Os principais grãos utilizados para fabricação do etanol podem incluir o milho e sorgo, sendo que o DDGS de milho apresenta teor de fibra bruta superior ao DDGS de sorgo. No entanto, o teor de proteína bruta é mais elevado no DDGS de sorgo em comparação com o DDGS de milho (Ayadi et al., 2012) (Tabela 1). Durante o processo de fermentação, o nível de proteína pode aumentar cerca de três vezes em relação ao conteúdo de proteína do grão natural (Montoya-Camacho et al., 2019). No entanto, a composição do DDGS depende da fonte e da qualidade dos grãos, assim como fatores relacionados com o seu processamento industrial (Böttger e Südekum, 2018; Liu, 2009; Welker et al., 2014). De forma geral, apresenta teores de aminoácidos inferiores ao convencional farelo de soja, no entanto se apresenta com maior teor de gordura quando comparo ao mesmo produto (Tabela 1).

Tabela 1. Composição proximal para grãos secos de destilaria com solúvel (DDGS) de diferentes fontes de grãos (milho e sorgo) e do farelo de soja (g/kg de matéria natural).

Parâmetro	DDGS de milho ¹	DDGS Sorgo ¹	Farelo de Soja ²
Matéria seca	918	912,0	889,0
Proteína bruta	264	261,0	435,0
Gordura	79,9	92,6	9,0
Fibra em detergente neutro	293,0	276	113,0
Aminoácidos			
Arginina	13,5	11,9	34,1
Histidina	8,5	6,6	22,4
Isoleucina	10,6	11,7	24,0
Leucina	32,7	30,6	31,1
Lisina	10,5	10,3	24,0
Metionina	5,4	4,2	71,0
Fenilalanina	13,1	11,9	19,8
Treonina	10,3	10,2	17,8
Valina	15,1	16,2	18,8
Alanina	20,5	20,5	17,6
Ácido aspártico	17,6	17,0	35,6
Cisteína	5,2	4,1	7,4
Ácido glutâmico	37,9	34,2	80,0
Glicina	11,7	10,2	18,2
Prolina	20,4	17,6	20,1
Serina	11,5	10,6	23,5
Tirosina	9,9	7,7	23,0

¹ Park, Ragland e Adeola (2021); ² Leung e Kiarie (2020).

O DDGS é um subproduto naturalmente de baixa quantidade de amido, em média de 1,3% (Han e Liu, 2010) e podendo comprometer a flutuabilidade das rações quando em quantidade superior a 20% de DDGS (Kannadhasan et al., 2010). Também possui baixos níveis de lisina e metionina, sendo necessária sua suplementação, como observado em estudo realizado com o bagre do canal, *Ictalurus punctatus* (Robinson e Li, 2008). Possui altos níveis de celulose, hemicelulose e arabinosilanos que limitam sua inclusão em dietas para peixes (Jaworski et al., 2015). Assim, seu nível de inclusão em dietas foi estipulado em 30% (Khadr et al., 2018), podendo substituir até 50% da farinha de peixe sem efeito adverso sobre o desempenho de tilápia-do-Nilo (Herath et al., 2016).

Os níveis de inclusão de DDGS em dietas para tilápias é dependente dos níveis de inclusão de outros ingredientes da dieta, especialmente de origem animal, pois apresentam um perfil favorável de aminoácidos indispensáveis (IAA) para formulação de dietas peixes. Foi observado que a tilápia-do-Nilo (<3 g) pode ser alimentada com dieta contendo concentrações de até 45% de DDGS de milho sem efeitos negativo no crescimento, conversão alimentar ou composição corporal (Webster et al., 2016). No entanto, o estudo citato anteriormente fez uso de outro ingrediente proteico de origem animal, a farinha de subprodutos de aves (25%), e segundo os autores permitiu maior inclusão de DDGS à dieta. O baixo ganho de peso de peixes alimentados por dietas vegetais é geralmente atribuído aos fatores antinutricionais presentes nos ingredientes vegetais, particularmente os PNAs, que são concentrados no processo de obtenção do etanol (Coyle et al., 2004).

3. Fibra alimentar e sua relação com o desempenho dos peixes

A fibra alimentar é proveniente de polissacarídeos não amiláceos (PNAs), oligossacarídeos, lignina e gomas (Dhingra et al., 2012). Os PNAs são compostos de celulose, hemicelulose (Arabinosilanos, β -glucanos de ligação mista, mananos, galactomananos e glucomananos) e polissacarídeos pécticos (Arabinas, galactanas e arabinogalactanas). Os PNAs são indigestíveis pelos animais monogástricos, que não possuem enzimas como xilanases e β -glucanases de origem endógena para hidrolisar as longas cadeias de polissacarídeos (Krogdahl et al., 2005b). Assim, os PNAs possuem baixo ou nenhum valor nutricional para esses animais (Maas et al., 2020b; Sinha et al., 2011).

Existe outra classificação dos PNAs que se refere diretamente a sua solubilidade (Francis et al., 2001). Os PNAs solúveis são representados, principalmente por

arabinosilanos e β - glucanos de ligação mista da fração solúvel da hemicelulose. Esses, são responsáveis pelas propriedades antinutricionais dos PNAs, aumentando a viscosidade intestinal dos animais (Sinha et al., 2011). Os PNAs insolúveis têm, por exemplo, a celulose que gera impermeabilidade da parede celular e a diminuição da digestibilidade de energia, açúcares e proteínas (Sinha et al., 2011). Ambos PNAs, solúveis e insolúveis, possuem consequências diretas aos peixes, quando presente em concentrações elevadas.

Ingredientes ricos em PNAs reduzem a digestibilidade dos nutrientes e comprometem o desempenho produtivo dos peixes (Maas et al., 2019), aumentam a viscosidade intestinal, prejudicando a atividade das enzimas digestivas (Hassaan et al., 2019a). No entanto, a digestibilidade dos PNAs também é dependente dos ingredientes, variando de 17,1% no farelo de trigo a 31,7% na polpa cítrica, em dietas para tilápia-do-Nilo (Maas et al., 2019). Isso ocorre devido à diferença na composição de celulose, arabinosilanos, β -glucanos com ligações mistas, mananos, galactomananos, glucomananos, arabinos, galactanos e arabinogalactanos, que atuam de forma distinta sobre a utilização dos nutrientes (Sinha et al., 2011). Por esse motivo, o uso de carboidrases exógenas podem anular o efeito negativo causado pelos PNAs da dieta, resultando em melhor aproveitamento da dieta e ganho de peso dos animais.

4. Efeito das carboidrases exógenas na dietas para peixes

As carboidrases comercializadas mundialmente são representadas, principalmente pelas enzimas xilanase e glucanase, pois realizam a hidrólise dos arabinosilanos, celulose e β -glucanos de ligação mista nos alimentos vegetais, promovendo a biodisponibilidade de minerais e digestibilidade de outros nutrientes na dieta, impactando na melhoria do valor nutricional dos alimentos vegetais ricos em PNAs (Castillo e Gatlin, 2015).

A endo-1,4- β -xilanasas ou endoxilanasas são as enzimas que degradam os arabinoxilanos da parede celular dos grãos de cereais, gerando os arabinoxilooligosacarídeos (AXOs). A atividade dessas enzimas é mensurada em unidades de xilanasas ativa (TXU), em que uma unidade de xilanasas ativa é definida como a quantidade de endoxilanasas necessária para a liberação de 5 μmol de xilose por minuto proveniente de uma solução tampão contendo 10 g L⁻¹ de arabinoxilanos em pH 3,5 a 40°C, sendo que sua atividade normalmente é mensurada na medida padrão de TXU kg⁻¹ da dieta (Castillo e Gatlin, 2015). Já a enzima endo-1,4- β -glucanasas ou endoglucanasas hidrolisando as ligações glicosídicas β 1,4 da celulose e β -glucanos de ligação mista para produzir o substrato acessível às exo-1,4- β -glucanasas e 1,4- β -glucosídeos e gerar monômeros de β -glicose (Sinha et al., 2011; Godoy et al., 2018). A atividade da β -glucanasas é mensurada em unidades de β -glucanasas ativa (TGU), em que uma unidade de β -glucanasas ativa é definida como a quantidade de endoglucanasas necessária para a liberação de 1 μmol de glicose por minuto de uma solução tampão contendo 7,14 g L⁻¹ de β -glucanos em pH 3,5 a 40°C, mensurada na medida padrão de TGU kg⁻¹ da dieta (Castillo e Gatlin, 2015).

Concentrações elevadas de PNAs dietético e uso de enzimas exógenas promovem alterações fisiológicas adaptativas em tilápia. Essas alterações podem ser o aumento do comprimento intestinal para promover melhor digestão e captação de nutrientes (El-Husseiny et al., 2017; Hassaan et al., 2019a) ou maior atividade de enzimas digestivas endógenas, que pode acontecer em função da redução do tamanho molecular dos PNAs, com liberação de nutrientes e redução da viscosidade da dieta (Hassaan et al., 2019a). Além disso, a composição química da digesta também pode alterar as composições da microflora no intestino, uma vez que existem diferentes requisitos de crescimento e preferências de substrato pelas espécies bacterianas (Apajalahti, 2005). Por exemplo, os

PNAs dietético diminuem consideravelmente as populações de bactérias benéficas, enquanto aumentam as populações intestinais de bactérias patogênicas pelo acúmulo de nutrientes não digeridos ou não absorvidos no intestino (Mathlouthia et al., 2002).

Alterações no microbioma intestinal também podem ocorrer quando ingredientes mais fibrosos estão presentes juntamente com enzimas exógenas. Particularmente, o uso de carboidrases exógenas aumenta a predominância da bactéria *C. ghonii* na microbiota intestinal de tilápias (Adeoye et al., 2016). O uso de xilanase estimula o crescimento de *Lactobacilos* e deprime o crescimento de *E. coli* e *Aeromonas*, consideradas bactérias patogênicas com potencial para causar infecção entérica em carpa (*Cyprinus carpio*) (Jiang et al., 2014). Da mesma forma, a degradação dos arabinoxilanos em dieta suplementada com xilanase disponibiliza o substrato necessário para fermentação bacteriana por *Lactobacilos* e *Bifidobacterias* (Van Laere et al., 2000).

Em síntese, o uso de carboidrases exógenas possui reflexo direto no desempenho dos peixes (Hlophe-Ginindza et al., 2016). A quebra dos componentes da parede celular dos alimentos de origem vegetal melhora a digestibilidade dos nutrientes da dieta (Hlophe-Ginindza et al., 2016; Tahir et al., 2008).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adeoye, A.A., Jaramillo-Torres, A., Fox, S.W., Merrifield, D.L., Davies, S.J., 2016. Supplementation of formulated diets for tilapia (*Oreochromis niloticus*) with selected exogenous enzymes: Overall performance and effects on intestinal histology and microbiota. *Anim. Feed Sci. Technol.* 215, 133–143. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.03.002>
- Apajalahti, J., 2005. Comparative Gut Microflora , Metabolic Challenges,

- and Potential Opportunities OF GASTROINTESTINAL. *Poult. Sci.* 14, 444–453. <https://doi.org/10.1093/japr/14.2.444>
- Ayadi, F.Y., Rosentrate, K.A., Muthukumar, K., 2012. Alternative protein sources for aquaculture feeds. *J. Aquac. Feed Sci. Nutr.* 4, 1–26. <https://doi.org/10.3923/joafsn.2012.1.26>
- Böttger, C., Südekum, K.H., 2018. Review: protein value of distillers dried grains with solubles (DDGS) in animal nutrition as affected by the ethanol production process. *Anim. Feed Sci. Technol.* 244, 11–17. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.07.018>
- Brito, J.M., Wernick, B., da Cruz, T.P., Furuya, L.B., Miranda, J.A.G., Rudnik, A.R., Furuya, V.R.B., Furuya, W.M., 2021. Top-spraying xylanase and β -glucanase improves digestible energy content and optimizes protein and amino acids digestibility in high-fiber diet fed to growing Nile tilapia. *Anim. Feed Sci. Technol.* 278, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.114991>
- Castillo, S., Gatlin, D.M., 2015. Dietary supplementation of exogenous carbohydrase enzymes in fish nutrition: A review. *Aquaculture* 435, 286–292. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.10.011>
- Cho, J.H., Kim, I.H., 2011. Fish meal - nutritive value. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl)*. 95, 685–692. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2010.01109.x>
- Coyle, S.D., Mengel, G.J., Tidwell, J.H., Webster, C.D., 2004. Evaluation of growth, feed utilization, and economics of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* \times *Oreochromis aureus*, fed diets containing different protein sources in combination with distillers dried grains with solubles. *Aquac. Res.* 35, 365–370.

- Daniel, N., 2018. A review on replacing fish meal in aqua feeds using plant protein sources. *Int. J. Fish. Aquat. Stud.* 6, 164–179.
- Dhingra, D., Michael, M., Rajput, H., Patil, R.T., 2012. Dietary fibre in foods: A review. *J. Food Sci. Technol.* 49, 255–266. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0365-5>
- El-Husseiny, O., El-Haroun, E.R., Goda, A., Hassan, I., Woodward, B., Suloma, A., 2017. Effects of lysine and tryptophan supplementations in plant protein-based diets on the performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *J. Appl. Aquac.* 4438, 1–11. <https://doi.org/10.1080/10454438.2017.1364684>
- FAO, 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture. Sustainability in action. 2020 - SOFIA 2020, Rome. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>
- Francis, G., Makkar, H.P., Becker, K., 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture* 199, 197–227. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00526-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00526-9)
- Gatlin, D.M., Barrows, F.T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T.G., Hardy, R.W., Herman, E., Hu, G., Kroghdahl, Å., Nelson, R., Overturf, K., Rust, M., Sealey, W., Skonberg, D., Souza, E.J., Stone, D., Wilson, R., Wurtele, E., 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: A review. *Aquac. Res.* 38, 551–579. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01704.x>
- Godoy, M.G., Amorim, G.M., Barreto, M.S., Freire, D.M.G., 2018. Agricultural Residues as Animal Feed, in: *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*. Elsevier, pp. 235–256. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-63990-5.00012-8>

- Han, J., Liu, K., 2010. Changes in composition and amino acid profile during dry grind ethanol processing from corn and estimation of yeast contribution toward DDGS proteins. *J. Agric. Food Chem.* 58, 3430–3437. <https://doi.org/10.1021/jf9034833>
- Hartviksen, M., Bakke, A.M., Vecino, J.G., Ringø, E., Krogdahl, A., 2014. Evaluation of the effect of commercially available plant and animal protein sources in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): digestive and metabolic investigations. *Fish Physiol Biochem* 40, 1621–1637. <https://doi.org/10.1007/s10695-014-9953-4>
- Hassaan, M.S., Mohammady, E.Y., Soaudy, M.R., Abdel Rahman, A.A.S., 2019a. Exogenous xylanase improves growth, protein digestibility and digestive enzymes activities in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fed different ratios of fish meal to sunflower meal. *Aquac. Nutr.* 25, 841–853. <https://doi.org/10.1111/anu.12903>
- Herath, S.S., Haga, Y., Satoh, S., 2016. Effects of long-term feeding of corn co-product-based diets on growth, fillet color, and fatty acid and amino acid composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 464, 205–212. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.06.032>
- Hlophe-Ginindza, S.N., Moyo, N.A.G., Ngambi, J.W., Ncube, I., 2016. The effect of exogenous enzyme supplementation on growth performance and digestive enzyme activities in *Oreochromis mossambicus* fed kikuyu-based diets. *Aquac. Res.* 47, 3777–3787. <https://doi.org/10.1111/are.12828>
- Jaworski, N.W., Lærke, H.N., Bach Knudsen, K.E., Stein, H.H., 2015. Carbohydrate composition and in vitro digestibility of dry matter and nonstarch polysaccharides in corn, sorghum, and wheat and coproducts from these grains¹. *J. Anim. Sci.* 93, 1103–1113.

- <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8147>
- Jiang, T.T., Feng, L., Liu, Y., Jiang, W.D., Jiang, J., Li, S.H., Tang, L., Kuang, S.Y., Zhou, X.Q., 2014. Effects of exogenous xylanase supplementation in plant protein-enriched diets on growth performance, intestinal enzyme activities and microflora of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. *Jian*). *Aquac. Nutr.* 20, 632–645. <https://doi.org/10.1111/anu.12125>
- Kannadhasan, S., Rosentrater, K.A., Muthukumarappan, K., Brown, M.L., 2010. Twin screw extrusion of DDGS-based aquaculture feeds. *J. World Aquacult. Soc.* 41, 1–15. <https://doi=10.1.1.1039.9029&rep=rep1&type=pdf>
- Khadr, M.M.E.A., Shehata, S.A., Ebrahim, M.S., Al-marakby, K.M., 2018. Influence of distiller's dried grains with solubles on growth, feed utilization and economic efficiency of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diets. *Zagazig J. Agric. Res.* 45, 1021–1029. <https://doi.org/10.21608/zjar.2018.49154>
- Kim, Y., Mosier, N.S., Hendrickson, R., Ezeji, T., Blaschek, H., Dien, B., Cotta, M., Dale, B., Ladisch, M.R., 2008. Composition of corn dry-grind ethanol by-products: DDGS, wet cake, and thin stillage. *Bioresour. Technol.* 99, 5165–5176. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.09.028>
- Krogdahl, Å., Hemre, G.I., Mommsen, T.P., 2005a. Carbohydrates in fish nutrition: Digestion and absorption in postlarval stages. *Aquac. Nutr.* 11, 103–122. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2004.00327.x>
- Leung, H., Kiarie, E.G., 2020. Standardized ileal digestibility of amino acids and apparent metabolizable energy in corn and soybean meal for organic broiler chicken production in Ontario. *Can. J. Anim. Sci.* 100, 447–454.

<https://doi.org/10.1139/cjas-2019-0166>

Liu, K.S., 2009. Effects of particle size distribution, compositional and color properties of ground corn on quality of distillers dried grains with solubles (DDGS). *Bioresour. Technol.* 100, 4433–4440. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.02.067>

Maas, R.M., Verdegem, M.C.J., Schrama, J.W., 2019. Effect of non-starch polysaccharide composition and enzyme supplementation on growth performance and nutrient digestibility in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquac. Nutr.* 25, 622–632. <https://doi.org/10.1111/anu.12884>

Maas, R.M., Verdegem, M.C.J., Stevens, T.L., Schrama, J.W., 2020a. Effect of exogenous enzymes (phytase and xylanase) supplementation on nutrient digestibility and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed different quality diets. *Aquaculture* 529, 735723. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735723>

Maas, R.M., Verdegem, M.C.J., Wiegertjes, G.F., Schrama, J.W., 2020b. Carbohydrate utilisation by tilapia: a meta-analytical approach. *Rev. Aquac.* 12, 1851–1866. <https://doi.org/10.1111/raq.12413>

Mathlouthia, N., Malleta, S., Saulnierb, L., Quemenerb, B., Larbiera, M., 2002. Original article Effects of xylanase and -glucanase addition on performance, nutrient digestibility, and physico-chemical conditions in the small intestine contents and caecal microflora of broiler chickens fed a wheat and barley-based diet. *Anim. Res.* 51, 395–406. <https://doi.org/10.1051/animres>

Montoya-Camacho, N., Marquez-Ríos, E., Castillo-Yáñez, F.J., Cárdenas López, J.L., López-Elías, J.A., Ruíz-Cruz, S., Jiménez-Ruíz, E.I., Rivas-Vega, M.E., Ocaño-Higuera, V.M., 2019. Advances in the use of

- alternative protein sources for tilapia feeding. *Rev. Aquac.* 11, 515–526.
<https://doi.org/10.1111/raq.12243>
- NRC- National Research Council, 2011. *Nutrient Requirements of fishes and shrimps*. National Academic Press, Washington, D.C., 20001st ed. National Academy of Sciences, Washington, DC.
- Park, C.S., Ragland, D., Adeola, O., 2021. Digestibility of amino acids in pigs fed distillers dried grains with solubles derived from corn, sorghum, and triticale. *Can. J. Anim. Sci.* 101, 224–233.
<https://doi.org/10.1139/cjas-2020-0076>
- Peixe BR, 2021. ANUÁRIO 2021 Peixe BR da Piscicultura. Associação Brasileira da Piscicultura, São Paulo, SP.
- Robinson, E.H., Li, M.H., 2008. Replacement of soybean meal in channel catfish, *ictalurus punctatus*, diets with cottonseed meal and distiller's dried grains with solubles. *J. World Aquac. Soc.* 39, 521–527.
<https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2008.00190.x>
- Silva, A.L. da, Castañeda-Ayarza, J.A., 2021. Macro-environment analysis of the corn ethanol fuel development in Brazil. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 135. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110387>
- Silva, F. de O., Miranda, T.G., Justo, T., Frasso, B. da S., Conte-Junior, C.A., Monteiro, M., Perrone, D., 2018. Soybean meal and fermented soybean meal as functional ingredients for the production of low-carb, high-protein, high-fiber and high isoflavones biscuits. *Lwt* 90, 224–231.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.035>
- Sinha, A.K., Kumar, V., Makkar, H.P.S., De Boeck, G., Becker, K., 2011. Non-starch polysaccharides and their role in fish nutrition - A review. *Food Chem.* 127, 1409–1426.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.042>

- Tahir, M., Saleh, F., Ohtsuka, A., Hayashi, K., 2008. An effective combination of carbohydrases that enables reduction of dietary protein in broilers: Importance of hemicellulase. *Poult. Sci.* 87, 713–718. <https://doi.org/10.3382/ps.2007-00340>
- Van Laere, K.M.J., Hartemink, R., Bosveld, M., Schols, H.A., Voragen, A.G.J., 2000. Fermentation of plant cell wall derived polysaccharides and their corresponding oligosaccharides by intestinal bacteria. *J. Agric. Food Chem.* 48, 1644–1652. <https://doi.org/10.1021/jf990519i>
- Vanelli, K., de Oliveira, A.C.F., Sotomaior, C.S., Weber, S.H., Costa, L.B., 2021. Soybean meal and poultry offal meal effects on digestibility of adult dogs diets: Systematic review. *PLoS One* 16, 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249321>
- Wang, L., Wang, J., Lu, K., Song, K., Mai, K., Zhang, C., 2020. Total replacement of fish meal with soybean meal in diets for bullfrog (*Lithobates catesbeianus*): Effects on growth performance and gut microbial composition. *Aquaculture* 524, 735236. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735236>
- Webster, C.D., Rawles, S.D., Koch, J.F., Thompson, K.R., Kobayashi, Y., Gannam, A.L., Twibell, R.G., Hyde, N.M., 2016. Bio-Ag reutilization of distiller's dried grains with solubles (DDGS) as a substrate for black soldier fly larvae, *Hermetia illucens*, along with poultry by-product meal and soybean meal, as total replacement of fish meal in diets for Nile tilapia. *Aquac. Nutr.* 22, 976–988. <https://doi.org/10.1111/anu.12316>
- Welker, T.L., Lim, C., Barrows, F.T., Liu, K., 2014. Use of distiller's dried grains with solubles (DDGS) in rainbow trout feeds. *Anim. Feed Sci.*

- Technol. 195, 47–57. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.05.011>
- Xie, M., Xie, Y., Li, Y., Zhou, W., Zhang, Z., Yang, Y., Erik, R., Ran, C., Zhou, Z., 2021a. The effects of fish meal replacement with ultra-micro ground mixed plant proteins (uPP) in practical diet on growth , gut and liver health of common carp (*Cyprinus carpio*) 19. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100558>
- Xie, M., Zhou, W., Xie, Y., Li, Y., Zhang, Z., Yang, Y., Erik, R., Ran, C., Zhou, Z., 2021b. Effects of *Cetobacterium somerae* fermentation product on gut and liver health of common carp (*Cyprinus carpio*) fed diet supplemented with ultra-micro ground mixed plant proteins 543. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736943>
- Zaibel, I., Arnon, S., Zilberg, D., 2021. Treated municipal wastewater as a water source for sustainable aquaculture: A review. *Rev Aquac* 14, 362–377. <https://doi.org/https://onlinelibrary-wiley.ez79.periodicos.capes.gov.br/doi/epdf/10.1111/raq.12602>

OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a suplementação com complexo enzimático xilanase e β -glucanases em dietas vegetais contendo farelo de soja ou a mistura de farelo de soja com grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) de sorgo para juvenis de tilápia-do-Nilo.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o desempenho produtivo e composição corporal de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas vegetais contendo farelo de soja ou a mistura de farelo de soja e grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) de sorgo suplementadas ou não com o complexo enzimático xilanase e β -glucanases;
- Avaliar as respostas nos parâmetros bioquímicos do sangue de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas vegetais contendo farelo de soja ou a mistura de farelo de soja e grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) de sorgo suplementadas ou não com o complexo enzimático xilanase e β -glucanases;
- Avaliar às enzimas digestivas endógenas: protease, amilase e lipase de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas vegetais contendo farelo de soja ou a mistura de farelo de soja e grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) de sorgo suplementadas ou não com o complexo enzimático xilanase e β -glucanases;
- Determinar os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, energia bruta, proteína bruta, extrato etéreo e cinzas de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas vegetais contendo farelo de soja ou a mistura de farelo de

soja e grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) de sorgo suplementadas ou não com o complexo enzimático xilanase e β -glucanases;

- Avaliar a composição do microbioma intestinal de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas vegetais contendo farelo de soja ou a mistura de farelo de soja e grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) de sorgo suplementadas ou não com o complexo enzimático xilanase e β -glucanases.

CAPÍTULO II – ARTIGO CIENTÍFICO

Artigo redigido conforme as normas de publicação da Aquaculture

Dietas à base de farelo de soja ou da mistura de farelo de soja e grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) de sorgo com xilanase/ β -glucanase sobre o desempenho produtivo, enzimas digestivas, digestibilidade e microbioma intestinal de tilápia-do Nilo

RESUMO

Objetivou-se avaliar dietas contendo farelo de soja (FS) ou a mistura de farelo de soja com grãos secos da destilaria com solúveis (FS/DDGS) de sorgo suplementadas ou não com o complexo enzimático de xilanase e β -glucanase (XB) para juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) sob desempenho, digestibilidade, parâmetros sanguíneos, atividade de enzimas digestivas e microbioma intestinal. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 2 x 2. Os peixes (n = 240; peso inicial $11,33 \pm 0,3$ g) foram alimentados com dietas à base de farelo de soja (FS) ou à base da mistura entre farelo de soja e grãos secos de destilaria com solúveis de sorgo (FS/DDGS). Ambas as dietas foram suplementadas ou não com 0,2 g/kg de XB (1228 TXU/kg de endo-1,4 β -xilanase e 514 TGU/kg de endo-1,4- β -glucanase). Para as variáveis de desempenho, houve interação entre fonte de proteína e XB apenas para índice viscerossomático. Os peixes alimentados com a dieta FS sem XB apresentaram menor consumo (-5,56%), maior eficiência alimentar (+6,98%) e taxa de eficiência proteica (+7,75%) em relação aos que consumiram as dietas FS/DDGS sem XB (P < 0,05). A suplementação de XB aumentou a taxa de eficiência proteica em 4,35% (P = 0,018). Não ocorreu interação entre fonte e XB para composição corporal, atividade de enzimas digestivas e digestibilidade, em que os peixes alimentados com a dieta FS apresentaram maior atividade da enzima protease, resultando em maior digestibilidade da proteína bruta dietética e conseqüentemente, maior deposição de proteína corporal (P < 0,05), em comparação aos peixes que receberam a dieta FS/DDGS. A XB promoveu maior deposição de gordura corporal (+6,78%; P = 0,048) em comparação aos peixes que consumiram a dieta sem adição de XB. Os parâmetros bioquímicos plasmáticos dos peixes não foram influenciados pelos tratamentos avaliados (P > 0,05). A adição de XB promoveu aumento na diversidade de táxons bacterianos e, particularmente em peixes que receberam dieta com DDGS. A inclusão de DDGS também resultou em aumento nos filos de bactéria *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* e *Proteobacteria*. Conclui-se que a mistura de Farelo de soja e DDGS de sorgo equivale ao uso de farelo soja em dietas para juvenis de tilápia-do-Nilo, sem prejuízo ao desempenho dos animais. A suplementação de XB promove melhor aproveitamento da proteína e energia da dieta que contém mistura de farelo de soja e DDGS de sorgo.

Palavras-chave: coproduto do etanol, carboidratos, digestibilidade, microbiota, tilápia-do-Nilo

1. Introdução

O desenvolvimento de uma piscicultura sustentável impulsiona os estudos para substituição de ingredientes de alto custo, não renováveis ou de alto impacto ambiental (Agboola et al., 2021; Cavrois-Rogacki et al., 2022). No entanto, os potenciais ingredientes alternativos podem apresentar fatores antinutricionais que afetam o desempenho dos animais (Sinha et al., 2011). Nesses casos é necessário dispor de estratégias para assegurar o melhor aproveitamento pelos peixes dos ingredientes alternativos à dieta (Maas et al., 2020).

Os grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) tornaram-se ingredientes importantes na produção de dietas para animais por apresentarem alto conteúdo nutricional de proteína e baixo custo de obtenção pelas indústrias produtoras de rações (Buenavista et al., 2021). Por se tratar de um coproduto da produção de etanol a partir de grãos de cereais (Ayadi et al., 2012), os nutrientes podem ser concentrados cerca de três vezes mais do que no grão “in natura” (Montoya-Camacho et al., 2019). No entanto, os DDGS possuem elevados teores de fibra (9,7%), limitando sua utilização em dietas para tilápias a aproximadamente 20% de inclusão (Herath et al., 2016; Khadr et al., 2018). O baixo desempenho dos peixes alimentados com dietas com elevadas proporções de DDGS é atribuído a presença de polissacarídeos não amiláceos (PNAs) (Coyle et al., 2004), com altos níveis de celulose e hemicelulose, como arabinosilanos (Kim et al., 2008). A principal consequência da presença de PNAs é o aumento da viscosidade intestinal que prejudica a atividade das enzimas digestivas (Hassaan et al., 2019a).

Foi demonstrado que o uso de carboidrases melhora o crescimento da *O. mossambicus* (Hlophe-Ginindza et al., 2016) e digestibilidade de nutrientes em *O. niloticus* (Brito et al., 2021) alimentadas com dietas com elevado teor de fibra. A melhora no crescimento é atribuída a hidrólise dos componentes fibrosos, que liberam nutrientes para digestão e posterior absorção (Hlophe-Ginindza et al., 2016). Isso ocorre porque as tilápias não digerem os PNAs presentes nos alimentos vegetais (Krogdahl et al., 2005a). A liberação desses nutrientes no lúmen facilita a ação das enzimas endógenas, que proporciona melhor digestibilidade e favorece a proliferação de bactérias benéficas à saúde intestinal (El-ashry et al., 2021; Raza et al., 2019). O DDGS de sorgo apresenta maior teor de proteína bruta que o DDGS de milho, e tem sido testado em dietas para aves e suínos (Corassa et al., 2019; Osho et al., 2019; Ray et al., 2021).

O objetivo com este estudo foi avaliar a utilização de dietas vegetais contendo farelo de soja ou a mistura de farelo de soja e grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) de sorgo suplementadas ou não com o complexo enzimático xilanase e a β -glucanases para juvenis de tilápia-do-Nilo, sob o desempenho, composição corporal, parâmetros sanguíneos, atividade de enzimas digestivas, digestibilidade e microbioma intestinal de juvenis de tilápia-do-Nilo.

2. Material e Métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Aquicultura e Animais Silvestres da Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, Brasil e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentos com Animais da Universidade Estadual de Ponta Grossa (Protocolo nº 132808/2019).

2.1. *Delineamento e dietas experimentais*

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 2 x 2. Os peixes foram alimentados com dietas à base de farelo de soja (FS) ou à base da mistura entre farelo de soja e grãos secos de destilaria com solúveis de sorgo (FS/DDGS), ambas as dietas foram suplementadas ou não com 0,2 g/kg de complexo enzimático contendo xilanase e β -glucanase (XB), apresentando valores médios de 1228 TXU/kg de endo-1,4 β -xilanase e 514 TGU/kg de endo-1,4- β -glucanase. Nesse sentido, os tratamentos foram: dieta à base de farelo de soja sem XB, dieta à base de farelo de soja com XB, dieta à base da mistura entre farelo de soja e DDGS de sorgo sem XB e dieta à base da mistura entre farelo de soja e DDGS de sorgo com XB.

Foram adicionadas às dietas o óxido de cromo III (Cr_2O_3) como marcador de digestibilidade. Na tabela 1 encontram-se os ingredientes e a composição química analisada das dietas formuladas para atender as exigências nutricionais de tilápias (NRC, 2011). As dietas foram misturadas, moídas e extrusadas na Universidade Federal do Paraná, campus Palotina, Paraná, Brasil. A moagem foi realizada em moinho centrífugo em peneiras de 0,8 mm (Viera MC 680B, Tatuí, SP, Brasil), extrusadas em extrusora de rosca simples com matriz de 3 mm com um furo, três facas com rotação de 40/min e temperatura de 105°C (Exteec EX30, Ribeirão Preto, SP, Brasil) e secas em estufa de ventilação forçada de ar (HexisHX00, Jundiaí, SP, Brasil) 55°C, durante 24 horas. Após secagem e resfriamento, o complexo enzimático XB foi adicionado a duas das quatro dietas e todas elas receberam a inclusão do óleo de soja.

Para as dietas com inclusão de XB, a suplementação ocorreu com a inclusão de 0,20 g/kg de xilanase e β -glucanase líquida (Natugrain®, Basf, Ludwigshafen am Rhein, Alemanha). Para tal, foi preparada uma solução inicial na qual 10 ml de Natugrain® foram diluídos em 990 ml de água destilada. Foram usados 20 ml da solução inicial com

adicional de 300 ml de água destilada para aspersão em cada quilograma de ração. Em seguida, a ração foi seca em estufa com circulação forçada de ar a 55° C por 2 horas.

As amostras das dietas para realização das análises de atividade enzimática foram enviadas ao Laboratório de Análises CBO (Valinhos, SP, Brasil). A unidade de endoxilânase (TXU) foi definida como a quantidade de enzima que liberou cinco micro moles de açúcar redutor, medido como um equivalente de xilase, por minuto de uma solução contendo 1 g de arabinóxilano por 100 mL em pH 3,5 e 40°C. Finalmente, a unidade de endoglucanase (TGU) foi definida como a quantidade de enzima que libera um micro mole de açúcar redutor, medido como um equivalente de glicose, por minuto de uma solução contendo 0,714 g de β -glucana por 100 mL em pH 3,5 e 40°C (Bavaresco et al., 2020).

2.2. Peixes e condições experimentais

O total de 1000 alevinos masculinizados de tilápia-do-Nilo foram adquiridos da piscicultura Piracema (Maringá, PR, Brasil). Os peixes foram aclimatados por um período de 15 dias em um tanque com volume útil de 250 L, mantido sob temperatura controlada ($28 \pm 0,3^\circ\text{C}$) e aeração constante. Os animais foram alimentados até a saciedade aparente com dieta comercial micro extrudada (3 mm) com 42% de proteína bruta e 6% de extrato etéreo (Algomix®, Toledo, PR, Brasil) quatro vezes ao dia, até atingirem peso corporal médio de 11 g. O total de 80 peixes da população inicial foi eutanasiada por overdose de anestésico (500 mg/L de MS222, Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, EUA) para determinar a composição corporal total inicial

Após jejum de 24 horas, 240 peixes com peso médio de $11,33 \pm 0,3$ g foram distribuídos aleatoriamente em 20 caixas de polietileno com volume útil de 60 litros em sistema de recirculação (1,94 L/min/caixas). O sistema de recirculação foi equipado com

caixa de decantação, filtro biológico e filtro UV, com aeração por meio de soprador, para manter o oxigênio dissolvido acima de 5 mg/L e sistema de aquecimento com termostato regulado para manter a temperatura em $28 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Durante nove semanas, os peixes foram alimentados quatro vezes ao dia (8h, 11h, 14h e 17h) até saciedade aparente. Diariamente, após a última refeição do dia, os aquários foram sifonados manualmente para retirada das fezes, com renovação de 30% da água do tanque. A temperatura da água ($28 \pm 0,5^\circ\text{C}$) e o oxigênio dissolvido (5,5 mg/L) foram medidos diariamente por meio de oxímetro digital portátil (YSI F-1055, Blumenau, SC, Brasil). O pH ($7,00 \pm 0,23$) foi determinado semanalmente em pH-metro de bancada (TEC - 2, Piracicaba, SP, Brasil), sendo a amônia ($0,003 \pm 0,01$ mg/L), nitrito ($0,003 \pm 0,01$ mg/L), nitrato ($0,006 \pm 0,01$ mg/L) determinados usando o espectrokit (ALFAKIT, Florianópolis, SC, Brasil).

2.3. Coleta e análises de amostras para digestibilidade

As fezes foram coletadas diariamente, às 7h da manhã, por sifonagem manual com mangueira de silicone fixada em peneira, do 15º dia após o início até o final do experimento. As fezes foram armazenadas em freezer (-20°C) para posterior análise. Para o preparo das amostras para a análise centesimal, as fezes foram secas em estufa de ventilação forçada por 48 horas, maceradas em almofariz e pistilo, e as escamas retiradas com pinça. Em seguida, as amostras foram moídas em moinho Cyclotec (Cyclotec 1093 Sample Mill, Tecator AB Box 70, Hoëganäs, Suécia) para posterior análises laboratoriais. Foram também calculados os valores de energia digestível das dietas subtraindo a energia bruta fecal da energia bruta analisada da dieta.

Os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes nas dietas foram calculados de acordo com o método padrão (Maynard e Loosli, 1969):

$$CDA = 100 - \left[100 \left(\frac{\%Cr_2O_{3d}}{\%Cr_2O_{3f}} \right) x \left(\frac{\%N_f}{\%N_d} \right) \right]$$

CDA = Coeficiente de digestibilidade aparente;

Cr₂O_{3d} = % de óxido de cromo na dieta;

Cr₂O_{3f} = % de óxido de cromo nas fezes;

N_d = Nutrientes na dieta;

N_f = Nutrientes nas fezes.

2.4. Coleta e análise de amostras para composição corporal

Ao final do período experimental, três peixes de cada unidade experimental (n=15) foram eutanasiados com overdose de anestésico (500 mg/L) MS22 (Metanossulfonato de tricaína, Sigma-Aldrich, tricaine 98%, MO, USA), congelados a -20°C para então serem triturados em moedor de carne até obtenção de uma massa homogênea, seca em estufa de ventilação forçada a 55°C por 48 horas e moídas com auxílio de gral e pistilo. As análises de composição química corporal foram realizadas de acordo com os métodos da *Association of Official Analytical Chemists - AOAC* (1990). O teor de matéria natural (MN) foi determinado secando as amostras por pelo menos 4 h a 105°C até peso constante (n°. 925.09). O teor de cinzas por incineração utilizando forno mufla durante 4 h a 550°C (n°. 942.05). Proteína bruta (N × 6,25) foi analisado pelo método Kjeldahl. O extrato etéreo foi medido por extração de éter de petróleo em aparelho do tipo Soxhlet (n°. 920.39).

2.5. Coleta e análises de amostra para parâmetros bioquímicos séricos

Dois peixes de cada unidade experimental foram anestesiados com 100 mg/L de MS22. Foram coletados 2 mL por punção caudal com auxílio de seringas (2 mL) e agulhas

heparinizadas. Posteriormente, o sangue coletado foi centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos para obtenção de 100 µL de plasma dados da centrífuga. O plasma foi armazenado a -20°C até ser utilizado para realização das análises bioquímicas de proteínas totais (g/dL), glicose (mg/dL), triglicerídeos (mg/dL), colesterol total (mg/dL), fosfatase alcalina (U/L) e alanina aminotransferase (ALT, U/L). As análises foram realizadas por espectrofotometria em analisador bioquímico semiautomático (BIO-2000 IL, Barueri, SP, Brasil), utilizando kits comerciais (Labtest®, Lagoa Santa, MG, Brasil).

2.6. Coleta e análises de amostras para índices biométricos e atividade de enzimas digestivas

Três peixes de cada unidade experimental foram usados para a obtenção de índices somáticos, comprimento intestinal e intestino para avaliação de atividade de enzimas digestivas. Os peixes foram eutanasiados por overdose de anestésico (500 mg/L de MS22) após 12 horas de jejum. Em seguida os peixes foram individualmente pesados em balança de precisão de 0,01g (Shimadzu, AUW220, Toledo, PR, Brasil), mensurados o comprimento padrão e eviscerados sob gelo para determinar o peso do fígado e gordura intraperitoneal. O intestino foi estendido para mensuração do comprimento intestinal total, e a região anterior foi reservada para avaliação de atividade enzimática e a mediana para microbioma intestinal

Na avaliação da atividade de enzimas digestivas os tecidos do intestino foram homogeneizados em tampão (fosfato 10 mM / Tris 20 mM-pH 7,0) por um minuto (4°C) usando homogeneizador Potter Dounce. Em seguida as amostras foram centrifugadas a 5000 rpm por cinco minutos, e os sobrenadantes recolhidos para os ensaios enzimáticos. A atividade da amilase e da lipase foram estimadas por kits comerciais (Kit Labtest®). Já a atividade proteolítica inespecífica total foi medida usando o método de hidrólise de caseína (Kunitz, 1947), modificado por Walter (1984). A reação enzimática consistiu em

caseína a 1% em água (0,25 mL), Tris HCl 0,1 M pH 7 (0,25 mL) e amostra de enzima (0,1 mL), sendo incubadas durante 1 h a 3°C. A reação foi interrompida pela adição de 0,6 ml de ácido tricloroacético a 8%. Depois de manter por 1h a 2°C, as amostras foram centrifugadas a 1800 × g durante 10 min, e absorvância do sobrenadante foi registrada a 340 nm. A tirosina foi usada como padrão e uma unidade de atividade enzimática foi definida como a quantidade de enzima necessária para catalisar a formação de 1 µg de tirosina por 1 minuto.

2.8. Coleta e análises de amostras para microbioma intestinal

O conteúdo intestinal de três peixes da mesma unidade experimental foi coletado da região média do intestino e reunidos em pool, sendo armazenados em freezer (-20°C). O DNA foi extraído considerando duas repetições por tratamento, utilizando kit comercial, quantificado por NanoDrop®2000 (*Thermo Scientific*) e a integridade das moléculas foi avaliada pelo perfil eletroforético em gel de agarose 1% corado com intercalante comercial. Em seguida, um segmento de 250 bases da região hipervariável V4 do gene ribossomal 16S rRNA foi amplificado utilizando os primers universais 515F e 806R e as seguintes condições de PCR: 94°C por 3 min; 18 ciclos de 94°C por 45 seg., 50°C por 30 seg. e 68°C por 60 seg.; seguido de 72°C por 10 min. A partir destes amplificados foi construída a biblioteca metagenômica utilizando o kit comercial Nextera DNA Library Preparation Kit da Illumina®. Os amplificados foram reunidos em pools e posteriormente sequenciados no sequenciador MiSeq da Illumina®1. As leituras obtidas no sequenciador foram analisadas na plataforma QIIME (Quantitative Insights Into Microbial Ecology) (Caporaso et al., 2010), seguindo-se um fluxo de trabalho desde a remoção de sequências de baixa qualidade, filtração, remoção de quimeras e classificação taxonômica.

2.4. Variáveis de desempenho

Para avaliação de desempenho as seguintes variáveis foram calculadas:

Ganho de peso (GP, g) = Peso final – peso inicial;

Consumo relativo (CR, % peso corporal/dia) = {consumo de ração/[(peso corporal final + peso corporal inicial)/2] / dias do experimento × 100};

Eficiência alimentar (EA) = ganho de peso (g) / ingestão alimentar (g);

Taxa de eficiência proteica (TEP) = ganho em peso (g) / ingestão de proteína (g);

Índice lipossomático (ILS, %) = [100 × (peso da gordura intraperitoneal (g) / peso corporal (g))];

Índice hepatossomático (IHS, %) = [100 × (peso do fígado (g) / peso corporal (g))],

Índice viscerossomático (IVS, %) = [100 × (peso das vísceras (g) / peso corporal (g))]

e

Coeficiente intestinal (CI, %) = [(comprimento intestinal(cm) / comprimento total do peixe(cm)).

2.9. Análise estatística

Os pressupostos para análise de variância foram confirmados por meio de aplicação dos testes Shapiro-Wilk para distribuição normal e Levene para homogeneidade de variância. Os resultados de desempenho, composição corporal, índices biométricos, atividade de enzimas digestivas, digestibilidade e parâmetros bioquímicos do sangue foram então submetidos à ANOVA two-way (fonte de proteína x enzima) e as médias significativamente diferentes foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%. Os dados de energia digestível das dietas foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis complementado com o teste de comparação múltipla de Dunn ($p <$

0,05). As análises foram realizadas utilizando programa estatístico *Statistical Analysis System* (Versão, 9.0). Para a análise de microbioma, as sequências foram classificadas em gêneros bacterianos por meio do reconhecimento de unidades taxonômicas operacionais (OTUs), neste caso, a homologia (>97%) entre as sequências foram comparadas contra uma base de dados. Para comparar as sequências foi utilizada versão mais recente do banco de dados de sequências ribossomais SILVA database (Yilmaz et al., 2014). As médias referentes à biodiversidade entre tratamentos foram comparadas por meio do número de unidades taxonômicas operacionais observadas (OTUs), sendo submetida ao teste de Kruskal-Wallis complementado com o teste de comparação múltipla de Dunn ($p < 0,05$). Para avaliar as OTUs em comum entre os tratamentos, o diagrama de Venn foi gerado usando a plataforma web MetaCoMET (<http://probes.pw.usda.gov/MetaCoMET>) que analisa cada subconjunto definido pela união ou disjunção de grupo (Wang et al., 2016).

3. Resultados

3.1. Desempenho

Houve efeito de interação entre fonte proteica e suplementação enzimática somente para o IVS dos peixes, sendo este maior nos animais que receberam a dieta FS suplementada com XB ($p=0,014$) (Tabela 2). Em relação ao peso final, peixes alimentados com a dieta FS/DDGS apresentaram peso final semelhante aos animais alimentados com a dieta FS. No entanto, a substituição parcial do FS por DDGS ocasionou diminuição na EA e na TEP ($p < 0,05$) dos peixes, assim como maior CR. Em contrapartida, a utilização de XB melhorou a TEP dos peixes, independente da fonte proteica.

3.2. Composição corporal e atividade de enzimas digestivas

Não foram observadas interações entre as fontes proteicas e a suplementação com XB para composição corporal (Tabela 3) e atividade de enzimas digestivas (Tabela 4). Entretanto, a dieta FS/DDGS diminuiu a atividade das enzimas amilase e lipase, assim como o teor de proteína bruta na carcaça dos peixes ($p < 0,05$). No entanto, o uso de XB na dieta aumentou significativamente a atividade da protease, assim como o teor de extrato etéreo corporal de juvenis de tilápia-do-Nilo.

3.3. Parâmetros bioquímicos séricos

Não foi observado interação significativa entre fonte proteica e XB sob os parâmetros bioquímicos do plasma sanguíneo, assim como não foram observadas diferenças para substituição parcial do farelo de soja por DDGS ou da suplementação por XB (Tabela 5).

3.4. Digestibilidade

Os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes e da energia não foram significativamente afetados pela combinação entre fonte de proteína e suplementação de XB (Tabela 6). No entanto, os peixes que consumiram a FS/DDGS, independente do uso de enzimas exógenas, tiveram menor coeficiente de digestibilidade da proteína bruta, amido e cinzas ($p < 0,05$). A energia digestível da dieta foi maior quando suplementadas com XB ($p < 0,05$) (Figura 2).

3.5. Microbioma intestinal

O parâmetro de diversidade alfa dos táxons bacterianos levando-se em consideração o número de OTUs são apresentados na figura 3. O índice de diversidade mostra que os peixes alimentados com XB na dieta possuiu diversidade de espécies na digesta menor quando em dieta à base de FS.

O microbioma intestinal apresentado na Figura 4.A mostra maior OTUs observado em peixes que receberam a dieta contendo DDGS e XB. De 1012 OTUs observados, 16 estavam sobrepostos independente da dieta utilizada. Os filos de bactéria *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* e *Proteobactéria* tiveram maior abundância relativa em dietas contendo DDGS de sorgo, com diminuição da abundância do filo *Fusubacteria* (Figura 4.B) em relação aos peixes que receberam dietas sem DDGS de sorgo. Além do mais, o mapa de distância euclidiana com base na abundância de filos ilustrou a alta associação entre os ingredientes da dieta e não necessariamente ao uso de XB. Além disso, bactérias do gênero *Mycobacterium* e da família *Parachlamydiaceae*, *Coxiellaceae* e *Gemmataceae* estavam presentes somente no intestino de peixes que receberam dietas com inclusão do DDGS de sorgo (com e sem XB). Bactérias da família *Peptostreptococcaceae* também foram encontradas em maior abundância relativa em dietas contendo DDGS de sorgo (15,3%), DDGS e XB (19,5%) a dietas FS sem XB (2%) e FS com XB (6,1%). Em todos os tratamentos, os dois gêneros bacterianos mais abundantes foram *Cetobacterium* e *Delftia*.

4. Discussão

Foi hipotetizado que a inclusão do DDGS de sorgo à dieta diminuiria o desempenho dos animais devido ao aumento na quantidade PNAs, e que a adição de carboidrases exógenas diminuiria os efeitos antinutricionais dos PNAs, melhorando o desempenho dos peixes. Os resultados obtidos demonstram que a inclusão do DDGS de sorgo não diminuiu o ganho de peso corporal dos peixes. No entanto, quando dietas contendo DDGS de sorgo foram suplementadas com XB, os peixes responderam com melhor eficiência na

utilização da proteína, inclusive favorecendo as proteases endógenas, mas sem reflexo direto no ganho de peso.

Os peixes alimentados com a dieta FS/DDGS sem XB, consumiram mais alimento, o que impactou negativamente na eficiência alimentar. Como o consumo de ração também é regulado pela energia digestível (Peres et al., 2011), a maior ingestão de alimentos pelos peixes que consumiram a dieta FS/DDGS pode estar relacionada a menor energia digestível da dieta. Como a dieta FS/DDGS também apresentou menor coeficiente de digestibilidade para energia bruta, os peixes possivelmente elevaram o consumo de ração para contrabalancear o uso de energia da dieta, piorando a eficiência alimentar. E, isso possivelmente ocorreu devido a concentração de PNAs, que eleva a viscosidade e diminui a digestão dos demais componentes nutricionais do alimento (Brito et al., 2021). Outra possível explicação para o aumento no consumo está relacionada ao aumento da taxa de passagem do alimento pelo trato intestinal. Elevadas concentrações de PNAs insolúveis na dieta causam ação mecânica por meio da fibra na parede do trato gastrointestinal, aumentando a motilidade e a taxa de passagem, diminuindo o tempo de ação de enzimas sobre a digesta e digestibilidade dos nutrientes (Tejeda e Kim, 2021). Já quanto ao uso de XB, não houve alteração do consumo, diferente do que foi observado em dourada (*Sparus aurata*) alimentada com 35% de DDGS e complexo enzimático exógeno (Natugrain®TS, BASF, endo-1,4-beta-xilanase (5600 TXU/g) e endo-1,4-beta-glucanase (2500 TGU/g) (Diógenes et al., 2019). Vale ainda ressaltar que no estudo citado, a inclusão de DDGS e carboidrases na dieta reduziu os custos de alimentação em 21,4% por kg de peixe produzido, sendo que essa redução foi atribuída principalmente para a melhoria da eficiência alimentar. Neste estudo, foram observados diminuição da eficiência alimentar quando se incluiu DDGS à dieta, mas nenhuma melhoria desse parâmetro foi percebida quanto à suplementação da dieta com XB. No entanto, vale

ressaltar que o impacto da XB depende do tipo e nível de fibra e conseqüentemente PNAs. Em função disso, sugere-se em estudos subsequentes testes quanto ao nível de suplementação de XB em dieta à base de DDGS, uma vez que seu efeito é melhor pronunciado em dietas ricas em fibras (Brito et al., 2021).

Na presente pesquisa, as dietas com a inclusão de DDGS, apresentaram aumento de 29% no teor de fibra bruta, apresentando-se no limite estipulado na literatura para inclusão deste componente dietético para tilápia (~5% FB, Furuya, 2010). Conseqüentemente, houve aumento de PNAs, que ocasionou nos peixes a redução na atividade da protease e concomitante redução no CDA da proteína bruta no presente estudo. Os PNAs podem compreender até 90% da parede celular de tecidos vegetais, e sua principal ação antinutricional se deve as mudanças na solubilidade e viscosidade do quimo (Tu-Tran et al., 2020). Como conseqüências dessas alterações, pode-se inferir que houve comprometimento da digestibilidade da proteína e da velocidade de passagem dos alimentos no trato intestinal dos peixes que consumiram a dieta FS/DDGS, dificultando o acesso de enzimas endógenas ao alimento e subseqüente perda de absorção dos nutrientes. Apesar desse efeito, não houve comprometimento no ganho de peso dos peixes que consumiram a dieta FS/DDGS, demonstrando que a inclusão de 18,43% de DDGS de sorgo permite a redução de 30% no uso do farelo de soja e impacta diretamente na economicidade na formulação da dieta, uma vez que o farelo de soja encontra-se com elevado custo, devido sua utilização para consumo humano e por outros animais terrestres (Silva et al., 2018; Vanelli et al., 2021).

No presente estudo, infere-se que a viscosidade da dieta aumentou, uma vez que a fração de fibra alimentar do DDGS é enriquecida em polissacarídeos não amiláceos (NSP), principalmente arabinoxilanos e β -glucanos durante a fermentação para produção do etanol (Kosik et al., 2017). E, são as enzimas exógenas que representam promissora

estratégia para melhorar a utilização de alimentos ricos em PNAs (Castillo e Gatlin, 2015). Mais de 80% de carboidratos exógenos disponíveis no mercado são representadas pelas enzimas xilanase e glucanase, pois realizam a hidrólise dos arabinosilanos, celulose e β -glucanos de ligação mista dos alimentos vegetais (Castillo e Gatlin, 2015). Apesar dos PNAs não serem considerados tóxicos para os peixes, eles não contribuem para o ideal crescimento e conversão de alimento, pois não podem ser hidrolisados naturalmente no intestino dos peixes, devido a mínima ou ausência de secreção de xilanase e glucanase (Eleraky et al., 2016). Quando XB foi adicionado às dietas, obteve-se redução do efeito negativo dos PNAs na atividade da amilase, protease, digestibilidade da proteína bruta e do amido. Isso possivelmente ocorreu pois os PNAs podem encapsular nutrientes dentro da matriz das paredes celulares vegetais, mas com o advento da suplementação de XB, muitos desses nutrientes tornam-se acessíveis às enzimas endógenas (Bedford e Partridge, 2010). Além disso, o uso da XB sobre os PNAs do DDGS de sorgo também pode ter contribuído para a melhor digestão do amido, pois a moderada quantidade de fibras insolúveis regula o trânsito do alimento no intestino e contribui para melhor aproveitamento do amido.

A suplementação de XB nas dietas resultou em aumento na atividade das enzimas digestivas endógenas, assim como observado em outros estudos com a utilização de xilanase em dietas para peixes (El-ashry et al., 2021; Hassaan et al., 2019; Jiang et al., 2014). Estudo com juvenis de tilápia alimentadas com mais de 6,4 % de fibra bruta na dieta, quando suplementadas com xilanase a 0,5 g/kg, apresentam melhora no desempenho de crescimento, utilização de ração e atividade enzimática (El-ashry et al., 2021). No presente trabalho, quando se incluiu DDGS de sorgo à dieta, percebeu-se significativa redução na atividade enzimática da amilase e lipase. No entanto, quando a suplementação de 1228 TXU/kg de dieta de endo-1,4- β -xilanase e 514 TGU/kg dieta de

endo-1,4- β -glucanase foi utilizado na dieta, obteve-se resultados para atividade enzimática da amilase e lipase semelhante a dieta controle, e melhora na protease endógena. Esse fato ajuda a supor que a redução na viscosidade pela adição de XB proporcionou melhor interação do quimo na superfície da mucosa intestinal e melhor difusão de enzimas digestivas endógenas na digesta (Hassaan et al., 2019).

A abundância de filos bacterianos encontrados neste estudo possuiu alta associação entre os ingredientes da dieta, e pode indicar que o incremento de PNAs proveniente da inclusão do DDGS de sorgo proporcionou maior diversidade de bactérias no intestino da tilápia (Wu et al., 2020). Esse achado sugere que a inclusão do DDGS de sorgo pode ter efeito modulador do microbioma intestinal, promovendo ou diminuindo certos grupos bacterianos no intestino. Os quatro filos mais comuns encontrados (*Fusobacteria*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, e *Actinobacteria*) são comumente relatados em outros estudos com tilápia-do-Nilo (Larsen et al., 2014; Serag et al., 2022). O gênero *Cetobacterium* do filo *Fusobacteria* apresentou maior prevalência no intestino das tilápias independente da dieta utilizada. Este gênero também apresentou dominância em pirarucu (*Arapaima gigas*, Tsuchiya; Sakata; Sugita, 2008) e tilápia-do-Nilo em outros estudos (Ramírez et al., 2018).

A população de bactérias é influenciada pela composição da dieta, particularmente pela fonte de proteína utilizada (Raza et al., 2019). Ainda não está claro como a presença do filo *Firmicutes* afeta a saúde dos peixes (Restivo et al., 2021). Entretanto, as bactérias da família *Peptostreptococcaceae* do filo *Firmicutes* também foram encontradas em outras espécies de peixes e pode estar diretamente relacionada à digestão e fermentação de material proteico e na produção de amônia e outros compostos (Whitehead e Cotta, 2004; Zhang et al., 2021). Esse fato ajuda a supor que essas bactérias contribuíram para

o aumento da atividade enzimática proteolítica endógena, para peixes que receberam a dieta FS/DDGS de sorgo com e sem XB.

Um outro gênero importante de bactéria identificado foi *Mycobacterium*, causador da micobacteriose, capaz de afetar humanos, peixes e outros animais (Gauthier e Rhodes, 2009). Os motivos pelos quais esse gênero de bactérias foi encontrado somente em peixes que receberam as dietas contendo DDGS de sorgo não estão elucidados. No entanto, é de comum entendimento que os PNAs solúveis, como os arabinosilanos e β -glucanos, reduzem a taxa de passagem provocada pela viscosidade intestinal e, conseqüentemente, diminuem a taxa de difusão das enzimas endógenas (amilases, proteases e lipases) com os respectivos substratos digestivos (Sinha et al., 2011). Isso significa dizer que a dieta com DDGS propiciou menor fluxo de líquidos e conseqüente diminuição da renovação bacteriana na flora intestinal, provocando o aumento na proliferação de bactérias nocivas no intestino, como observado em frangos de corte (Vahjen et al., 1998).

Em síntese, a utilização de DDGS de sorgo é uma importante fonte de proteína vegetal para a produção de juvenis de tilápias, uma vez que permite substituir 30% do farelo de soja. Além disso, o uso concomitante de XB na dieta à base de farelo de soja e DDGS de sorgo diminui a liberação de compostos nitrogenados na água, uma vez que melhora o uso da proteína dietética. Além disso, a XB na forma líquida, aplicada após processo de extrusão e secagem, permite mais estabilidade das enzimas e contribui no desenvolvimento de dietas ecologicamente corretas, com capacidade de reduzir os efeitos antinutricionais do PNA e melhorar o valor nutritivo de dietas com baixo e alto teor de fibras (Brito et al., 2021).

5. Conclusões

O DDGS de sorgo substitui parcialmente o farelo de soja em dietas para juvenis de tilápia-do-Nilo, sem prejuízo a saúde e desempenho dos animais. A suplementação de XB promove melhor aproveitamento da proteína e energia da dieta que contém mistura de farelo de soja e DDGS de sorgo. A mistura de farelo de soja e DDGS de sorgo também aumenta a diversidade de bactérias no intestino, independentemente da suplementação de XB, mas com pouco impacto sobre o aumento de populações benéficas e redução de populações de bactérias malélicas no intestino de juvenis de tilápia-do-Nilo.

Referências

- AOAC (1990) Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC
- Agboola, J.O., Øverland, M., Skrede, A., Hansen, J.Ø., 2021. Yeast as major protein-rich ingredient in aquafeeds: a review of the implications for aquaculture production. *Rev. Aquac.* 13, 949–970. <https://doi.org/10.1111/raq.12507>
- Ayadi, F.Y., Rosentrater, K.A., Muthukumar, K., 2012. Alternative protein sources for aquaculture feeds. *J. Aquac. Feed Sci. Nutr.* 4, 1–26. <https://doi.org/10.3923/joafsnu.2012.1.26>
- Bedford, M.R., Partridge, G.G., 2010. Enzymes in farm animal nutrition, *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. CABI, Wallingford. <https://doi.org/10.1079/9781845936747.0000>
- Brito, J.M., Wernick, B., da Cruz, T.P., Furuya, L.B., Miranda, J.A.G., Rudnik, A.R., Furuya, V.R.B., Furuya, W.M., 2021. Top-spraying xylanase and β -glucanase improves digestible energy content and optimizes protein and amino acids digestibility in high-fiber diet fed to growing Nile tilapia. *Anim. Feed Sci. Technol.* 278, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.114991>
- Buenavista, R.M.E., Siliveru, K., Zheng, Y., 2021. Utilization of Distiller's dried grains with solubles: A review. *J. Agric. Food Res.* 5. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100195>
- Caporaso, J.G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F.D., Costello, E.K., Fierer, N., Peña, A.G., Goodrich, J.K., Gordon, J.I., Huttley, G.A., Kelley, S.T., Knights, D., Koenig, J.E., Ley, R.E., Lozupone, C.A., McDonald, D., Muegge, B.D., Pirrung, M., Reeder, J., Sevinsky, J.R., Turnbaugh, P.J., Walters, W.A., Widmann, J., Yatsunenko, T., Zaneveld, J., Knight, R., 2010. correspondence QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data Intensity normalization improves color calling in SOLiD sequencing. *Nat. Publ. Gr.* 7, 335–336. <https://doi.org/10.1038/nmeth0510-335>
- Castillo, S., Gatlin, D.M., 2015. Dietary supplementation of exogenous carbohydrase enzymes in fish nutrition: A review. *Aquaculture* 435, 286–292. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.10.011>

- Cavrois-Rogacki, T., Leeming, D., Lopez, P.M., Davie, A., Migaud, H., 2022. Plant-based protein ingredients can successfully replace fish meal in the diet of ballan wrasse (LABRUS BERGYLTA) juveniles. *Aquaculture* 546. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737419>
- Corassa, A., Stuani, J.L., Ton, A.P.S., Kiefer, C., Sbardella, M., Brito, C.O., Amorim, A.B., Gonçalves, D.B.C., 2019. Nutritional value of distillers dried grains with solubles from corn and sorghum and xylanase in diets for pigs. *Rev. Bras. Zootec.* 48. <https://doi.org/10.1590/RBZ4820190012>
- Coyle, S.D., Mengel, G.J., Tidwell, J.H., Webster, C.D., 2004. Evaluation of growth, feed utilization, and economics of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*, fed diets containing different protein sources in combination with distillers dried grains with solubles. *Aquac. Res.* 35, 365–370.
- Diógenes, A.F., Basto, A., Estevão-Rodrigues, T.T., Moutinho, S., Aires, T., Oliva-Teles, A., Peres, H., 2019. Soybean meal replacement by corn distillers dried grains with solubles (DDGS) and exogenous non-starch polysaccharidases supplementation in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Aquaculture* 500, 435–442. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.035>
- El-ashry, M.A., Radwan, A.A., El-Sayed, A.I.M., Soltan, M.A., Mehri, A.I., 2021. Effect of Dietary Xylanase on Growth Performance, Digestive Enzymes and Physiological Responses of Nile Tilapia, *Oreochromis Niloticus* Fingerlings Fed Plant-Based Diets. *Anim. Biotechnol.* 59, 71–80. <https://doi.org/10.21608/assjm.2021.183649>
- Eleraky, W., Ibrahim, D., Mahmoud, R., 2016. Effects of rare earth elements and exogenous multienzyme supplementation to plant protein enriched diet on growth performance, digestibility and economic efficiency of Nile tilapia, *Oreochromis Niloticus*. *Jpn. J. Vet. Res.* 64, S73–S78
- Furuya, Wilson M., 2010. Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias. GFM, Toledo.
- Gauthier, D.T., Rhodes, M.W., 2009. Mycobacteriosis in fishes: A review. *Vet. J.* 180, 33–47. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.05.012>
- Hassaan, M.S., Mohammady, E.Y., Soaudy, M.R., Abdel Rahman, A.A.S., 2019. Exogenous xylanase improves growth, protein digestibility and digestive enzymes activities in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fed different ratios of fish meal to sunflower meal. *Aquac. Nutr.* 25, 841–853. <https://doi.org/10.1111/anu.12903>
- Herath, S.S., Haga, Y., Satoh, S., 2016. Effects of long-term feeding of corn co-product-based diets on growth, fillet color, and fatty acid and amino acid composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 464, 205–212. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.06.032>
- Hlophe-Ginindza, S.N., Moyo, N.A.G., Ngambi, J.W., Ncube, I., 2016. The effect of exogenous enzyme supplementation on growth performance and digestive enzyme activities in *Oreochromis mossambicus* fed kikuyu-based diets. *Aquac. Res.* 47, 3777–3787. <https://doi.org/10.1111/are.12828>
- Jiang, T.T., Feng, L., Liu, Y., Jiang, W.D., Jiang, J., Li, S.H., Tang, L., Kuang, S.Y., Zhou, X.Q., 2014. Effects of exogenous xylanase supplementation in plant protein-enriched diets on growth performance, intestinal enzyme activities and microflora of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. *Jian*). *Aquac. Nutr.* 20, 632–645. <https://doi.org/10.1111/anu.12125>

- Khadr, M.M.E.A., Shehata, S.A., Ebrahim, M.S., Al-marakby, K.M., 2018. Influence of distiller's dried grains with solubles on growth, feed utilization and economic efficiency of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diets. *Zagazig J. Agric. Res.* 45, 1021–1029. <https://doi.org/10.21608/zjar.2018.49154>
- Kim, Y., Mosier, N.S., Hendrickson, R., Ezeji, T., Blaschek, H., Dien, B., Cotta, M., Dale, B., Ladisch, M.R., 2008. Composition of corn dry-grind ethanol by-products: DDGS, wet cake, and thin stillage. *Bioresour. Technol.* 99, 5165–5176. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.09.028>
- Kosik, O., Powers, S.J., Chatzifragkou, A., Prabhakumari, P.C., Charalampopoulos, D., Hess, L., Brosnan, J., Shewry, P.R., Lovegrove, A., 2017. Changes in the arabinoxylan fraction of wheat grain during alcohol production. *Food Chem.* 221, 1754–1762. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.10.109>
- Krogdahl, Å., Hemre, G.I., Mommsen, T.P., 2005a. Carbohydrates in fish nutrition: Digestion and absorption in postlarval stages. *Aquac. Nutr.* 11, 103–122. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2004.00327.x>
- Kunitz, M., 1947. Crystalline soybean trypsin inhibitor: II. General properties. *J. Gen. Physiol.* 30, 291–310.
- Larsen, A.M., Mohammed, H.H., Arias, C.R., 2014. Characterization of the gut microbiota of three commercially valuable warmwater fish species. *J. Appl. Microbiol.* 116, 1396–1404. <https://doi.org/10.1111/jam.12475>
- Maas, R.M., Verdegem, M.C.J., Stevens, T.L., Schrama, J.W., 2020. Effect of exogenous enzymes (phytase and xylanase) supplementation on nutrient digestibility and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed different quality diets. *Aquaculture* 529, 735723. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735723>
- Maynard, L.A., Loosli, J.K., 1969. *Animal nutrition*, 6th ed. McGraw Hill Book Company, London.
- Montoya-Camacho, N., Marquez-Ríos, E., Castillo-Yáñez, F.J., Cárdenas López, J.L., López-Elías, J.A., Ruíz-Cruz, S., Jiménez-Ruíz, E.I., Rivas-Vega, M.E., Ocaño-Higuera, V.M., 2019. Advances in the use of alternative protein sources for tilapia feeding. *Rev. Aquac.* 11, 515–526. <https://doi.org/10.1111/raq.12243>
- NRC- National Research Council, 2011. *Nutrient Requirements of fishes and shrimps*. National Academic Press, Washington, D.C., 20001st ed. National Academy of Sciences, Washington, DC.
- Osho, S.O., Babatunde, O.O., Adeola, O., 2019. Additivity of apparent and standardized ileal digestibility of amino acids in wheat, canola meal, and sorghum distillers dried grains with solubles in mixed diets fed to broiler chickens. *Poult. Sci.* 98, 1333–1340. <https://doi.org/10.3382/ps/pey457>
- Peres, H., Santos, S., Oliva-Teles, A., 2011. Lack of compensatory growth response in gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles following starvation and subsequent refeeding. *Aquaculture* 318, 384–388. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.06.010>
- Ramírez, C., Coronado, J., Silva, A., Romero, J., 2018. *Cetobacterium* is a major component of the microbiome of giant amazonian fish (*Arapaima gigas*) in Ecuador. *Animals* 8. <https://doi.org/10.3390/ani8110189>
- Ray, G.W., Li, X., He, S., Lin, H., Yang, Q., Tan, B., Dong, X., Chi, S., Liu, H., Zhang, S., 2021. A review on the use of dried distiller's grains with solubles (DDGS) in aquaculture feeds. *Ann. Anim. Sci.* 1–36. <https://doi.org/10.2478/aoas-2021-0041>

- Raza, A., Bashir, S., Tabassum, R., 2019. An update on carbohydrases : growth performance and intestinal health of poultry. *Heliyon* e01437. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01437>
- Restivo, V.E., Kidd, K.A., Surette, M.G., Bucking, C., Wilson, J.Y., 2021. The gut content microbiome of wild-caught rainbow darter is altered during laboratory acclimation. *Comp. Biochem. Physiol. - Part D Genomics Proteomics* 39, 100835. <https://doi.org/10.1016/j.cbd.2021.100835>
- Serag, A.M., Abdel-Sabour, M.S., El-Hadidi, M., Maged, M., Magdy, M., Ramadan, M.F., Refaat, M.H., 2022. Comparative 16S Metabarcoding of Nile Tilapia Gut Microbiota from the Northern Lakes of Egypt. *Appl. Biochem. Biotechnol.* <https://doi.org/10.1007/s12010-021-03750-2>
- Sinha, A.K., Kumar, V., Makkar, H.P.S., De Boeck, G., Becker, K., 2011. Non-starch polysaccharides and their role in fish nutrition - A review. *Food Chem.* 127, 1409–1426. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.042>
- Silva, F. de O., Miranda, T.G., Justo, T., Frasso, B. da S., Conte-Junior, C.A., Monteiro, M., Perrone, D., 2018. Soybean meal and fermented soybean meal as functional ingredients for the production of low-carb, high-protein, high-fiber and high isoflavones biscuits. *Lwt* 90, 224–231. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.035>
- Tejeda, O.J., Kim, W.K., 2021. Role of dietary fiber in poultry nutrition. *Animals* 11, 1–16. <https://doi.org/10.3390/ani11020461>
- Tsuchiya, C., Sakata, T., Sugita, H., 2008. Novel ecological niche of *Cetobacterium somerae*, an anaerobic bacterium in the intestinal tracts of freshwater fish. *Lett. Appl. Microbiol.* 46, 43–48. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2007.02258.x>
- Tu-Tran, L.C., Nguyen, T.C., Verreth, J.A.J., Schrama, J.W., 2020. Doses response of dietary viscosity on digestibility and faecal characteristics of striped catfish (*Pangasionodon hypophthalmus*). *Aquac. Res.* 51, 595–604. <https://doi.org/10.1111/are.14406>
- Vanelli, K., de Oliveira, A.C.F., Sotomaior, C.S., Weber, S.H., Costa, L.B., 2021. Soybean meal and poultry offal meal effects on digestibility of adult dogs diets: Systematic review. *PLoS One* 16, 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249321>
- Vahjen, W., Gläser, K., Schäfer, K., & Simon, O., 1998. Influence of xylanase-supplemented feed on the development of selected bacterial groups in the intestinal tract of broiler chicks. *The Journal of Agricultural Science*, 130, 489-500. <https://doi.org/10.1017/S0021859698005498>
- Walter, H.E., 1984. Proteinases: methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrates. In: Bergmeyer, H.U. Ed., *Methods of Enzymatic Analysis*, Vol. V. Verlag Chemie, Weinheim, pp. 270–277.
- Wang, Y., Xu, L., Gu, Y.Q., Coleman-Derr, D., 2016. MetaCoMET: a web platform for discovery and visualization of the core microbiome. *Bioinformatics* 32, 3469–3470. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw507>
- Whitehead, T.R., Cotta, M.A., 2004. Isolation and identification of hyper-ammonia producing bacteria from swine manure storage pits. *Curr. Microbiol.* 48, 20–26. <https://doi.org/10.1007/s00284-003-4084-7>
- Wu, F., Chen, B., Liu, S., Xia, X., Gao, L., Id, X.Z., Pan, Q., 2020. Effects of woody forages on biodiversity and bioactivity of aerobic culturable gut bacteria of tilapia

- (*Oreochromis niloticus*). PLoS One 15, 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235560>
- Yilmaz, P., Parfrey, L.W., Yarza, P., Gerken, J., Priesse, E., Quast, C., Schweer, T., Peplies, J., Ludwig, W., Glöckner, F.O., 2014. The SILVA and “All-species Living Tree Project (LTP)” taxonomic frameworks. Nucleic Acids Res. 42, D643–D648. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1209>
- Zhang, Y., Wen, B., David, M.A., Gao, J.Z., Chen, Z.Z., 2021. Comparative analysis of intestinal microbiota of discus fish (*Symphysodon haraldi*) with different growth rates. Aquaculture 540, 736740. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736740>

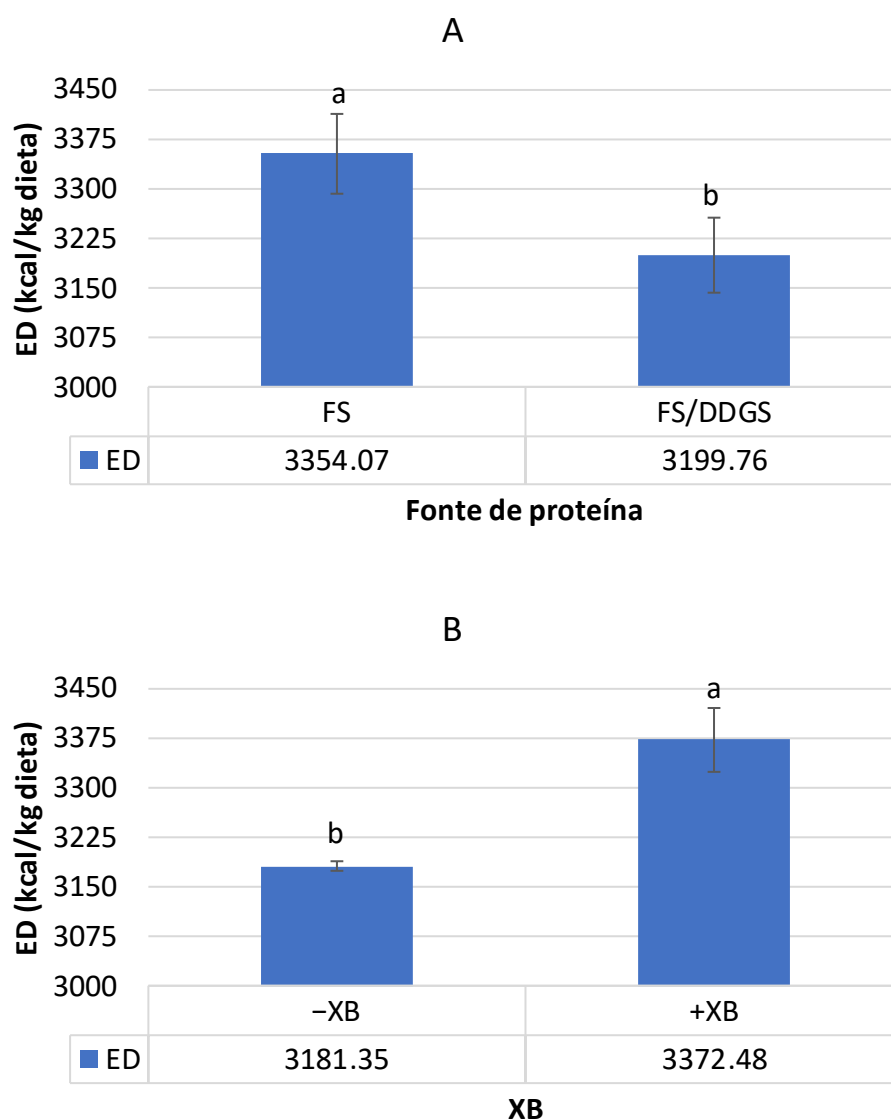


Figura 2. Efeito principal da fonte de proteína (A; $P = 0,009$) e suplementação de xilanase e β -glucanase (XB; $P = 0,004$) sobre os valores de energia digestível (ED) em dietas com farelo de soja (FS) ou mistura de farelo de soja e destilados de grãos secos de sorgo (FS/DDGS) de sorgo, sem (-XB) ou com (+XB) suplementação de mistura de xilanase e β -glucanase (XB) na proporção de 0,2 g/kg, contendo valores médios analisados de 1228 TXU/kg dieta de endo-1,4 β -xilanase e 514 TGU/kg dieta de endo-1,4- β -glucanase. Barras representam média \pm erro padrão para cada tratamento ($n = 4$). Barras com letras distintas indicam diferenças dentro de cada tratamento e entre os tratamentos pelo teste de Kruskal-Wallis complementado com o teste de comparação múltipla de Dunn ($P < 0,05$).

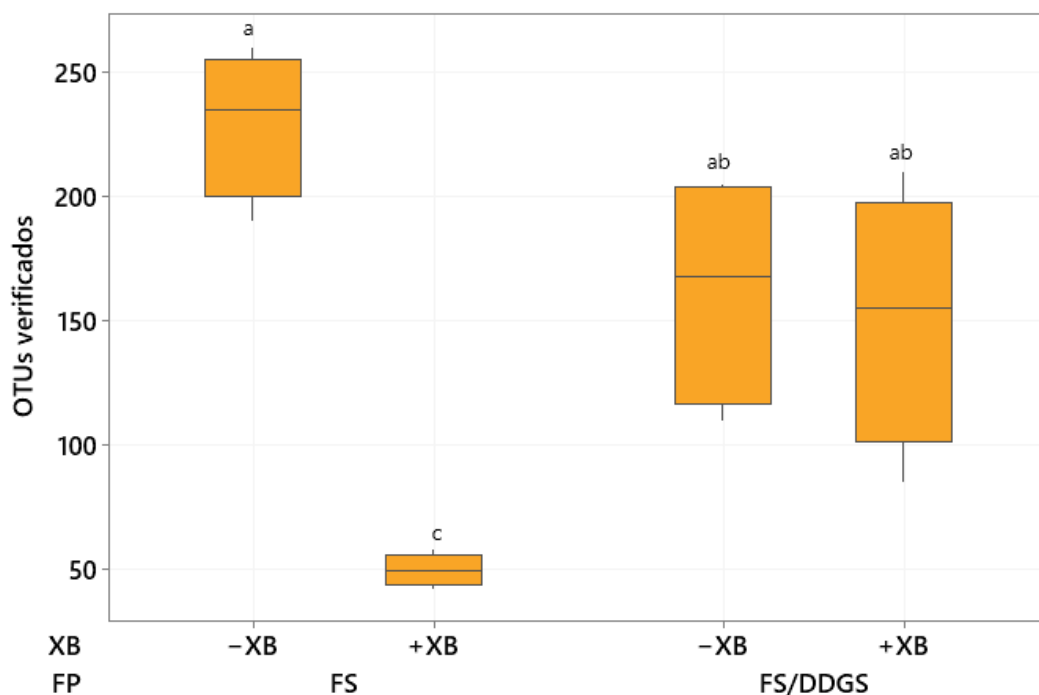
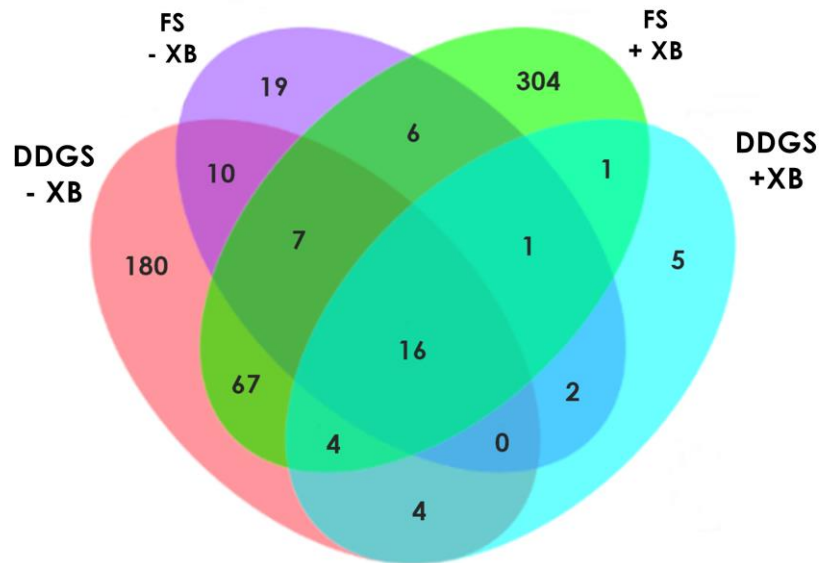


Figura 3. Box plot do índice de diversidade pelo número de OTUs observados no conteúdo intestinal de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados com dietas com farelo de soja (FS) ou mistura de farelo de soja e destilados de grãos secos de sorgo (DDGS), sem (-XB) ou com (+XB) suplementação de xilanase/ β -glucanase (XB) na proporção de 0,2 g/kg, contendo valores médios analisados de 1228 TXU/kg dieta de endo-1,4 β -xilanase e 514 TGU/kg dieta de endo-1,4- β -glucanase. As linhas nas barras de box plot representam a mediana da diversidade para cada tratamento (n = 4). Box plots com letras distintas indicam diferenças dentro de cada tratamento e entre os tratamentos pelo teste de Kruskal-Wallis complementado com o teste de comparação múltipla de Dunn ($P < 0,05$).

A



B

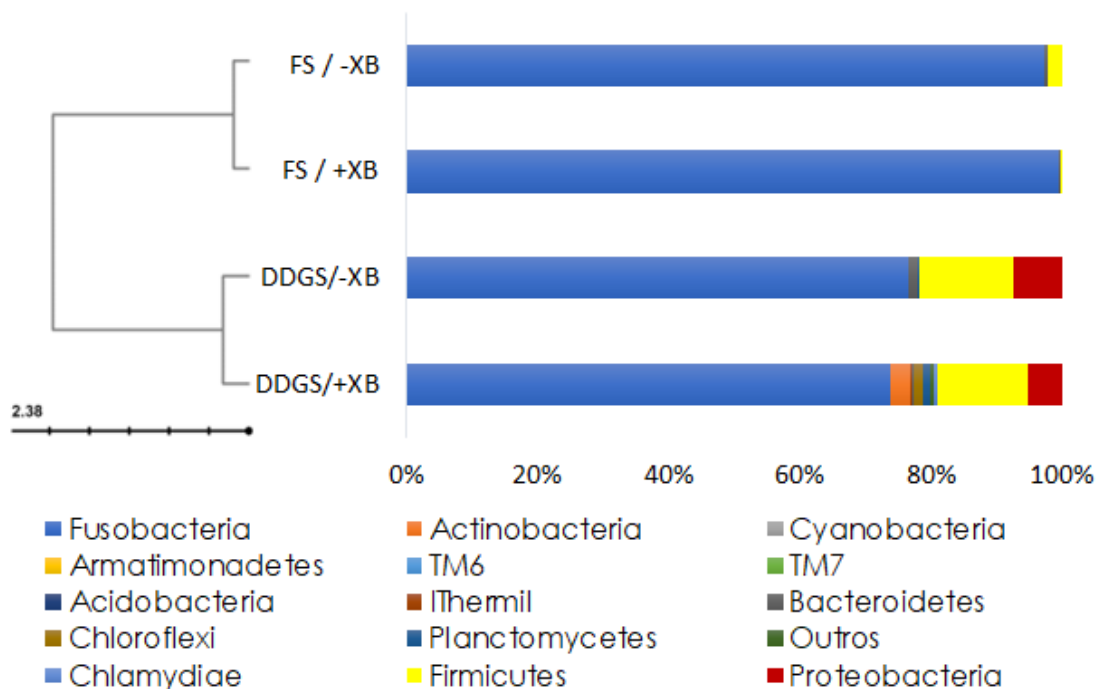


Figura 4. Diagrama de Venn mostrando sobreposições de OTUs com a distribuição percentual da comunidade microbiana central (16 OTU) em nível de filo (A) e abundância relativa de unidades taxonômicas com distância euclidiana apresentando a associação entre filo (B). Os dados representam amostras do conteúdo intestinal de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados com dieta tendo como principal fonte de proteína o farelo de soja (FS) ou mistura de farelo de soja e destilados de grãos secos de sorgo (DDGS) sem (-XB) ou com (+XB) suplementação de xilanase e β -glucanase na proporção de 0,2 g/kg com valores médios analisados de 1228 TXU/kg dieta de endo-1,4 β -xilanase e 514 TGU/kg dieta de endo-1,4- β -glucanase.

Tabela 2. Formulação e composição analisadas das dietas experimentais.

Ingredientes (g/kg MN)	Dieta ¹			
	FS		FS/DDGS	
	-XB	+XB	-XB	+XB
Soja farelo 45% ²	470,0	470,0	329,0	329,0
Trigo, grão moído ³	328,3	328,1	280,4	280,2
DDGS de sorgo ⁴	0,0	0,00	184,3	184,3
Farelo de trigo ³	150,0	150,0	150,0	150,0
Fosfato bicálcico ⁵	27,0	27,0	27,0	27,0
Óleo de soja ⁶	10,0	10,0	10,0	10,0
Sal comum ⁷	3,5	3,5	3,5	3,5
L-lisina ⁸	1,2	1,2	4,8	4,8
DL-metionina ⁸	2,8	2,8	3,1	3,1
L-triptofano ⁸	0,0	0,0	0,7	0,7
Antifúngico ⁹	1,0	1,0	1,0	1,0
BHT ¹⁰	0,2	0,2	0,2	0,2
Mistura de min. e vitaminas ¹¹	5,0	5,0	5,0	5,0
Óxido de cromo III ¹⁰	1,0	1,0	1,0	1,0
Natugrain®	-	0,2	-	0,2
Composição analisada (g/kg MS)				
Matéria seca	946,2	917,9	952,0	932,5
Amido	268,0	251,0	241,0	235,0
Proteína bruta	319,9	310,90	318,30	31
Extrato etéreo	30,4	31,32	41,39	40,0
Energia bruta (kcal/kg)	4144	4169	4158	4170
Fibra bruta	38,0	37,0	47,0	50,0
Fibra em detergente ácido	56,0	56,0	71,0	75,0
Fibra em detergente neutro	167,0	152,0	221,0	215,0
Cinzas	77,00	81,0	79,0	81,0
Fósforo	9,4	9,557	8,5	8,6
1,4-β-xylanase (TXU/kg)	ND ¹³	1230	ND ¹³	1225
1,4-β-glucanase (TGU/kg)	ND ¹³	515	ND ¹³	512

¹ Dieta com farelo de soja (FS) ou farelo de soja e destilado de grãos secos com solúveis de sorgo (FS/DDGS) como principais fontes de proteína, sem suplementação (-XB) ou suplementada com de mistura de xilanase e β-glucanase (+XB) na proporção de 0,2 g/kg, contendo valores médios analisados de 1228 TXU/kg de dieta de endo-1,4-β-xilanase e 514 TGU/kg dieta de endo-1,4-β-glucanase; ² Bunge, Ponta Grossa, PR, Brasil; ³ Renata, Rolândia, PR, Brasil; ⁴ USIMAT, Campos de Júlio, MT, Brasil; ⁵ Solo Fértil, Pains, MG, Brasil; ⁶ Cocamar, Maringá, PR, MG, Brazil; ⁷ Jasmine, Curitiba, PR, SP, Brasil.

⁸ Ajinomoto Animal Nutrition Division, SP, Brasil; ⁹ Antifúngico, Mold Zap Aquativa®, composição: dipropionato de amônio, ácido acético, ácido sórbico e ácido benzoico (Alltech Agroindustrial Ltda, São Paulo, Brasil); ¹⁰ Sygma-Aldrich Brasil Ltda, 99.5%, São Paulo, SP, Brazil; ¹¹ Composição por kg de dieta: vitamina A, 6000 UI; vitamina D₃, 1.000 UI; vitamina E, 60 mg; vitamina K₃, 12 mg; vitamina B₁, 24 mg; vitamina B₂, 24 mg; vitamina B₆, 20 mg; vitamina B₁₂, 24 mg; ácido fólico, 6 mg; ácido pantotênico, 60 mg; ácido ascórbico, 240 mg; biotina, 0,24 mg; colina, 325 mg; ácido nicotínico, 120 mg; ferro, 50 mg; cobre, 3 mg; manganês, 20 mg; zinco, 30 mg; potássio, 0,1 mg; selênio, 0,1 mg; ¹² Natugrain® (BASF SE, Ludwigshafen, Germany) complexo enzimático com endo-1,4-β-xilanase (5600 TXU/) e endo-1,4-β-glucanase (2500 TGU/g); ¹³ Não detectado

Tabela 3. Desempenho de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas experimentais.

Tratamentos ¹	Parâmetros ²									
	PI	PF	GP	CR	EA	TEP	CI	IHS	IVS	
FS	-XB	11,44	102,07	90.64	2,68	0,92	2,86	6,67	2,28	0,56 ^Z
	+XB	11,16	112,29	101.13	2,72	0,93	2,98	7,21	2,30	1,11 ^Y
FS/DDGS	-XB	11,59	95,86	84.27	2,87	0,84	2,65	6,86	2,19	1,03 ^{YZ}
	+XB	11,42	103,03	91.60	2,83	0,87	2,77	6,95	2,55	0,83 ^{YZ}
EPM ³		0,077	2,384	2,437	0,028	0,011	0,037	0,121	0,080	0,076
Efeitos principais										
Fonte										
	FS	11,30	107,18	95.88	2,70 ^B	0,92 ^A	2,92 ^A	6,94	2,29	0,83
	FS/DDGS	11,51	99,44	87.94	2,85 ^A	0,86 ^B	2,71 ^B	6,91	2,37	0,93
XB										
	-XB	11,51	98,97	87.45	2,77	0,88	2,76 ^b	6,77	2,23	0,79
	+XB	11,29	107,66	96.37	2,78	0,90	2,88 ^a	7,08	2,43	0,97
Valor de <i>P</i>										
	Fonte	0,183	0,085	0,083	0,005	0,001	<0,001	0,909	0,615	0,476
	XB	0,155	0,057	0,055	0,975	0,232	0,018	0,228	0,222	0,192
	Fonte × XB	0,694	0,718	0,712	0,459	0,583	0,895	0,380	0,276	0,014

¹ Dieta com farelo de soja (FS) ou farelo de soja e destilado de grãos secos com solúveis de sorgo (FS/DDGS) como principais fontes de proteína, sem suplementação (-XB) ou suplementada com de mistura de xilanase e β -glucanase (+XB) na proporção de 0,2 g/kg, contendo valores médios analisados de 1228 TXU/kg de dieta de endo-1,4- β -xilanase e 514 TGU/kg dieta de endo-1,4- β -glucanase.

² PI, Peso inicial (g); PF, peso final (g); GP, ganho de peso; CR, consumo relativo (% PV dia); EA, eficiência alimentar (%); TEP, taxa de eficiência proteica (%); CI, coeficiente intestinal; IHS, índice hepatosomático (%); IVS, índice viscerosomático (%).

³ EPM, erro padrão da média.

^{Y-Z} Em caso de interações significativas ($P < 0,05$) entre os efeitos principais: letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,050$) entre os tratamentos. ^{A-B} No caso de interações não significativas ($P > 0,05$) entre os efeitos principais: letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) para a fonte de proteína.

^{a-b} Em caso de interações não significativas ($P > 0,05$) entre os efeitos principais: letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) para a suplementação de xilanase e β -glucanase.

Tabela 4. Composição corporal de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas experimentais.

Tratamentos ¹	Umidade	Proteína bruta	Extrato etéreo	Cinzas
FS -XB	726,73	177,24	56,26	39,77
FS +XB	720,71	175,78	64,12	39,40
FS/DDGS -XB	733,75	165,70	62,88	37,66
FS/DDGS +XB	730,72	168,22	63,11	37,95
EPM ²	2,518	1,698	1,147	0,556
Efeitos principais				
Fonte				
FS	723,72	176,51 ^B	60,19	39,59
FS/DDGS	732,24	166,96 ^A	63,00	37,80
XB				
-XB	730,24	171,47	59,57 ^b	38,72
+XB	725,71	172,00	63,61 ^a	38,67
Valor de <i>P</i>				
DDGS	0,106	0,003	0,151	0,141
XB	0,371	0,839	0,048	0,972
Fonte × XB	0,765	0,449	0,060	0,777

¹ Dieta com farelo de soja (FS) ou farelo de soja e destilado de grãos secos com solúveis de sorgo (FS/DDGS) como principais fontes de proteína, sem suplementação (-XB) ou suplementada com de mistura de xilanase e β -glucanase (+XB) na proporção de 0,2 g/kg, contendo valores médios analisados de 1228 TXU/kg de dieta de endo-1,4- β -xilanase e 514 TGU/kg dieta de endo-1,4- β -glucanase.

² EPM, erro padrão da média.

^{A-B} No caso de interações não significativas ($P > 0,05$) entre os efeitos principais: letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) para a fonte de proteína.

^{a-b} Em caso de interações não significativas ($P > 0,05$) entre os efeitos principais: letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) para a suplementação de xilanase e β -glucanase.

Tabela 5. Atividade de enzimas digestivas em juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas experimentais.

Tratamentos ¹		Amilase (U/mg)	Lipase (U/L)	Protease ($\mu\text{g tyr/min/g t}$)
FS	-XB	7,47	37,28	1,07
	+XB	10,56	37,45	2,63
FS/DDGS	-XB	5,07	26,40	2,33
	+XB	6,41	29,49	3,29
EPM ²		0,744	1,566	0,281
Efeitos principais				
Fonte				
	FS	9,02 ^A	37,36 ^A	1,85 ^A
	FS/DDGS	5,74 ^B	27,95 ^B	2,81 ^B
XB				
	-XB	6,27	31,84	1,70 ^a
	+XB	8,49	33,47	2,96 ^b
Valor de <i>P</i>				
Fonte		0,017	0,001	0,041
XB		0,085	0,454	0,011
Fonte \times XB		0,437	0,503	0,488

¹ Dieta com farelo de soja (FS) ou farelo de soja e destilado de grãos secos com solúveis de sorgo (FS/DDGS) como principais fontes de proteína, sem suplementação (-XB) ou suplementada com de mistura de xilanase e β -glucanase (+XB) na proporção de 0,2 g/kg, contendo valores médios analisados de 1228 TXU/kg de dieta de endo-1,4- β -xilanase e 514 TGU/kg dieta de endo-1,4- β -glucanase.

² EPM, erro padrão da média.

^{A-B} No caso de interações não significativas ($P > 0,05$) entre os efeitos principais: letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) para a fonte de proteína.

^{a-b} Em caso de interações não significativas ($P > 0,05$) entre os efeitos principais: letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) para a suplementação de xilanase e β -glucanase.

Tabela 6. Parâmetros bioquímicos do sangue de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas experimentais.

Tratamentos ¹		Proteínas totais (g/dL)	Glicose (mg/dL)	Triglicérides (mg/dL)	Colesterol total (mg/dL)	AST (U/L)	ALT (U/L)
FS	-XB	2,70	44,02	129,42	93,58	36,53	8,33
	+XB	2,75	45,06	135,27	90,16	36,53	6,94
FS/DDGS	-XB	2,83	44,02	161,74	87,94	54,11	8,33
	+XB	2,74	39,47	119,35	87,50	28,87	9,26
EPM ³		0,049	1,056	7,564	1,378	5,309	0,697
Efeitos principais							
Fonte							
FS		2,73	44,54	132,34	91,87	36,53	7,64
FS/DDGS		2,79	41,74	140,55	87,72	41,49	8,79
XB							
-XB		2,77	44,02	145,58	90,76	45,32	8,33
+XB		2,75	42,26	127,31	88,83	32,70	8,10
Valor de <i>P</i>							
Fonte		0,578	0,158	0,576	0,157	0,648	0,450
XB		0,874	0,399	0,225	0,495	0,257	0,878
Fonte × XB		0,522	0,188	0,117	0,598	0,257	0,450

¹ Dieta com farelo de soja (FS) ou farelo de soja e destilado de grãos secos com solúveis de sorgo (FS/DDGS) como principais fontes de proteína, sem suplementação (-XB) ou suplementada com de mistura de xilanase e β -glucanase (+XB) na proporção de 0,2 g/kg, contendo valores médios analisados de 1228 TXU/kg de dieta de endo-1,4- β -xilanase e 514 TGU/kg dieta de endo-1,4- β -glucanase.

² EPM, erro padrão da média.

Tabela 7. Coeficiente de digestibilidade aparente (%) de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas experimentais.

Tratamentos ¹	Proteína bruta	Extrato etéreo	Amido	Cinzas	Energia bruta	
FS	-XB	91,33	77,70	97,98	58,44	82,38
	+XB	91,73	83,32	98,03	60,20	84,63
FS/DDG	-XB	84,27	75,68	95,73	68,86	70,15
S	+XB	85,07	80,60	97,14	68,50	81,43
EPM ²		1,307	1,420	0,355	1,862	2,410
Efeitos principais						
Fonte						
	FS	91,53 ^A	80,51	98,01 ^A	59,32 ^B	83,50 ^B
	FS/DDGS	84,67 ^B	78,14	96,44 ^B	68,68 ^A	75,79 ^A
XB						
	-XB	87,80	76,69	96,86	63,65	76,26
	+XB	88,40	81,96	97,59	64,35	83,03
Valor de P						
	Fonte	<0,001	0,379	0,039	0,003	0,008
	XB	0,114	0,093	0,100	0,642	0,059
	Fonte × XB	0,539	0,889	0,331	0,489	0,585

¹ Dieta com farelo de soja (FS) ou farelo de soja e destilado de grãos secos com solúveis de sorgo (FS/DDGS) como principais fontes de proteína, sem suplementação (-XB) ou suplementada com de mistura de xilanase e β -glucanase (+XB) na proporção de 0,2 g/kg, contendo valores médios analisados de 1228 TXU/kg de dieta de endo-1,4- β -xilanase e 514 TGU/kg dieta de endo-1,4- β -glucanase.

² EPM, erro padrão da média.

^{A-B} No caso de interações não significativas ($P > 0,05$) entre os efeitos principais: letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) para a fonte de proteína.

^{a-b} Em caso de interações não significativas ($P > 0,05$) entre os efeitos principais: letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) para a suplementação de xilanase e β -glucanase.