

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

NATALY NEVES OLIVEIRA DOS SANTOS

**A FERMENTAÇÃO DE RAÇÕES VEGETAIS COM *Lactobacillus acidophilus*  
MELHORA A SOBREVIVENCIA E SAÚDE INTESTINAL DE JUVENIS DE  
TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*) CULTIVADOS EM SISTEMA DE  
BIOFLOCOS**

LAGES

2023

**NATALY NEVES OLIVEIRA DOS SANTOS**

**A FERMENTAÇÃO DE RAÇÕES VEGETAIS COM *Lactobacillus acidophilus*  
MELHORA A SOBREVIVENCIA E SAÚDE INTESTINAL DE JUVENIS DE  
TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*) CULTIVADOS EM SISTEMA DE  
BIOFLOCOS**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciência Animal pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência animal, da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC.

Orientador: Prof. Dr. Thiago El Hadi Perez Fabregat.

Coordenador: Prof. Dr. Juliano De Dea Lindner.

**LAGES**

**2023**

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da Biblioteca  
Setorial do CAV/UDESC, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Santos, Nataly

A FERMENTAÇÃO DE RAÇÕES VEGETAIS COM  
Lactobacillus acidophilus MELHORA A SOBREVIVENCIA E  
SAÚDE INTESTINAL DE JUVENIS DE TILÁPIA DO NILO  
(Oreochromis niloticus) CULTIVADOS EM SISTEMA DE  
BIOFLOCOS / Nataly Santos. -- 2023.

85 p.

Orientador: Thiago El Hadi Perez Fabregat

Coorientador: Juliano De Dea Lindner

Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa  
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de  
Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages, 2023.

1. Fermentação . 2. Dieta Vegetal. 3. Bactéria Ácido Láctica. 4.  
Farelo de Soja. 5. Sobrevida. I. El Hadi Perez Fabregat, Thiago.  
II. De Dea Lindner, Juliano . III. Universidade do Estado de Santa  
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de  
Pós-Graduação em Ciência Animal. IV. Título.

**NATALY NEVES OLIVEIRA DOS SANTOS**

**A FERMENTAÇÃO DE RAÇÕES VEGETAIS COM *Lactobacillus acidophilus*  
MELHORA A SOBREVIVENCIA E SAÚDE INTESTINAL DE JUVENIS DE  
TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*) CULTIVADOS EM SISTEMA DE  
BIOFLOCOS**

Dissertação apresentada como requisito parcial  
para obtenção do título de mestre em Ciência  
animal, da Universidade do Estado de Santa  
Catarina – UDESC.

Orientador: Prof. Dr. Thiago El Hadi Perez  
Fabregat

Coorientador: Prof. Dr. Juliano De Dea Lindner

**BANCA EXAMINADORA**

Orientador Professor Dr Thiago El Hadi Perez Fabregat  
UDESC/CAV

Coorientador Professor Dr. Juliano De Dea Lindner  
UFSC/CCA

Membros:

Nome do Orientador e Títuloção  
Nome da Instituição

Nome do Orientador e Títuloção  
Nome da Instituição  
Lages, 07 de fevereiro de 2023.

Dedico este trabalho a Deus, e a todas as pessoas que estiveram comigo nesta caminhada

## AGRADECIMENTOS

A vida passa tão rápido quanto um dia após o outro. Pessoas vem e vão deixando algum tipo de aprendizado em nossas jornadas. Neste período do mestrado algumas pessoas marcaram profundamente minha caminhada. Agradeço primeiramente ao meu orientador professor Dr. Thiago pelos e Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da Biblioteca Setorial do CAV/UDESC, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)nsinamentos, pela paciência, por me apresentar o novo mundo da piscicultura e abrir diversas oportunidades. Obrigada por me orientar, aconselhar e se dedicar a esta pesquisa inovadora. Agradeço ao meu coorientador professor Dr. Juliano que está comigo no universo científico desde a minha graduação. Agradeço a todos os professores que de alguma forma contribuíram com este projeto disponibilizando reagentes, laboratórios e boas conversas como o professor Dr. Everton.

Esta jornada só foi possível graças as minhas companheiras e amigas de coração Fernanda Delziovo, Letícia, Mariana e Larissa. Nossas conversas e cafés da tarde foram essenciais para os dias difíceis. Já rimos, choramos, fofocamos, ficamos tristes e felizes juntas. Amo vocês. Agradeço a toda a minha família, meus pais André e Janaina, minha irmã Monyque, e meus avós Maria e Jorge, que sempre me incentivaram a estudar e se dedicar para realizar uma pós-graduação. Obrigada por sempre confiar em mim e na minha caminhada na pesquisa acadêmica. Os conselhos que vocês me deram foram valiosos para chegar aonde eu estou hoje. Vocês me viram sofrer, me viram voltar a andar e não mediram esforços para que eu pudesse voltar ao mestrado, estavam comigo na minha fase mais difícil e nunca desistiram de mim. Obrigada do fundo do meu coração! Gostaria de agradecer ao Ruan meu namorado e parceiro de vida, obrigada por me apoiar.

Por fim agradeço aos meus colegas de laboratório e todos os professores do programa de pós-graduação em ciência animal da UDESC e a CAPES.

E como diria Machado de Assis a gratidão de quem recebe um benefício é sempre menor que o prazer daquele de quem o faz.

“Difícil de ver. Sempre em movimento está o  
Futuro.” (Mestre Yoda)

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da fermentação com *Lactobacillus acidophilus* sobre o desempenho e saúde intestinal de juvenis tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivados em sistema de bioflocos (BFT). Primeiramente foi determinada a cinética *in vitro* das rações vegetais fermentadas para determinar a curva de crescimento e acidificação do *Lb. acidophilus*, por meio da contagem por UFC mL<sup>-1</sup> e pH. Também foram realizadas análises físico-químicas e bromatológicas. Em seguida, as rações vegetais fermentadas após 6 (RVF6) e 18 (RVF18) horas foram avaliadas na alimentação de juvenis de tilápia do Nilo em comparação com uma ração controle positivo contendo farinha de peixe (RPA) e uma ração controle negativo sem proteína animal (RPV). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos e seis repetições. Os juvenis de tilápia (8,27±0,21 g) foram distribuídos em 24 tanques (70 litros) equipados com sistema de aeração e aquecimento. O experimento teve duração de 60 dias. Na ração RVF6 houve um aumento na contagem de BAL e na concentração de proteína solúvel, assim como uma redução no pH. Na ração RVF18 foram obtidos resultados semelhantes com exceção da proteína solúvel que diminuiu. As rações RVF6 e RVF18 foram mais consumidas pelos peixes que a ração RPV e a ingestão não diferiu que a ração RPA. A ração RVF6 melhorou a sobrevivência em relação a ração RPV. Aos 60 dias de experimento o tratamento RPVF18 aumentou a contagem de BAL na água em relação as rações RPA e RPV. No final do experimento também houve redução de *Vb. sp.* na água dos tanques que receberam o tratamento RPVF6 em relação a ração controle RPA. Após 60 dias a concentração de bactérias heterotróficas intestinais foi mais elevada nos peixes que receberam o tratamento RPVF6. Aos 30 e 60 dias a concentração de BAL intestinal foi menor nos animais que receberam o tratamento controle negativo RPV. A contagem de potenciais microrganismos patogênicos da família *Vibrionaceae* foi menor para os tratamentos que receberam RPVF6 E RPVF18. A altura das vilosidades dos peixes que receberam as rações fermentadas RPVF6 e RPVF18 não diferiu dos que receberam a ração controle RPA. O tratamento RPVF6 aumentou as células caliciformes em relação as rações RPA e RPV. De maneira geral, os melhores resultados de sobrevivência e saúde intestinal foram identificados com o fornecimento da ração fermentada por 6 horas.

**Palavras-chave:** Fermentação; Saúde intestinal; Dieta Vegetal; Bactéria Ácido Lática; Farelo de Soja; Sobrevivência.

## ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effect of fermentation with *Lactobacillus acidophilus* on the performance and intestinal health of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) grown in a biofloc system (BFT). First, the in vitro kinetics of the fermented vegetable feeds were determined to determine the *Lb acidophilus* growth and acidification curve by counting by CFU mL<sup>-1</sup> and pH. Physical-chemical and bromatological analyzes were also carried out. Then, vegetable feeds fermented after 6 (RVF6) and 18 (RVF18) hours were evaluated in the diet of Nile tilapia juveniles in comparison with a positive control diet containing fish meal (RPA) and a negative control diet without animal protein. (RPV). The experimental design was completely randomized with four treatments and six replications. Tilapia juveniles ( $8.27 \pm 0.21$  g) were distributed in 24 tanks (70 liters) equipped with an aeration and heating system. The experiment lasted 60 days. In the RVF6 diet there was an increase in the BAL count and in the soluble protein concentration, as well as a reduction in the pH. In the RVF18 diet, similar results were obtained except for the soluble protein that decreased. The RVF6 and RVF18 diets were more consumed by the fish than the RPV diet and the intake did not differ from the RPA diet. The RVF6 diet improved survival compared to the RPV diet. At 60 days of experiment, the RPVF18 treatment increased the BAL count in the water in relation to the RPA and RPV diets. At the end of the experiment, there was also a reduction in *Vb. sp.* in the water of the tanks that received the RPVF6 treatment in relation to the RPA control diet. After 60 days, the concentration of intestinal heterotrophic bacteria was higher in fish that received the RPVF6 treatment. At 30 and 60 days, the intestinal BAL concentration was lower in the animals that received the RPV negative control treatment. The count of potential pathogenic microorganisms of the Vibrionaceae family was lower for treatments that received RPVF6 and RPVF18. The height of the villi of the fish that received the RPVF6 and RPVF18 fermented diets did not differ from those that received the RPA control diet. The RPVF6 treatment increased the goblet cells in relation to the RPA and RPV diets. In general, the best survival and intestinal health results were identified with the supply of fermented feed for 6 hours.

**Keywords:** Fermentation; Intestinal health; Plant Diet; Lactic acid bacteria; Soybean Meal; Survival.

## **LISTA DE ILUSTRAÇÕES**

<b>Figura 1.</b> Ciclo de manutenção BFT.....	32
<b>Figura 2.</b> A-Curva cinética durante a fermentação de rações vegetais com <i>Lb. acidophilus</i> durantes 24 h. Figura B- Medida de pH durante a cinética de fermentação, com <i>Lb. acidophilus</i> , de dietas vegetais. Figura C- Concentração de proteína solúvel ao longo da fermentação de dietas vegetais com o uso de <i>Lb. acidophilus</i> .....	42

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Uso de microrganismos fermentadores na aquicultura atual.....	24
<b>Tabela 2.</b> Composição das dietas experimentais.....	34
<b>Tabela 3.</b> Análise da composição bromatológicas das rações experimentais.....	43
<b>Tabela 4.</b> Perfil de aminoácidos presentes rações experimentais.....	44
<b>Tabela 5.</b> <i>Shelf-life</i> de rações experimentais.....	45
<b>Tabela 6.</b> Contagem da microbiota (bactérias heterotróficas, BAL e <i>Vb. sp.</i> ) da água do experimento.....	46
<b>Tabela 7.</b> Desempenho de juvenis de tilápia do Nilo recebendo diferentes tipos de rações após 60 dias de experimento.....	47
<b>Tabela 8.</b> Contagem de microrganismos intestinais, bactérias heterotróficas, BAL e <i>Vb. sp.</i> , de juvenis de tilápia do Nilo alimentadas de diferentes rações experimentais no período de 30 e 60 dias (UFC Log 10 g <sup>-1</sup> ).....	47
<b>Tabela 9.</b> Medida de histomorfometria intestinal de juvenis de tilápia do Nilo após 60 dias consumindo diferentes rações experimentais.....	48
<b>Tabela 10.</b> Concentração das Enzimas Digestivas na porção intestinal de juvenis de Tilápias do Nilo após 60 dias de experimento .....	48

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Aminoácidos
ANF's	Fatores antinutricionais
ATP	Adenosine TriPhosphate
BAL	Bactéria ácido Lática
BFT	Sistema de Bioflocos
C.C	Células Caliciformes
CEUA	Comitê de ética para uso de animais em pesquisas
CO <sub>2</sub>	Dióxido de Carbono
IHS	Índice Hepatossomático
FSM	Farelo de soja
GRAS	Geralmente reconhecidos como seguros
<i>Lb.</i>	<i>Lactobacillus</i>
<i>Lb. acidophilus</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
MDPI	Multidisciplinary Digital Publishing Institute
MO	Microrganismo
MRS	Caldo/ágar Man, Rogosa e Sharpe
ND	Não Detectável
NADH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo (enzima reduzida)
NAD <sup>+</sup>	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo (forma oxidada)
PB	Proteína Bruta
Ph	Potencial Hidrogeniônico
<i>Shelf-life</i>	Vida de prateleira
TCBS	Ágar de tiosulfato, citrato, bílis e sacarose
TGI	Tratogastrointestinal
TSA	Ágar Triptona de Soja
UDESC	Universidade do Estado de Santa Catarina
UFC	Unidade formadora de colônia
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
<i>Vb. sp.</i>	<i>Víbrio</i> espécie

## **LISTA DE SÍMBOLOS**

® Marca Registrada

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>18</b>
2.1 FERMENTAÇÃO .....	18
2. 2 BACTÉRIAS ÁCIDOS LÁTICAS .....	20
2.3 FERMENTADOS VEGETAIS NA ALIMENTAÇÃO DE PEIXES .....	22
2.4 TILÁPIA DO NILO ( <i>Oreochromis niloticus</i> ).....	28
<b>2.4.1 Requisitos nutricionais tilápis do nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>).....</b>	<b>29</b>
2.5 SISTEMA DE BIOFLOCOS E INTERAÇÃO MICROBIANA .....	30
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>33</b>
3.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	33
3.2 SELEÇÃO DOS MICRORGANISMOS E PUREZA.....	33
3.3 ESTOCAGEM E CRESCIMENTO DAS CEPAS.....	33
3.4 DITAS EXPERIMENTAIS.....	34
3.5 FERMENTAÇÃO DA RAÇÃO .....	35
3.6 CARACTERIZAÇÃO DAS RAÇÕES FERMENTADAS .....	35
3.7 ANIMAIS E INSTALAÇÕES .....	37
3.8 MANEJO ALIMENTAR .....	37
3.9 MANUTENÇÃO SISTEMA BFT .....	38
3.10 QUALIDADE DA ÁGUA .....	38
3.11 DESEMPENHO PRODUTIVO .....	39
3.12 CONTAGEM DE MICRORGANISMOS INTESTINAIS .....	39
3.13 HISTOMORFOMETRIA INTESTINAL .....	40
3.14 ATIVIDADE ENZIMÁTICA .....	40
3.15 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	41
<b>4 RESULTADOS .....</b>	<b>42</b>
<b>5 DISCUSSÃO .....</b>	<b>50</b>
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>55</b>
<b>7 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>56</b>
<b>8 ANEXO I.....</b>	<b>84</b>



## 1 INTRODUÇÃO

A produção e consumo de peixes oriundos da aquicultura cresce continuamente (FAO, 2022). Com a intensificação da produção houve um aumento na demanda por rações de alta qualidade nutricional (FAO, 2022). Rações destinadas para peixes, devem incluir carboidratos, fontes proteicas e lipídicas (ROUBACH et al., 2002). Um dos principais componentes proteicos das rações piscícolas é a farinha de peixe (HE, et al., 2020a; EL-SAYED, 1999). Entretanto a farinha de peixe é um produto caro e cada vez mais escasso, ocasionando um aumento excessivo nos preços das rações aquáticas (UCZAY, et al., 2019; ZHOU, et al., 2005). A substituição da farinha de peixe pelo farelo de soja já foi amplamente estudada em rações para peixes (WEI, et al., 2021; FONTAINHAS-FERNANDES, et al., 1999). Foi demonstrada a viabilidade da substituição para algumas espécies (WEBSTER, et al., 1992), mas também estudos mostram que nem sempre a substituição total é possível (LIN; LUO, 2011).

O uso do farelo da soja apresenta diversas limitações, como a presença de fatores antinutricionais (ANF's), baixa palatabilidade, deficiência na concentração de aminoácidos livres e baixo rendimento do pescado (HE, et al., 2020a; HE, et al., 2020b; RAHIMNEJAD, et al, 2020). Uma alternativa para melhorar a palatabilidade, reduzir os aspectos negativos e conferir propriedades funcionais aos ingredientes vegetais é a fermentação (MUKHERJEE; CHAKRABORT; DUTTA, 2016). Diversos estudos comprovaram que a fermentação do farelo de soja pode melhorar sua qualidade nutricional e bioquímica, através da redução dos ANF's, proteínas antigênicas, glicinina e  $\beta$ -conglicinina, proteínas de reserva da soja (CHEN, et al. 2021; HE, et al., 2020a; HE, et al., 2020b). O processo também pode proporcionar aumento significativo de proteína bruta, aminoácidos livres e redução dos componentes, da parede celular do vegetal, como a celulose e hemicelulose (CHEN, et al. 2021; MUKHERJEE; CHAKRABORT; DUTTA, 2016; OJOKOH; YIMIN, 2011).

A fermentação pode ser realizada com o uso de microrganismos fermentadores (KESARCODI-WATSON et al. 2008), destacando-se o grupo das bactérias ácido láticas (BAL) (LEROY; DE VUYST, 2004). Durante a fermentação diversos compostos são produzidos pelas BAL, como vitaminas, compostos aromáticos, antimicrobianos, como bacteriocinas, capazes de aumentar a *shelf-life* de um produto, e diversos tipos de enzimas (LEROY, DE VUYST, 2004; REDDY et al., 2008). Microrganismos do gênero *Lactobacillus* como *Lb. acidophilus*, possuem o *status* GRAS (Geralmente Reconhecidos

como Seguros), não patogênicos, comumente encontrados em alimentos fermentados e promotores de saúde, por ter ação probiótica e paraprobiótica heterofermentativa (CHOUDHURY; KAMILYA; 2019; CURBELO, et al 2005; CALOMME, et al., 1995). Cada estirpe de BAL, pode modificar distintamente um substrato (HAMMES; VOGEL, 1995), interferindo nas características do fermentado (SAEED; SALAM, 2013).

Já foi demonstrado que o uso do farelo de soja fermentado com BAL, resulta em efeitos positivos sobre o crescimento e saúde intestinal de peixes e possibilita maior inclusão de proteína vegetal nas rações (HE, et al., 2020b; CHOI, et al. 2020; XU, et al 2020). Por outro lado, poucos estudos avaliaram o uso de fermentados em rações contendo somente proteína vegetal (RAHIMNEJAD, et al., 2021; HASSAAN; SOLTAN; ABDEL-MOEZ, 2015). Neste sentido, uma abordagem que ainda precisa ser avaliada é a fermentação da ração completa, o que estenderia os benefícios da fermentação aos outros ingredientes e otimizaria o uso das rações vegetais. Além do farelo de soja são utilizados outros ingredientes derivados de cereais como o farelo de trigo, que são ricos em carboidratos solúveis (GONCALVES, et al., 2018; OLIVA-TELES, 2012). A fermentação completa da dieta pode solucionar questões associadas a redução da absorção de micro e macro nutrientes pelo TGI provocada por fatores antinutricionais e ainda melhorar a qualidade nutricional e palatabilidade de todos os componentes.

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é um dos peixes de água doce mais produzidos e consumidos mundialmente (FAO, 2020). É uma espécie rustica, de fácil reprodução e hábito alimentar onívoro (EL-SAYED, 2019). O cultivo de tilápia do Nilo pode ser realizado de diversas formas, destacando-se, na última década, o cultivo em biofloco (BFT) (AVNIMELECH, et al., 2011). O sistema BFT é um sistema que possibilita aumento na produtividade com baixa renovação de água (HARGREAVES, 2013; AVNIMELECH, et al., 2009). No sistema BFT o controle de crescimento microbiano pode ser um problema (JAMAL, et al. 2019). Neste sentido o uso de fermentados na alimentação de tilápia em sistema BFT podem ter efeitos positivos sobre os peixes e sobre a microbiota da água, através da interação entre os componentes do fermentado e os microrganismos heterotróficos presente na água (JAMAL, et al. 2019; CARDONA, E. et al., 2008; AVNIMELECH, 2006a).

A substituição total da farinha de peixe pelo farelo de soja é possível para dietas de juvenis de tilápia do Nilo (IQBAL; YAQUB; AYUB, 2021. ABDEL-WARTH, et al., 2019.), mas os resultados nem sempre são positivos (MARTINS, 2011; DE FARIA; HAYASHI; SOARES, 2001). O uso do farelo de soja fermentado com uma cultura mista

de microrganismos viabilizou a substituição total da farinha de peixe em rações para juvenis de tilápia do Nilo cultivados em sistema BFT (PICOLI et al., 2022). Assim o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do tempo de fermentação com *Lb. acidophilus* sobre a composição bioquímica e nutricional de rações a base de vegetais, assim como, avaliar seus efeitos sobre o desempenho, qualidade da água e saúde intestinal de juvenis tilápia do Nilo cultivados em sistema BFT.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 FERMENTAÇÃO

O processo de fermentação é uma das tecnologias mais antigas e simples, aplicadas nos alimentos (FELLOWS; 2006; ORDÓÑEZ *et al.*, 2005). Além de conservar um produto por maior tempo é aplicada com o intuito de alterar principalmente a textura, aroma e qualidade nutricional de um alimento (FELLOWS; 2006; ORDÓÑEZ *et al.*, 2005). A fermentação, também pode ser definida, como um processo para se obter energia em forma de ATP, através da quebra, de carboidratos, como a glicose (NELSON; COX, 2013). Os alimentos fermentados integram um conjunto de biossistemas complexos, compostos de substratos ricos em metabólitos fermentáveis e substâncias microbianas, gerando novos produtos (SHARMA; GARG; KUMAR; BHATIA; KULSHRESTHA, 2020).

A teoria da fermentação, se baseia na presença ou ausência de oxigênio, fontes de nitrogênio e carbono, umidade, pH, e a presença de microrganismos fermentadores e disponibilidade de substrato (FELLOWS, 2006). A fermentação é caracterizada por alterar quimicamente, a estrutura molecular de um substrato (BÖCK, 2009; PANDEY, 2003). É uma biotecnologia, muito utilizada em indústrias farmacêuticas, de alimentos e rações para animais (BÖCK, 2009; PANDEY, 2003). Os benefícios que envolvem o uso da fermentação estão relacionados ao aumento da biopreservação, bioenriquecimento e produção de enzimas que degradam compostos antinutricionais de um alimento (TAMANG, 1998). Diversos microrganismos podem ser usados em processos fermentativos, como BAL, leveduras e fungos (TAMANG, 1998).

O uso de diferentes microrganismos pode afetar um estado fermentativo (SHARMA; GARG; KUMAR; BHATIA; KULSHRESTHA, 2020). Os microrganismos, que possuem grande destaque no âmbito da fermentação, são as BAL, bolores (*Aspergillus oryzae*; *Penicillium camemberti*; *Rhizopus oligoporous*) e leveduras (*S. cereviciae*) (LEROY; DE VUYST, 2004; ORDÓÑEZ *et al.*, 2005). Se prioriza do uso de *culturas starters* em processos fermentativos, por proporcionar um controle mais rígido durante a fermentação, por serem inoculadas e não contaminadas espontaneamente, como as fermentações naturais (ORDÓÑEZ *et al.*, 2005). As culturas starters de BAL são caracterizadas por acidificar exponencialmente o substrato metabólico, por produzir prioritariamente ácido lático e demais ácidos orgânicos como o ácido acético, etanol,

dióxido de carbono, compostos aromáticos, substâncias antimicrobianas, bacteriocinas, exopolissacarideos e enzimas microbianas (LEROY; DE VUYST, 2004). Melhorando aspectos nutricionais, *shelf-life* e fatores sensoriais, como aroma e textura de um produto (LEROY; DE VUYST, 2004). São classificadas por sua morfologia, metabolismo e modo de produção. (PARENTE, COGAN, 2017).

Conhecer o tempo ótimo de fermentação de um microrganismo sobre um determinado substrato pode otimizar e reduzir o tempo para um processo fermentativo sendo vantajoso para o meio industrial (LEROY; DE VUYST, 2004). O controle da fermentação pode ser realizado através da curva cinética microbiana, onde é possível avaliar o crescimento do microrganismo em um determinado substrato (PELEG; COLE, 1998). A avaliação é determinada através de pontos (lag, exponencial, estacionária e morte celular), em uma curva logarítmica pelo tempo (STAVROPOULOU; BEZIRTZOGLOU, 2019; PELEG; CORRADINI, 2011). Na fase lag a quantidade de substrato é maior que UFC (unidade formadora de colônia por g ou mL), é constante e seu fim é determinado pelo início da fase exponencial, quando ocorre o crescimento celular e aumento da produção de metabólitos. Na fase estacionária, a quantidade de substrato disponível é semelhante a concentração celular, e o MO não se multiplica significativamente, tendendo a morte celular (PELEG; CORRADINI, 2011).

Diversos fatores podem influenciar no crescimento microbiano (BÖCK, 2009). Fontes primárias de fermentação, como aminoácidos, purinas, pirimidinas e ácidos orgânicos de cadeia curta, destacando-se o acetato e fontes simples de carbono (BÖCK, 2009). Atividade de água, leveduras necessitam de 0,5 até 0,6, enquanto bactérias tem uma maior necessidade de água entre 0,8 e 0,9 (THOMAS; LARROCHE; PANDEY, 2013; BÖCK, 2009). Temperatura, disponibilidade de oxigênio (SHARMA; GARG; KUMAR; BHATIA; KULSHRESTHA, 2020). E interação entre diferentes MO.

O cultivo dos MO responsáveis pela via fermentativa, pode ser classificada em dois tipos (FELLOWS, 2006). Batelada, em que é possível conhecer a curva de fermentação do MO dentro da matriz. A produção de compostos aromático e transformações bioquímicos ficam dependentes do índice de multiplicação celular (FELLOWS, 2006). E contínua, dependente da quantidade de substrato disponível no meio o crescimento metabólico do MO se mantém na fase logarítmica, da curva de crescimento (FELLOWS, 2006).

A fermentação de alimentos pode ocorrer de diversas maneiras e em diferentes condições (FELLOWS, 2006). Nos últimos anos, a fermentação em estado sólido, tem

tomado grande destaque entre pesquisadores (THOMAS; LARROCHE; PANDEY, 2013). Por envolver uma quantidade mínima de água, apenas suficiente apenas para o crescimento dos MO (SINGHANIA, *et al.*, 2009; PANDEY, 2003). E por ser caracterizado por utilizar fontes simples de carbono com o objetivo de reduzir significativamente a energia de bioprocessos industriais (THOMAS; LARROCHE; PANDEY, 2013). Tem como objetivo principal, produzir compostos microbianos, que melhorem a qualidade nutricional no substrato. (BHARGAV, *et al.*, 2008; PANDEY, 2003). A fermentação em estado sólido ocorre em estágios distintos envolvendo a produção de enzimas, ácidos orgânicos, pigmentos, compostos bioativos e compostos secundários em menor concentração (THOMAS; LARROCHE; PANDEY, 2013).

## 2. 2 BACTÉRIAS ÁCIDOS LÁTICAS

As bactérias ácido lácticas recebem está denominação por produzirem como produto principal de seu metabolismo o ácido láctico (ABDEL-RAHMAN, TASHIRO, SONOMOTO, 2011; HASSAN, FRANK, 2001). São morfologicamente caracterizadas apresentarem dois formatos característicos, cocos ou bastonetes (DE VUYST, VANDAMME, 1994). São conhecidas pelo meio científico cerca de 530 grupos, envolvendo espécies e subespécies (FREIRE, *et al.*, 2021). Pertencem ao grupo de bactérias gram-positivas, catalase-negativa, não formadora de esporos, e sua respiração metabólica pode variar entre microaerofilia e anaeróbicas estrita. (AXELSSON, *et al.*, 2004; KLEIN, *et al.*, 1998). Tolerantes a baixos pH, podendo crescer em ambientes ácidos, de até 3,8 (FREIRE, *et al.*, 2021; INÊS *et al.*, 2008). São quimiotróficos, e metabolismo estritamente dependente do consumo do substrato, do meio em que habitam (FREIRE, *et al.*, 2021; INÊS *et al.*, 2008).

Os gêneros mais conhecidos e estudados de bactérias ácidos lácticos são *Aerococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Weissella*, *Vagococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*. (DE DEA LINDNER *et al.*, 2016; MOTTA, *et al.*, 2015; POFFO, SILVA; 2011; DILLON, 1998; DE VUYST, VANDAMME, 1994). Porém o gênero mais empregado, tanta na indústria de alimentos, quando nas mais variadas áreas de pesquisa, como saúde animal, é o *Lactobacillus* (JATOBÁ, MOURIÑO, 2015; LI *et al.*, 2006; LEROY, DE VUYST, 2004; DE VUYST, VANDAMME, 1994).

Dependendo do produto gerado pela via metabólica, as BAL, podem ser classificadas em homofermentativas obrigatórias e heterofermentativas obrigatórias ou facultativas (LAHTINEN *et al.*, 2011; SALMINEN, VON WRIGHT, 1993). As BAL homofermentativas obrigatórias, produzem principalmente, ou unicamente, o ácido lático. O processo da produção do ácido lático se inicia, com a quebra de um carboidrato, como a molécula de glicose, monossacarídeo, presente no substrato, no formato de uma aldohexose (BASSO *et al.*, 2014; SILVA, 2011; PETERSON, FRED, ANDERSON, 1922). Essa quebra irá necessitar, de uma molécula de ATP, liberando uma molécula de ADP (BASSO *et al.*, 2014; SILVA, 2011) durante a metabolização da glicose, é formado o piruvato, que possui objetivo de oxidar a coenzima NADH, gerando o NAD<sup>+</sup>. Usados posteriormente na cadeia metabólica da glicólise. Assim, o produto da redução do NAD<sup>+</sup> é o L+ ou D (-) ácido lático. Através de 1 mol de glicose é possível obter, como produto final, da via metabólica, 2 mol de ácido lático e 2 mol de ATP (BASSO *et al.*, 2014; SILVA, 2011; REDDY, *et al.*, 2008). As BAL não metabolizam estritamente apenas a glicose, mas também outros açúcares, como a lactose, manose, sacarose entre outros carboidratos (SILVA, 2011; HAMMES, HERTEL, 2009).

As BAL heterofermentativas produzem, além do ácido lático, outros produtos, como ácidos orgânicos, dióxido de carbono, compostos aromáticos, acetaldeído entre outros (SILVA, 2011; BRUNO, 2011). Por produzir mais compostos, sua via metabólica pode utilizar carboidratos complexos como hexoses, pentoses, fosfogluconato (SILVA, 2011; BRUNO, 2011). As BAL heterofermentativas, se subdividem em obrigatórias e facultativas. Ambas utilizam duas vias metabólicas, a fosfocetolase e a pentosefósfato. E são codependentes da quantidade de pentoses e gluconatos, gerados após a primeira quebra de glicose limitante, para metabolização (SILVA, 2011; BRUNO, 2011; ZUNIGA; PARDO; FERRER, 1993). Os produtos iniciais dessa via envolvem a produção de compostos equimolares, como acetaldeído e CO<sub>2</sub>, a partir disso o NADH resgata o NAD<sup>+</sup>, por oferecer elétrons para a molécula de acetaldeído. No saldo final a produção de 1 ATP, lactato, etanol e CO<sub>2</sub> (RAJ *et al.*, 2021).

As BAL podem ser encontradas dentro da aquicultura principalmente, como probióticos (HAMIDOGHILI, *et al.*, 2020; YİĞİT, ARAFATOĞLU, YASAR, 2020), paraprobiótico (CHOUDHURY; KAMILYA, 2019), e como agentes fermentadores, de componentes de rações, destinadas a alimentação de animais (CATALÁN, *et al.*, 2018. RINGO, *et al.*, 2010; RINGO, GATESOUPE, 1998). Atuando como imunoesimulantes, imunomodulador do TGI (NAIEL, *et al.*, 2021), potencial substituto de quimioterápicos,

como os antibióticos (GATESOUPE, 1998), e atuando como melhoradores da saúde intestinal (JATOBÁ; MOURIÑO, 2015; RINGO; GATESOUPE, 1998).

Diferentemente dos organismos terrestres, os organismos aquáticos são mais suscetíveis a microrganismos do ambiente, ou seja, sua microbiota intestinal dependente do meio que habitam. (BALCÁZAR *et al*, 2006). A ação probiótica de BAL, dentro do TGI, está associada diretamente, com a sua interação com microbiota natural do pescado (ISOLAURI; SALMINEN; OUWEHAND, 2004). Um dos fatores primordiais, para o uso de BAL, como probióticos na aquicultura, é sua ação inibitória de microrganismos patogênicos (BALCÁZAR *et al*, 2006). Baseada em três modelos de atuação, modulação intestinal; confronto direto, contra os microrganismos invasores do TGI, ocasionadas por competição pelo alimento e ou espaço; e inativação de produtos tóxicos (PANDIYAN, *et al.*, 2013; BALCÁZAR *et al*, 2006).

### 2.3 FERMENTADOS VEGETAIS NA ALIMENTAÇÃO DE PEIXES

Na aquicultura o processo de fermentação está sendo utilizado, para reduzir o valor dos custos de produção da ração, melhora da saúde e desempenho do pescado (HASSAAN; SOLTAN; ABDEL-MOEZ, 2015; PLAIPETCH; YAKUPITIYAGE, 2014). Como demonstrado na tabela 1. Um dos principais componentes, da dieta da tilápia é a farinha de peixe, por proporcionar a quantidade necessária de proteínas totais, aminoácidos, fácil digestibilidade e presença de ácidos graxos (NG, ROMANO, 2013; EL-SAYED, 1999). No entanto, devido à sua disponibilidade limitada e custo elevado (THIELE, *et al.*, 2021), pesquisas estão sendo realizadas para encontrar substitutos. Por ser considerado um subproduto de alto valor proteico, baixo valor comercial e possuir um equilibrado perfil de aminoácidos, o farelo de soja já foi avaliado como substituto da farinha de peixe em rações para peixes para espécies como achicã (*Micropterus salmoides*); carpa-cruz (*Carassius auratus*); catfish (*Rhamdia quelen*); curimba (*Prochilodus lineatus*); tainha-lábio-vermelho (*Liza haematocheila*); tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) ; (De OLIVEIRA *et al.*, 2022; XU *et al.*, 2022; YANG *et al.*, 2022; LIU, T., *et al*, 2021; FABREGAT, *et al.*, 2011 LIM; LEE, 2011).

O uso do farelo de soja fermentada (FSBM), de maneira geral, proporciona redução de fatores antinutricionais, aumento da palatabilidade e aumento no valor nutricional (MUKHERJEE; CHAKRABORTY; DUTTA, 2016; WANG, L. *et al.* 2016). Na porção bioquímica, ocorre um aumento da biodisponibilidade peptídica, através da

hidrólise proteica, aumento da presença e liberação de aminoácidos livres, como leucina, isoleucina, ácido aspártico e prolina (WANG, L. *et al.* 2016; HONG; LEE; KIM, 2004). Redução do tamanho de proteína, facilitando sua digestibilidade do TGI, redução da presença de compostos alergênicos, aumento da concentração de proteína solúvel e atividade antioxidante (WANG, L. *et al.* 2016; AMADOU *et al.*, 2010; HONG; LEE; KIM, 2004).

**Tabela 1.** Uso de microrganismos fermentadores na aquicultura atual.

MO	Espécie pescado	Proteína Vegetal	Aplicação	Principais Conclusões	Referência
BAL <sup>1</sup>	<i>Siniperca chuatsi</i>	Farelo de soja	Adição de 15% de farelo de soja como componentes nutricionais	Rações com FSM obtiveram um aumento de aminoácidos. Análises sanguíneas revelaram que as concentrações de TP, Alb e ALT não foram afetadas pelo FSM.	FENG, H. et al., 2022.
<i>Lb.</i> <i>acidophilus</i>	<i>Clariepinus</i> <i>acidophilus</i>	Polpa de Soja	Fermentação de polpa de soja para substituição parcial e total da farinha de peixe.	Os peixes que receberam a dieta com a inclusão de 50% de FSP obtiveram melhores resultados em relação ao perfil aminoácidos, taxa de crescimento e ganho de peso.	KARI, Z. A. et al., 2022.
BAL <sup>1</sup>	<i>Largemouth</i>	Farelo de Soja	Fermentação em estado sólido do farelo de soja para parcial substituição da farinha de peixe.	Grupos que receberam o FSM apresentaram um aumento na altura das vilosidades do intestino. A taxa de conversão alimentar foi aumentada. Melhora a resistência a patógenos intestinais tendo destaque a inclusão de 22.5% de FSM.	YANG, H. et al., 2022.
<i>S. cerevisiae</i>	<i>Oreochromis</i> <i>mossambicus</i>	<i>Farinha de Copra</i> <i>Farinha de guar</i>	Fermentação em estado sólido da farinha de copra e guar para substituição parcial e total de farinha de peixe.	As farinhas fermentadas apresentaram maior teor de proteína bruta e uma redução significativa da concentração dos fatores antinutricionais. A substituição de até 25% da farinha de peixe obteve resultados positivos.	DILEEP, N. et al., 2021.
<i>Lb.</i> <i>acidophilus</i>	<i>Oreochromis</i> <i>mossambicus</i>	Suplementação de dieta	Uso de BAL e deformato de potássio em rações vegetais.	Crescimento, pH intestinal e estomacal, testes sanguíneos e bioquímicos, apresentaram respostas positivas, entre a associação de BAL e o deformato de potássio em rações 100% vegetais.	HASSAAN, M. S. et al., 2021.

<i>Lb. acidophilus</i>	<i>Clariepinus</i>	Polpa de Soja	Fermentação de polpa de soja para substituição de proteína animal em rações	A substituição de 50% de proteína animal pela fermentado vegetal apresentaram resultados positivos referente ao crescimento corporal, TGI, conservação da barreira epitelial do TGI e aumento na concentração de eritrócitos e linfocitose.	KARI, Z. A. et al., 2021.
<i>Lb. plantarum</i> <i>S. cerevisiae</i>	<i>Oreochromis niloticus e urolepis</i> <i>urolepis</i>	Suplementação de dieta	Aplicação de BAL e levedura como probióticos em rações destinadas.	Os microrganismos afetaram positivamente o crescimento dos animais.	MAPENZI, L. L. et al., 2021.
BAL <sup>1</sup> <i>S. cerevisiae</i> <i>Bacillus sp.</i>	<i>Oreochromis nilóticos</i>	Resíduos alimentares	Suplementação de dietas para tilápia do Nilo com o uso de farinha fermentada de resíduos.	A adição do fermentado aumentou o teor de proteína das dietas. A adição de 30% do fermentado aumentou o desempenho de crescimento dos animais	ANDRIANI, Y. et al., 2021.
<i>Lb. acidophilus</i> <i>B. subtili</i> <i>S. cerevisiae</i>	<i>Eriocheir sinensis</i>	Farelo de soja	Substituição da farinha de peixe, por diferentes níveis de inclusão de farelo de soja fermentado	Níveis de até 30% podem ser usados sem afetar negativamente o desempenho, atividade enzimática e síntese proteica.	HE, M. et al., 2020.
BAL <sup>1</sup>	<i>Cyprinus carpio</i> <i>L. 1758</i>	Farelo de soja	Avaliar a fermentação de BAL presentes o soro de leite, misturados com o farelo de soja, como fonte proteica vegetal.	Os parâmetros avaliados, de desempenho, eficiência alimentar e contagem total de BAL, não sofreram alteração, em uma substituição de até 50% de FSM.	YİĞİT, I. Ö., ARAFATOĞLU, M. E., YASAR, S., 2020.

<i>Aspergillus niger</i>	Carpa Gibel ( <i>C. auratus gibelio</i> CAS III)	Folha de moringa ( <i>Moringa oleifera</i> Lam.)	Substituição parcial da farinha de peixe pela folha de moringa fermentada.	O tratamento com 40% da folha fermentada apresentou menor contagem de <i>A. hydrophila</i> , um dos principais patógenos encontrados em pescado. De acordo com os autores o fermentado proporcionou um aumento na sobrevivência, melhora saúde intestinal e atividade sérica.	ZHANG, X. et al., 2020.
<i>Produto comercial fermentado<sup>2</sup></i>	Tlápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> )	Farinha de tremoço (amarelo e azul)	Comparação de diferentes inclusões de tremoço com e sem fermentação	Os tratamentos que receberam a farinha de tremoço e o produto comercial mostraram os melhores resultados de desempenho, porém não afetaram o TGI dos animais avaliados.	BOWYER, P. H. et al., 2020.

Legenda: <sup>1</sup>Autor não identificou a espécie de BAL ou microrganismo usada na fermentação; <sup>2</sup>Synergen<sup>TM</sup>- (Alltech®); <sup>a</sup>Polpa de soja fermentada. <sup>\*</sup>Espécie não identificada.

## 2.4 TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticos*)

Existem mais de 70 tipos de espécies de tilápia, porém três destas, receberam grande destaque mundial na indústria da aquicultura: *Oreochromis aureus* (tilápia Azul); *Oreochromis mossambicus* (tilápia de Mossambique) e a *Oreochromis niloticus* (tilápia do Nilo) (JOSUPEIT, 2005; KUBITZA, 1999). A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), é um peixe de água doce, pouco tolerante a salinidade, onívoro, porém possui alta adaptação a ingestão de ração, tolerante a temperaturas mais altas, quando comparadas a animais da mesma espécie e a sua carne possui alta aceitação do consumidor (JOSUPEIT, 2005; POPMA; MASSER, 1999; LIKONGWE *et al.*, 1996; STICKNEY, 1986). São caracterizadas, morfologicamente, por possuírem um formato semelhante a uma meia lua, de coloração cinza, com leves variações de rosa ao redor da garganta e possuírem um traço lateral no corpo, característico de ciclídeos. São peixes resistentes, com rápido desempenho de crescimento (DA SILVA *et al.*, 2015; VITULE; FREIRE; SIMBERLOFF, 2009; TOWERS, 2005).

Diversos registros evidenciaram a origem da Tilápia do Nilo no continente Africano (DA SILVA *et al.*, 2015). Mais especificamente, em países próximos a linha do equador, caracterizados, por dispor de um clima mais tropical, onde é detectado diversas bacias hidrográficas, abrangendo países como Quênia, Ruanda e República Democrática do Congo (DA SILVA *et al.*, 2015; VICENTE, ELIAS, FONSECA-ALVES). Cerca de 120 países, produzem de forma intensiva ou semi-intensiva, a tilápia (FAO, 2019a). Nos últimos trinta anos, a produção mundial de tilápia cresceu em torno de 11%, e entre 2008 e 2017, foi estimado um crescimento mundial de 108 % (FAO, 2019a; FAO, 2019b; VIDAL; XIMENES, 2019).

O cultivo de tilápia no Brasil se iniciou, entre os anos de 1950 e 1970 (VICENTE, *et al.*, 2014; WOHLFARTH; HULATA, 1981). Por ser considerado um peixe de fácil adaptação e manejo, a sua produção aumentou linearmente no país (DIAS; DE OLIVEIRA, 2021). De acordo com a sociedade nacional de agricultura (2020), no ano de 2019 foram produzidos aproximadamente, 758 mil toneladas de peixes oriundos da piscicultura, sendo que a produção de tilápia representa 57% de toda a produção nacional, cerca de 432.149 toneladas. Santa Catarina é considerado o quarto estado de maior produção de tilápia no país (SOUZA; SILVA; NOVAES, 2022).

#### 2.4.1 Exigências nutricionais tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

Um dos principais aspectos que influencia diretamente na rentabilidade da produção de tilápias, é o manejo alimentar (KUBITZA, 2006, YOSHIOKA, 2011). Atender todas as exigências nutricionais, faz com que o peixe tenha um melhor desempenho produtivo e reprodutivo (YOSHIOKA, 2011). A ração destinada a alimentação de pescados, deve atender todas as exigências nutricionais, para assegurar os três principais pilares de uma boa produtividade, saúde, desenvolvimento corporal e reações metabólicas efetivas (KUBITZA, 2002).

O maior gasto, atribuído a produção de tilápia, em sistemas intensivos, é destinado a alimentação (EL-SAYED, 1999). Sendo que, a matriz dietética, de maior custo da ração, é a fonte proteica (EL-SAYED, 1999). Dependendo da espécie e peso da Tilápia, a porcentagem de proteína bruta pode variar de 30 a 40%, e para a alimentação de alevinos pode ser recomendado uma ingestão de 32% de proteína. (KUBITZA, 2006; KUBITZA, 2002). Outros aspectos que envolvem a nutrição da tilápia são:

- Presença de AA (aminoácidos) essenciais. As dietas destinadas a alimentação da tilápia devem conter no mínimo 10 AA essenciais, como metionina (Met), lisina (Lys), arginina(Arg), fenilalanina (Phe), histadina (His) e vanila (Val), triptofano (Trp), isoleucina (Ile), leucina (Leu), treonina (Thr), substâncias não sintetizadas pelo organismo, precursoras de proteínas (FERNANDES, 2015; NG; ROMANO, 2013; KUBITZA, 2006; KUBITZA, 2002);
- Ácidos graxos. A dieta deve conter no mínimo 5% de lipídeos, incluindo ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) n-3 e n-6 (NG; CHONG, 2004; FAO, S/N);
- Não existem teores específicos, para a presença e quantidade de carboidratos, contudo, é recomendado que seja usado até 40% de carboidratos, que envolvem açúcares de metabolização prolongada, como o amido (FAO, S/N; (NG, ROMANO, 2013; EL-SAYED, 2006);
- Vitaminas. Dependendo do sistema de cultivo, intensivo ou semi-intensivo, a presença de vitaminas pode ser ou não necessária, pela disponibilidade de alimentos naturais (FAO, S/N). São substâncias essenciais, que só podem ser obtidas através da ingestão da dieta (TOLEDO; NASCIMENTO, 2010). As principais vitaminas adicionadas na dieta, são do complexo B, e vitaminas lipossúveis, A (retinol), E ( $\alpha$ -tocopherol), K (Fitomenadiona), D (Cholecalciferol), e C (Ácido ascórbico). A quantidade pode variar

de acordo com o nível de ácidos graxos. Em rações com 5% de ácidos graxos, é indicado a suplementação de 50-100 mg / kg de vitamina E. Para a determinação do teor de vitaminas na dieta, é considerado também, a quantidade de instaurações lipídicas (NELSON; COX, 2014; FAO, SN);

- Minerais. Um dos compostos inorgânicos, mais importantes para alimentação da tilápia, são os minerais (NG, ROMANO, 2013). Compreendem, Ca, P, K, Fe, Mg, Na, Cr, Zn, e Cu (NG; ROMANO, 2013). Atuam diretamente, em diversas funções vitais do organismo, como nas atividades enzimáticas digestivas, regulação osmótica, trocas gasosas, entre outros. Estudos indicam que o uso, e suplementação, de rações com minerais, como o fósforo, pode melhorar a performance, produtividade e composição química da carcaça. (NG, ROMANO, 2013; PEZZATO, 2006; BOSCOLO *et al.*, 2005). A adição de vitaminas e minerais na dieta, é realizada através de preparados comerciais (NG, ROMANO, 2013).

## 2.5 SISTEMA DE BIOFLOCOS E INTERAÇÃO MICROBIANA

O BFT é um dos sistemas de cultivo mais inovadores e sustentáveis da aquicultura emergente (WEI; LIAO; WANG, 2016). É definida como um sistema biológico que reprocessa resíduos naturais dentro do cultivo intensivo de organismos aquáticos, caracterizado por limitar a circulação e substituição de água (HARGREAVES, 2013; AVNIMELECH, *et al.*, 2009). Suas vantagens envolvem reciclar a alimentação do pescado, controlar a proliferação indesejada de microrganismos deteriorantes, reduzir a eliminação de efluentes contínuos e aumentar a produtividade do sistema de cultivo aquícola (BARBOSA, *et al.* 2017; AVNIMELECH, *et al.*, 2009).

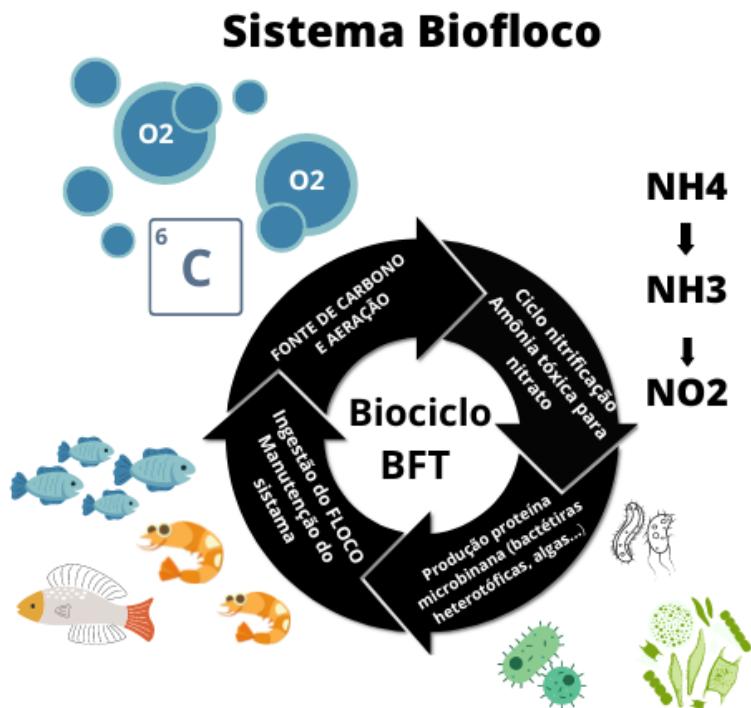
O sistema BFT é composto de flocos, formados por meio da conversão de matéria orgânica acumulada, como dejetos de rações, fezes, e a presença de uma comunidade microbiana, bactérias heterotróficas, algas e protozoários (SANTAELLA, *et al.*, 2018). A bioconversão dos flocos é realizada por um sistema com constante motilidade, oxigenação e adição de fontes de carbono, como o melaço, no meio de cultivo (AZIM; LITTLE, 2008). Os flocos formados são fontes de proteína, minerais e vitaminas, e servem como um alimento natural para os animais (HARGREAVES, 2013; AZIM; LITTLE; BRON, 2008). Em sistemas de cultivo intensivo compostos nitrogenados são essenciais para a manutenção da microbiota e saúde aquática (COLLAZOS-LASSO; ARIAS-CASTELLANOS, 2005). Porém a alta concentração de nitrito (NO<sub>2</sub>) e amônia

(NH<sub>3</sub>), se tornar um fator prejudicial à saúde do animal, devido à alta toxicidade desses compostos, necessitam ser removidos ou se convertidos em substâncias possíveis de serem metabolizadas (EBELING; TIMMONS 2006; HARGREAVES, 1998). Como no BFT a troca de água é mínima, o controle desses compostos é realizado pela própria microbiota sistema (HARGREAVES, 1998). A eliminação da amônia pode ser executada de três principais modos, através da cadeia de organismos autotróficos, metabolização por bactérias heterotróficas, e pela nitrificação, responsável por transformar a amônia em nitrogênio inorgânico (HARGREAVES, 2013). O nitrito pode ser eliminado através de técnicas que envolvem o uso de cloreto de amônia e nitrito de sódio (NaNO<sub>2</sub>) e a nitrificação, transformando-o em nitrato (LARA, 2012).

Assim o sistema BFT pode se tornar uma alternativa bio sustentável e rentável para o cultivo de peixes de água doce, como a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (ABAKARI, *et al.*, 2020). Diferentemente do cultivo de camarões por BFT, o cultivo de tilápia é realizado com uma alta concentração de biomassa, que pode equivaler a 10<sup>7</sup> UFC/mL (AVNIMELECH, *et al.*, 2011).

O manejo alimentar das tilápias, em BFT, deve ser realizada semi continuamente, as rações oferecidas, geralmente possuem um tamanho menor do que quando comparada a convencionais comerciais. A proporção entre C:N deve se manter acima de 15% (AVNIMELECH, 2006). Estudos, indicam que a relação, de 10:1, entre C:N, pode apresentar resultados positivos referente ao ganho de peso e taxa de sobrevivência, dentro de um sistema intensivo BFT (PÉREZ-FUENTES, *et al.* 2016). Os animais produzidos em BFT tendem a se alimentar menos de rações comerciais, já que o alimento pode ser fornecido diretamente do próprio sistema, através dos flocos de um sistema equilibrado (PÉREZ-FUENTES, *et al.* 2016; AVNIMELECH, 2006). Do total de proteínas fornecidas pelas rações, apenas 25%, são absorvidas pelo TGI dos peixes AVNIMELECH, 2006), o excedente retorna para o ciclo demonstrado da figura 1 (AVNIMELECH, *et al.*, 2011; AVNIMELECH, 2006).

**Figura 1.** Ciclo de manutenção BFT



Fonte: Própria autora, adaptação Stevanato e Rossi (2021).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O estudo foi dividido em dois estágios distintos. O primeiro com testes *in vitro* que foram realizados nos Laboratórios do Grupo de Pesquisa em Tecnologia de Alimentos e Bioprocessos da Universidade Federal de Santa Catarina – Florianópolis. O segundo consistiu em um teste *in vivo* (ensaio biológico) no laboratório de Piscicultura da Universidade Estadual de Santa Catarina do Centro de Ciências Agroveterinárias – Lages. O trabalho foi aprovado pelo comitê de ética para uso animal em pesquisas (CEUA-UDESC) protocolo nº 8681210822. Foram avaliados dois tempos de fermentação na produção de rações vegetais fermentadas para juvenis de tilápia do Nilo cultivados em sistema BFT. As rações vegetais fermentadas foram comparadas com uma dieta controle positivo contendo farinha de peixe, e uma dieta controle negativo sem proteína animal. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos e seis repetições.

#### 3.2 SELEÇÃO DOS MICRORGANISMOS E PUREZA

A cepa utilizada na fermentação das rações vegetais foi o *Lb. acidophilus* DSM 21717 *Coana*®. A cepa foi selecionada com base em ensaios piloto preliminares, e uma busca pela literatura e artigos científicos nas plataformas Google academics, SciElo, Portal periódico Capes e MDPI. Antes da utilização, para verificar a pureza das cepas adquiridas, os microrganismos foram reativados em caldo MRS a 36 °C por 48 h. A determinação da pureza foi baseada na avaliação morfológica da cepa em ágar e com o auxílio de um microscópio óptico.

#### 3.3 ESTOCAGEM E CRESCIMENTO DAS CEPAS

Após a verificação da pureza, a cepas foram estocadas em eppendorf de 2 mL, contendo solução de glicerol 50% (v/v) em ultrafreezer a -80 °C (MIAO, et al., 2008). A determinação do crescimento celular foi realizada para estabelecer com precisão a quantidade de inóculo que foi adicionado nas rações para fermentação em estado sólido.

A leitura do crescimento celular foi realizada utilizando espectrofotômetro (Biochrom Libra S22), a um comprimento de onda de 600 nm (MENEZES, DRUNKLER, 2014).

### 3.4 RAÇÕES EXPERIMENTAIS

Duas rações isoproteicas (33% PB) e isoenergéticas (4100 kcal/kg) contendo ou não farinha de peixe foram formuladas (Tabela 2) para atender as exigências nutricionais da tilápia (Hafedh, 1999; El-Sayd, 2002). A composição de aminoácidos seguiu a recomendação de Santiago e Lovell (1988). A dieta controle positivo (RPA) contém 20% de farinha de peixe. O farelo de soja também foi utilizado como fonte proteica e o óleo de soja, milho e farinha de trigo como fontes energéticas. A farinha de peixe foi adquirida na Agroforte® (Laguna, Santa Catarina, Brasil), o premix multivitamínico foi cedido pela empresa Quimtia®, e os demais ingredientes foram adquiridos de fornecedores locais. Todos os ingredientes foram moídos em processador industrial e peneirados em malha 0,71 mm e misturados de forma homogênea. As rações foram armazenadas em embalagens plásticas e mantidas sob refrigeração (4 °C) até o momento da peletização.

Todas as rações foram peletizadas em um moedor de carne com adição de água (30%) e levados à estufa a 45°C por 36 horas. A temperatura de secagem foi baixa para manter os microrganismos ativos. Estudos anteriores já demonstraram que as bactérias láticas dos fermentados podem continuar ativas após a peletização (Picoli et al., 2022). As rações permaneceram armazenadas em embalagens plásticas e mantidas em refrigeradores (4°C) até o momento do uso.

**Tabela 2. Composição das dietas experimentais**

(%) Ingredientes	RPA	RPV
Farelo de soja	42	65
Farinha de peixe	21,7	-
Milho	19,5	20,0
Farelo de trigo	13,0	13,0
Óleo de soja	3,0	1,0
Premix*	0,5	0,5
DL-Metionina	0,30	0,5
Total (%)	100	100

### Composição calculada

MS (%)	89,21	88,15
PB (%)	33,64	33,83
EB (kcal.kg-1)	4116,07	4131,11
EE (%)	7,34	5,03
FB (%)	4,87	6,41
MM (%)	11,16	4,90

Legenda: RPA- Ração proteína animal; RPV- Ração proteína vegetal. \*Premix - Ácido fólico – 1.000 mg/kg, Panteonato de cálcio– 9.000 mg/kg, Biotina – 100 mg/kg, Vit. A – 2.400.000 UI, Vit. D3 – 48.000 UI, Vit. E – 24.000 UI, Vit. B1 – 1.600 mg, Vit. B2 – 9.600 mg, Vit. B6 – 2.600.000 UI/kg, Vit. B12 – 4.000 UI/kg, Vit K3 – 609 mg/kg, Vit. C – 49 g/kg, Ferro – 20 g/kg, Manganês – 5.980 mg/kg, Zinco – 28 g/kg, BHA – 196 mg/kg, BHT – 3.040 mg/kg, Iodo – 200 mg/kg, Selênio – 60 mg/kg, Niacinina – 36 mg/kg, Colina – 60 g/kg, Inositol 2.000 mg/kg. Níveis de garantia por Kg do produto (mínimo).

### 3.5 FERMENTAÇÃO DA RAÇÃO VEGETAL

As rações vegetais foram fermentadas seguindo metodologia adaptada de Azarm e Lee (2014). Amostras autoclavadas (100°C por 20 min) das rações foram umedecidas (50% de umidade) com água mineral estéril e inoculadas com 2% de sacarose comercial e *S. cereviseae* (fermento biológico seco Fleischamann®) O fermento sacaromítico foi reativado em água morna antes de ser inoculado na ração na proporção de 60,5 mg para cada 2 kg de ração (HASSAAN; SOLTAN; ABDEL-MOEZ, 2015). O inóculo direto nas rações do *Lb. acidophilus* previamente reativado foi realizado após centrifugação (10 mim a 4000 rpm), lavagem e ressuspensão do pellet, na concentração de 8 log UFC/g. As amostras foram misturadas e dispostas em bandejas, mantendo altura máxima de dois centímetros de amostra por bandeja. A fermentação foi conduzida em estufa a 36°C por até 24 horas para determinar o tempo ótimo de fermentação. Terminado o processo de fermentação, as rações fermentadas foram secas em estufa (36°C) até atingir peso constante e posteriormente mantido em freezer (-20°C).

### 3.6 CARACTERIZAÇÃO DAS RAÇÕES FERMENTADAS

Ao longo do processo de fermentação (a cada 6 horas) foram coletadas amostras dos fermentados para contagem das populações de bactérias láticas, análises

bromatológicas e físico-químicas e, de forma a determinar o tempo ótimo de fermentação. Para o ensaio com peixes foram selecionados dois tempos, de forma a testar uma fermentação total ou parcial. Além das análises descritas, nos tempos selecionados também foi realizada a análise da composição de aminoácidos e de *shelf-life*. As rações foram então peletizadas com adição de água (30%) e secas a 36°C em estufa por 48 h. Após esse período, as rações são trituradas e peneiradas para obter o tamanho de partícula desejado para alimentação, cerca de 1,5 mm e foram armazenadas em freezer (-20°C) até o momento da utilização.

Para a construção da curva de fermentação, foram avaliados a contagem de células viáveis em log UFC/g. Foram pesados e diluídos em sacos estéreis contendo água peptonada esterilizada, 1,6 gramas de cada amostra. Os sacos foram agitados em vórtex, por aproximadamente 1 minuto, para completa homogeneização da amostra. A diluição seriada foi realizada até 10-8, em tubos de vidro esterilizados contendo 9 mL de água peptonada e 1 mL da amostra. Em seguida 0,1 mL das diluições, de 10 -5 até 10-8, dependendo o tempo de fermentação, são inoculadas, em triplicata em placas de MRS ágar, para contagem de bactérias ácido láticas. As placas foram incubadas invertidas, em estufa a 36°C por 48 h, para posterior contagem de UFC/mL (CAVALCANTE, et al., 2020BOMFIM, et al., 2019, KAKTCHAM et al., 2017).

Amostras da ração fermentada foram coletadas para avaliação da composição proximal: umidade (estufa 105°C), proteínas (método de Kjeldhal), lipídeos (método de Soxhlet) e cinzas (incineração em mufla à 650°C), conforme metodologia oficial da AOAC (2000). A identificação de proteínas solúveis totais é realizada pelo método de Bradford (1976), com adaptações. Em balança analítica, 0.002 gramas, das rações formuladas, são pesadas e adicionadas em eppendorfs de 2 mL. As amostras são diluídas em 1 mL de solução de PBS (1:10, p/v). Os eppendorfs foram expostos a um sonicador (marca Bandelin Sonopuls HD 2200) durante 2 mim e 30 seg (5 vezes de 30 seg com intervalos de 1 min em banho de gelo), para a liberação das proteínas solúveis. As amostras são centrifugadas, por 10 mim a 4000 rpm. O sobrenadante foi usado para a análise de Bradford. Subsequentemente é preparado, uma solução de BSA (albumina de soro bovino) 20 mg/10 mL para realizar a curva padrão de diluição, usadas para a construção do gráfico de calibração, para a análise. É adicionado, em uma cubeta de quartzo, 10 µl de amostra e 1 mL de solução de Bradford. A solução deve ser homogeneizada cuidadosamente, e ficar em local sem luminosidade. A leitura da

densidade ótica é realizada em espectrofotômetro (marca Thermo scientific Genesys 150) a 595 nm. Através da medida de absorvência é possível determinar, a quantidade de proteína solúvel da amostra, em mg/g. A análise da concentração de aminoácidos foi realizada na Análises laboratoriais CBO através da metodologia descrita por White, Hart e Fry (1989), e Lucas, Sotelo (1980).

A determinação da *shelf-life* das rações foi realizada através da avaliação da curva de inviabilização microbiana (sobrevivência BAL) e contagem de bolores e leveduras. As dietas peletizadas controles (RPA e RPV) e fermentadas (RPVF6 E RPVF18), foram mantidas a temperatura ambiente e refrigeradas. As coletas para a análise foram realizadas nos dias 0, 7, 15, 30 e 60 dias. Pesadas 5g de cada amostra e o protocolo experimental foi o mesmo realizado para a formulação da curva cinética. As placas foram inoculadas em ágar Potato Dextrose Ágar (PDA) e ágar MRS, para a contagem de bolores e leveduras, e BAL, respectivamente. As placas de PDA são incubadas, a temperatura próxima a ambiente, entre 24 e 48 horas. As placas de ágar MRS são incubadas em estufas dentro de jarras de anaerobiose, invertidas em estufas por 36 °C, entre 24 e 48 h. A contagem foi realizada em triplicata por UFC/g.

### 3.7 ANIMAIS E INSTALAÇÕES

Para o experimento in vivo foram utilizados 408 juvenis masculinizados de tilápia do Nilo com peso inicial médio de  $8,27 \pm 0,21$  gramas, cedidos por um produtor de tilápia localizada em Pouso Redondo, Santa Catarina. Após um período de aclimatação de 15 dias os peixes foram distribuídos em 24 tanques com volume útil de 70 L na densidade de 17 peixes por tanque. Os tanques foram equipados com sistema de aeração individual acopladas em um compressor radial. Cada unidade experimental terá também um aquecedor com termostato responsável por manter a temperatura de cultivo constante (~26-28°C) e ambiente climatizado a 30 °C.

### 3.8 MANEJO ALIMENTAR

Os animais foram alimentados a até a saciedade aparente duas vezes por dia (08h e 16h). A ração foi fornecida de forma a não haver sobras. Optou-se por este manejo para obter uma resposta em relação a ingestão da ração fermentada. Estudos já foram conduzidos com sucesso no laboratório com está mesma metodologia. As tilápias são

muito vorazes e mesmo no sistema BFT é possível observá-las se alimentando e quantificar o consumo.

### 3.9 MANUTENÇÃO SISTEMA BFT

Para a preparação dos tanques de cultivo, foi realizada a inoculação de 20% de água de outro sistema BFT maduro (biofoco mãe). A água dos tanques foi ligeiramente salinizada ( $4 \text{ g L}^{-1}$ ) com o objetivo de diminuir a suscetibilidade a doenças. A medição da salinidade foi realizada com o auxílio do refratômetro. Todos os tanques receberam oxigenação ininterrupta. Para manutenção do sistema heterotrófico do biofoco foi utilizado o cálculo da quantidade de carbono orgânico adicionado a água a fim de manter a relação C/N de 15:1 (WIDANARNI et al., 2012; WANG et al., 2015). Essa metodologia baseia-se no pressuposto de que os peixes assimilam aproximadamente 25% do nitrogênio dos alimentos e que os 75% restantes são convertidos em nitrogênio amoniacal total (NAT) na água (SCHRYVER et al., 2008). A quantidade de nitrogênio foi monitorada com base nas análises amônia na água, utilizando um kit de análise rápida (Labcon Teste®) e o melaço foi adicionado sempre que os valores excederem  $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ . Trocas parciais de água foram realizadas sempre que os sólidos sedimentáveis excederam  $25 \text{ mg L}^{-1}$ .

### 3.10 QUALIDADE DA ÁGUA

A medições de temperatura, pH, oxigênio dissolvido e concentração de amônia, nitrato, nitrito (RICE et al., 2012) e sólidos sedimentáveis (AVNIMELECH, 2007) foram realizadas a cada dois dias. Para os parâmetros do oxigênio dissolvido e temperatura foi utilizado o equipamento Oxímetro Alfakit™ AT170. Para as concentrações de amônia, nitrato e nitrito foi utilizado o fotocolorímetro Alfakit™, modelo AT100P.

Para determinação dos sólidos sedimentáveis uma alíquota da água de cada tanque foi coletada e transferida para um cone de Imhoff, após 20 mim da coleta foi avaliado a quantidade de sólidos que sedimentarão nos cones. Semanalmente foram coletadas amostras de água para a realização de análises sólidos suspensos totais (TSS) (RICE et al., 2012). Os parâmetros de qualidade da água se mantiveram dentro do limite recomendado para o cultivo de tilápia em BFT (DESWATI, et al. 2022,). Os seguintes valores médios foram obtidos para temperatura:  $27,09 \pm 0,36 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ; pH:  $8,40 \pm 0,28$ ;

oxigénio dissolvido:  $8,08 \pm 0,23$  mg L<sup>-1</sup>; amônia:  $0,47 \pm 0,27$  mg NH<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>; nitrito:  $0,35 \pm 0,09$  mg NH<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>; nitrato:  $1,43 \pm 1,14$  mg NH<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>; sólidos sedimentáveis:  $7,96 \pm 3,16$  mg L<sup>-1</sup> e sólidos suspensos totais  $225,22 \pm 82,08$  mg L<sup>-1</sup>.

Para avaliar o efeito da ração fermentada sobre a bactérias presentes no sistema periodicamente foram realizadas análises microbiológicas da água, nos dias 0, 7, 15, 30 e 60, para avaliação da interação entre as rações aplicadas e a qualidade microbiológica da água, através da contagem de microrganismos heterotróficos, BAL e *Vb. sp*. As placas de Petri foram incubadas em estufa a 35°C. As unidades formadoras de colônias (UFC) foram contadas após 24 h de incubação nos meios TSA e TCBS e após 48 h no meio MRS.

### 3.11 DESEMPENHO PRODUTIVO

No início dos experimentos, aos 30 e aos 60 dias, todos os peixes foram mantidos em jejum por 24 h, anestesiados com eugenol ( $50$  mg L<sup>-1</sup>) e pesados individualmente. O desempenho produtivo foi analisado com base nos seguintes parâmetros: ganho de peso (GP= peso médio final - peso médio inicial) e conversão alimentar aparente (CA = consumo de ração / ganho de peso total). A mortalidade foi registrada para avaliar a taxa de sobrevivência (S% = [total de animais no final / total de animais no início] \* 100).

Aos 60 dias de experimento foram anestesiados e depois submetidos à eutanásia por secção medular para coleta dos materiais biológicos oito peixes de cada unidade experimental, sendo dois peixes para análises de histomorfometria intestinal, três peixes para contagem de microrganismos intestinais e três peixes para análises de atividade das enzimas intestinais. Nas análises de contagem de microrganismos e atividade enzimática foi realizado um “pool” com os três peixes de cada tanque, resultando em uma amostra por unidade experimental. Tal estratégia foi adotada para reduzir a variabilidade, tendo em vista as limitações técnicas e econômicas que impedem o aumento do número de análises.

### 3.12 CONTAGEM DE MICRORGANISMOS INTESTINAIS

Os intestinos foram removidos, pesados, triturados, homogeneizados e diluídos serialmente (1:10) em tubos de ensaio contendo solução salina estéril (0,65%). Em seguida, os homogenatos intestinais foram semeados em placas de Petri com ágar MRS

(Man Rogosa Sharpe), ágar TSA (ágar triptona de soja) e ágar TCBS para quantificar bactérias ácido láticas, heterotróficas totais e *Vibrio sp.* (CAVALCANTE, et al., 2020; SILVA et al. 2020; KAKTCHAM et al., 2017). Os homogenatos intestinais semeados nas placas de Petri foram incubados em estufa a 35°C. As unidades formadoras de colônias (UFC) foram contadas após 24 h de incubação nos meios TSA e TCBS e após 48 h no meio MRS.

### 3.13 HISTOMORFOMETRIA INTESTINAL

A análise histológica tem como objetivo, avaliar os parâmetros envolvidos nas características morfológicas das vilosidades, presentes, no intestino dos juvenis de tilápia (Mello et al., 2013). A análise foi realizada na empresa NEX.10 Patologia Veterinária®, localizada no estado de Santa Catarina, Tubarão.

Para a realização da análise foram coletados os intestinos de duas amostras de cada tratamento (n=2 peixes). Os intestinos foram retirados, pesados, armazenados em recipiente higienizado e identificados, contendo 15 % de formol. A elaboração e coloração das lâminas foi realizado, utilizando a técnica de hematoxilina de HarrisEosina (BEHMER et al., 2003). As lâminas foram analisadas com o auxílio de microscópio óptico e o software TouTek TouView - analisador de imagens x64, versões 2270/07/03. Foram avaliadas e mensuradas as vilosidades e o número total de células caliciformes de cada peixe.

### 3.14 ATIVIDADE ENZIMÁTICA

Para a determinação da concentração das enzimas amilase e protease alcalina total presentes no intestino dos juvenis de tilápia do Nilo, foi realizado a metodologia descrita por García-Carreño e Haard (1993). Foram coletados, 3 amostras de cada tratamento (n=3 peixes). A coletado do trato digestivo, foi realizada através de uma incisão do ânus até o opérculo. Ocorreu a retirada da vesícula biliar, estômago, fígado, bile e a porção do intestino é separado e pesado. As amostras coletas foram envolvidas em papel alumino, e condicionadas em ultrafreezer -80 °C Para a realização da análise as amostras foram descongeladas a temperatura ambiente, pesadas e fracionadas em tamanhos menores para facilitar sua homogeneização. As amostras foram fluidificadas com o uso de água destiladas esterilizada gelada (1:6 p/v), foi aplicada um banho ultrassônico sob

refrigeração durante 5 mim, a solução foi centrifugada a uma rotação de 4000 rpm por 15 mim. O sobrenadante obtido foi utilizado para definir a concentração das enzimas avaliadas.

A determinação da atividade da amilase, foi realizada através do teste de hidrólise de amido, expressa em mol açúcares redutores (MÉTAIS e BIETH, 1968). A atividade de protease foi avaliada através da quantificação de hidrólise de azocaseína, representada através de U.mg – 1 de proteína (GARCÍA-CARREÑO e HAARD, 1993). As análises foram realizadas em triplicata.

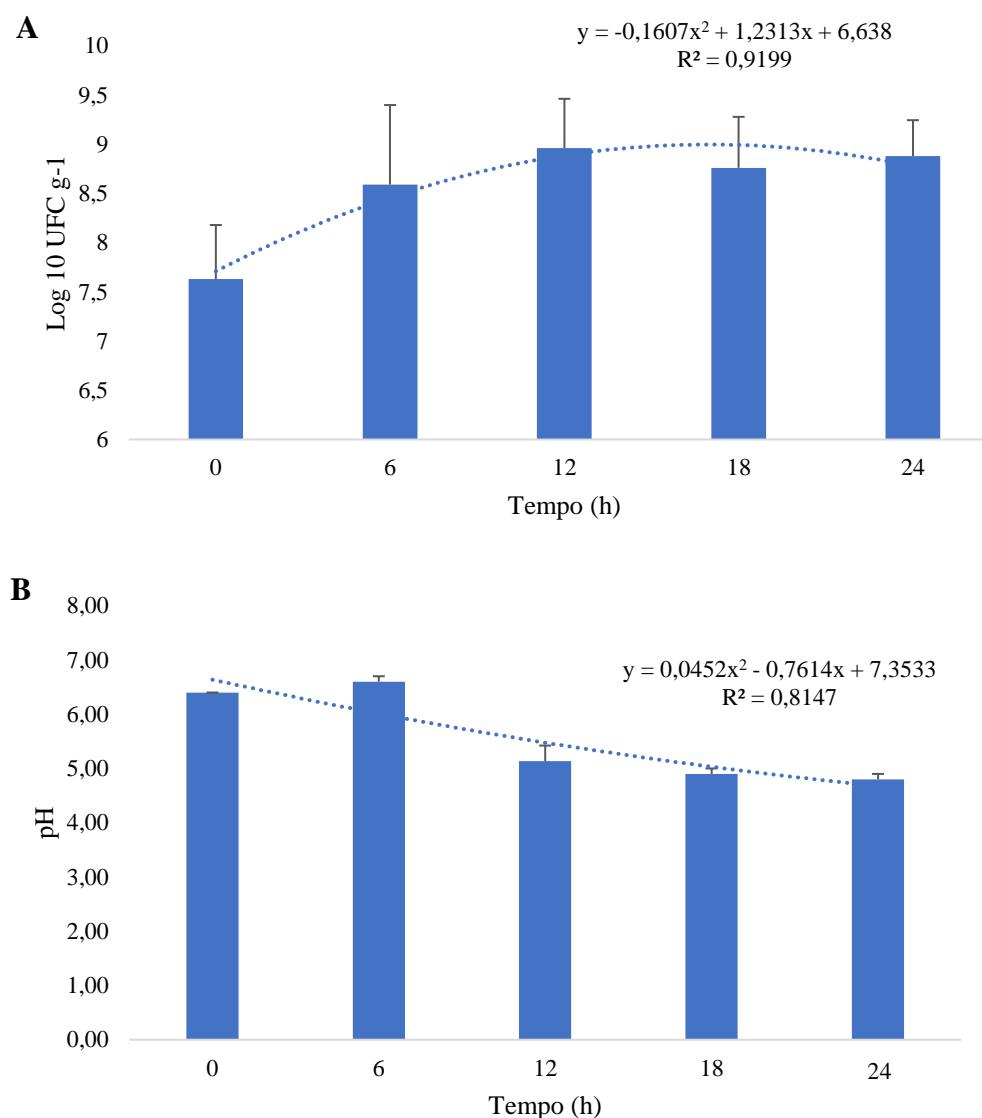
### 3.15 ANÁLISE ESTATÍSTICA

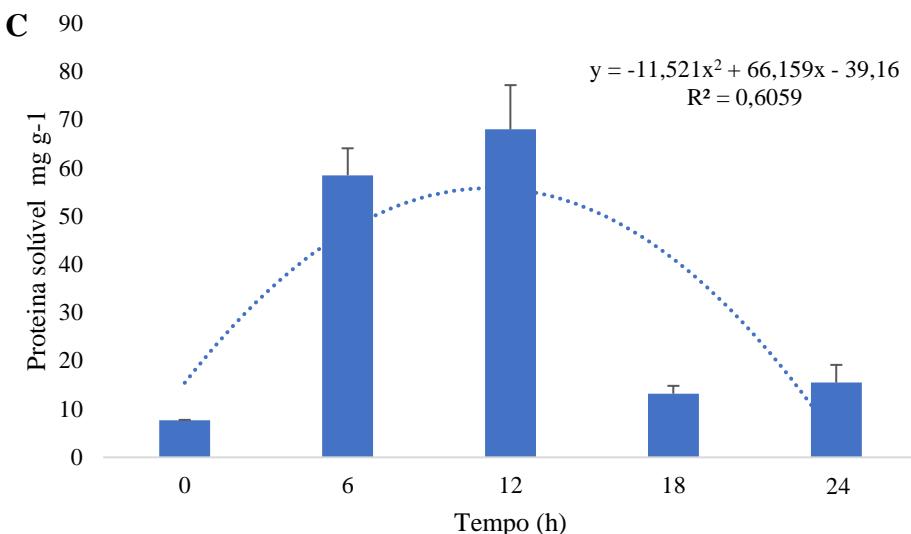
Os dados foram submetidos a testes para verificar a normalidade dos erros (Shapiro-Wilk) e a homocedasticidade das variâncias (Levene). Os valores percentuais foram submetidos à transformação arco seno. As diferenças entre os resultados obtidos foram determinadas mediante análise de variância (ANOVA), por meio de teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o software Statistica versão 10.0 e Excel.

## 4 RESULTADOS

### Caracterização da ração fermentada

A curva cinética de crescimento microbiana durante a fermentação da ração pode ser observada na figura 2 A. A fase exponencial (Log) foi atingida durante 6 h de fermentação. Após 12 h (fase estacionária) as BAL alcançaram sua concentração máxima celular, em seguida entraram em fase de declínio. A multiplicação das BAL reduziu o pH (Figura 2 B) e aumentou a concentração de proteína solúvel (Figura 2 C).





**Legenda** Figura 2: A-Curva cinética durante a fermentação de rações vegetais com *Lb. acidophilus* durante 24 h. Figura B- Medida de pH durante a cinética de fermentação, com *Lb. acidophilus*, de rações vegetais. Figura C- Concentração de proteína solúvel ao longo da fermentação de rações vegetais com o uso de *Lb. acidophilus*.

A fermentação não afetou composição bromatológica (Tabela 3) e perfil de aminoácidos (Tabela 4) das rações experimentais.

**Tabela 3.** Análise da composição bromatológica das rações experimentais.

%	RPA	RPV	RPVF6	RPVF18
Matéria seca	95,39± 0,08	94,78± 0,02	94,78± 0,07	93,84 ± 0,19
Material mineral	12,8± 0,06	5,48± 0,04	5,42± 0,01	5,47 ± 0,11
Proteína Bruta	34,14± 1,90	36,89± 1,94	35,88±1,92	36,57± 1,93
Gordura	3,7±3,42	5,77±0,09	3,64±2,92	4,07±1,71

Legenda: RPA- Ração proteína animal; RPV- Ração proteína vegetal; RPVF6- Ração proteína vegetal fermentada por 6H; RPVF18- Ração proteína vegetal fermentada por 18H;

Fonte: Próprio autor.

Tabela 4. Perfil de aminoácidos de rações experimentais utilizadas para a alimentação de tilápias do Nilo.2

Aminoácidos (%)	RPA	RPV	RPVF6	RPVF18
<i>Aminoácidos essenciais</i>				
Arginina	1,99	2,35	2,38	2,35
Fenilalanina	1,44	1,87	1,78	1,74
Histadina	0,75	0,94	0,90	0,90
Isoleucina	1,38	1,72	1,66	1,63
Leucina	2,43	3,00	2,89	2,89
Lisina	2,08	2,50	2,28	2,14
Metionina	0,73	0,83	0,90	0,80
Valina	1,58	1,80	1,74	1,73
Treonina	1,04	1,28	1,27	1,24
<i>Aminoácidos não essenciais</i>				
Ácido aspártico	3,22	3,87	4,03	3,96
Ácido Glutâmico	5,47	6,52	6,63	6,62
Alanina	1,76	1,71	1,69	1,71
Cistina	0,35	0,46	0,54	0,57
Glicina	2,27	1,56	1,58	1,59
Hidroxiprolina	0,46	0,09	0,09	0,10
Prolina	1,93	1,98	1,93	1,93
Serina	1,42	1,66	1,70	1,69
Taurina	0,07	<0,01	<0,01	<0,01
Tirosina	1,05	1,27	1,11	1,22
<b>Soma total dos aminoácidos</b>	<b>31,43</b>	<b>35,42</b>	<b>35,09</b>	<b>34,81</b>

Legenda: RPA- Ração proteína animal; RPV- Ração proteína vegetal; RPVF6- Ração proteína vegetal fermentada por 6H; RPVF18- Ração proteína vegetal fermentada por 18H;

Fonte: Próprio autor.

### *Shelf-life*

A fermentação aumentou a *shelf-life* das rações fermentadas. Foi observada redução ( $P<0,05$ ) na contagem de bolores e leveduras em relação aos dois controles em todos os tempos avaliados (Tabela 5). Também foi demonstrado que as BAL permaneceram viáveis nas rações fermentadas RPVF6 e RPVF18.

Tabela 5. *Shelf-life* de rações experimentais utilizadas para a alimentação de tilápias do Nilo.

Dias	RPA	RPV	RPVF6	RPVF18
0				
BAL	ND	ND	5,77±0,43	5,45±0,30
Bolores leveduras	6,29±0,52d	6,09±0,65c	4,89±1,26a	4,65±0,56b
7				
BAL	ND	ND	5,64±0,54	5,33±0,43
Bolores e leveduras	6,53±0,47d	6,07±0,10c	5,35±0,71a	5,45±0,03b
15				
BAL	ND	ND	5,66±0,59	5,06±0,43
Bolores e leveduras	5,39±0,12d	5,44±0,38c	3,81±0,16b	3,07±1,09a
30				
BAL	ND	ND	6,23±0,45	5,28±0,41
Bolores e leveduras	6,64±0,57d	6,61±0,86c	5,85±0,21b	4,50±0,70a
60				
BAL	ND	ND	4,39±0,56	4,21±0,13
Bolores e leveduras	5,78±0,74d	5,61±1,89c	4,47±0,24a	4,73±0,16b

Legenda: RPA- Ração proteína animal; RPV- Ração proteína vegetal; RPVF6- Ração proteína vegetal fermentada por 6H; RPVF18- Ração proteína vegetal fermentada por 18H. ND- Não detectado. Médias seguidas de letras diferentes diferem ( $P<0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Fonte: Próprio autor.

#### *Contagem de microrganismos na água*

Aos 60 dias de experimento o tratamento RPVF18 aumentou ( $P<0,05$ ) a contagem de BAL na água em relação as rações controle RPA e RPV (Tabela 6). Também aos 60 dias houve redução ( $P<0,05$ ) de *Vb. sp.* na água dos tanques que receberam o tratamento RPVF6 em relação a ração controle RPA.

Tabela 6. Contagem da microbiota (Bactérias heterotróficas, BAL e *Vb. sp.*) da água do experimento.

	RPA	RPV	RPVF6	RPVF18
<i>BAL</i>				
<i>Dia 0</i>	4,36±0,48	4,36±0,48	4,36±0,48	4,36±0,48
<i>7 dias</i>	4,05±0,14	4,09±0,31	4,38±0,22	4,47±0,10
<i>15 dias</i>	3,46±0,91	3,54±0,62	4,0,6±0,04	4,31±0,66
<i>30 dias</i>	3,68±0,19	3,42±0,75	4,21±0,07	4,29±0,66
<i>60 dias</i>	5,60±0,21b	5,51±0,72b	6,55±0,06ab	6,65±0,10a
<i>Heterotrófica</i>				
<i>Dia 0</i>	4,74±1,73	4,74±1,73	4,74±1,73	4,74±1,73
<i>7 dias</i>	6,38±0,04	5,87±0,94	6,08±0,01	6,00±0,76
<i>15 dias</i>	6,24±0,28	6,33±0,66	6,35±0,96	6,56±0,26
<i>30 dias</i>	6,20±0,06	5,98±0,53	6,57±0,13	6,27±0,27
<i>60 dias</i>	6,02±0,11	5,78±0,13	6,62±0,15	6,34±0,20
<i>Vb. sp.</i>				
<i>0 dias</i>	5,25±0,16	5,25±0,16	5,25±0,16	5,25±0,16
<i>7 dias</i>	5,35±0,56	5,24±0,72	4,91±0,38	4,17±0,32
<i>30 dias</i>	6,93±0,48	6,73±0,50	5,71±1,01	5,85±0,66
<i>60 dias</i>	6,89±0,39b	6,45±0,42ab	4,89±1,38 <sup>a</sup>	5,49±0,45ab

Legenda: RPA- Ração proteína animal; RPV- Ração proteína vegetal; RPVF6- Ração proteína vegetal fermentada por 6H; RPVF18- Ração proteína vegetal fermentada por 18H. ND- Não detectado. Médias seguidas de letras diferentes diferem ( $P<0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Fonte: Próprio autor.

### Desempenho produtivo

Os melhores resultados ( $p<005$ ) de crescimento foram obtidos com controle positivo RPA (Tabela 7). A fermentação aumentou ( $p<005$ ) a ingestão da ração vegetal. A quantidade ingerida do tratamento controle negativo RPV não diferiu ( $p<005$ ) do controle positivo RPA. As menores conversões ( $p>005$ ) alimentares foram obtidas com as rações fermentadas RPVF6 e RPVF18. O tratamento RPVF6 aumentou ( $p<005$ ) a sobrevivência dos peixes.

Tabela 7. Desempenho de juvenis de tilápia do Nilo recebendo diferentes tipos de rações após 60 dias de experimento.

	Proteína animal	Proteína vegetal	Fermentado 6 horas	Fermentado 18 horas
Ganho de peso	34,84±7,10a	22,28±3,18b	23,44±0,89b	20,87±1,59b
Consumo individual	27,50±3,03a	20,42±1,71b	30,47±1,61a	28,76±3,14a
Conversão alimentar	0,81±0,16a	0,84±0,02a	1,28±0,03b	1,38±0,13b
IHS	2,11±0,49	1,70±0,32	1,95±0,48	1,68±0,35
Sobrevivência	96,43±3,57ab	89,29±6,19b	100,00±0,00a	98,21±3,09ab

Legenda: RPA- Ração proteína animal; RPV- Ração proteína vegetal; RPVF6- Ração proteína vegetal fermentada por 6H; RPVF18- Ração proteína vegetal fermentada por 18H. IHS- Índice Hepatossomático. Médias seguidas de letras diferentes diferem ( $P<0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Fonte: Próprio autor.

#### *Contagem de microrganismos intestinais*

Após 60 dias a concentração de bactérias heterotróficas foi mais elevada ( $p<005$ ) nos peixes que receberam o tratamento RPVF6. Aos 30 e 60 dias a concentração de BAL intestinal foi menor ( $p<005$ ) nos animais que receberam o tratamento controle negativo RPV (Tabela 8). A contagem de potenciais microrganismos patogênicos da família *Vibrionaceae* foi menor ( $p>005$ ) para os tratamentos que receberam RPVF6 e RPVF18.

Tabela 8. Contagem de microrganismos intestinais, bactérias heterotróficas, BAL e *Vb. sp.*, de juvenis de tilápia do Nilo alimentadas de diferentes rações experimentais no período de 30 e 60 dias (UFC Log 10 g<sup>-1</sup>).

	Proteína animal	Proteína vegetal	Fermentado 6 horas	Fermentado 18 horas
<i>30 dias</i>				
Heterotróficas	6,51± 0,63	6,05± 0,36	5,94± 0,4	5,75 ± 0,59
BAL	3,86± 0,09a	3,81± 0,39b	4,39± 0,56a	4,08 ± 0,56a
<i>Vb. sp.</i>	5,45±0,23	5,41± 0,31	5,23± 0,41	4,14 ± 1,56
<i>60 dias</i>				
Heterotróficas	5,25± 0,89b	5,82± 0,36b	6,37± 0,33a	6,00 ± 0,66b
BAL	6,18± 0,60a	5,63± 0,85b	6,26± 0,69a	6,44 ± 0,30a
<i>Vb. sp.</i>	6,80±0,55b	6,60±0,75b	5,12± 0,70a	5,30± 1,04a

Legenda: RPA- Ração proteína animal; RPV- Ração proteína vegetal; RPVF6- Ração proteína vegetal fermentada por 6H; RPVF18- Ração proteína vegetal fermentada por 18H. *Vb. sp.*- Víbrio subespécie Médias seguidas de letras diferentes diferem (P<0,05) pelo teste de Tukey.

Fonte: Próprio autor.

### *Histomorfometria intestinal*

A altura das vilosidades dos peixes que receberam as rações fermentadas RPVF6 e RPVF18 não diferiu (P>0,05) dos que receberam a ração controle RPA (Tabela 9). As menores (P<0,05) vilosidades foram observadas nos peixes que receberam a dieta controle negativo RPV. O tratamento RPVF6 aumentou as células caliciformes (P<0,05) em relação as rações controle RPA e RPV.

Tabela 9. Medida de histomorfometria intestinal de juvenis de tilápia do Nilo após 60 dias consumindo diferentes rações experimentais.

Vilosidades	RPA	RPV	RPVF6	RPVF18
Altura	385,87±38,39a	268,90±18,19b	442,60±42,94a	396,17±30,42a
Largura	96,86±3,70	86,78±8,38	95,73±21,18	96,32±7,09
Espessura	47,15±3,51	40,43±4,50	43,46±6,26	42,84±7,12
C.C.	8,69±2,24b	8,01±2,46b	16,15±3,75a	13,82±3,18ab

Legenda: RPA- Ração proteína animal; RPV- Ração proteína vegetal; RPVF6- Ração proteína vegetal fermentada por 6H; RPVF18- Ração proteína vegetal fermentada por 18H. C.C- Células caliciformes. Médias seguidas de letras diferentes diferem (P<0,05) pelo teste de Tukey.

Fonte: Próprio autor.

*Atividade enzimática intestinal*

A atividade de amilase, lipase e protease alcalinas totais não foi afetada ( $P>0,05$ ) em nenhum dos tratamentos avaliado (Tabela 10).

Tabela 10. Atividade das enzimas digestivas na porção intestinal de juvenis de Tilápias do Nilo após 60 dias de experimento.

Enzima	RPA	RPV	RPVF6	RPVF18
Amilase	1,57±1,47	2,09±1,09	1,68±0,47	2,81±0,12
Lipase	3,53±0,26	3,11±0,33	2,58±0,88	2,83±0,96
Protease	1,09±0,24	0,79±0,30	1,04±0,21	0,95±0,19

Legenda: RPA- Ração proteína animal; RPV- Ração proteína vegetal; RPVF6- Ração proteína vegetal fermentada por 6H; RPVF18- Ração proteína vegetal fermentada por 18H. Médias seguidas de letras diferentes diferem ( $P<0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Fonte: Próprio autor.

## 5 DISCUSSÃO

As bactérias ácidas láticas atingiram uma concentração máxima de Log 9,06 UFC g<sup>-1</sup>. Não existem trabalhos anteriores com a fermentação de rações para peixes. Concentrações menores ou semelhantes de bactérias ácido láticas foram encontradas com a fermentação do farelo de soja com *Lb.* (DE OLIVEIRA, et al., 2022; DULF et al., 2022), indicando que a fermentação da ração foi eficiente. As colônias crescerem exponencialmente durante as primeiras 12 horas e após este período houve uma estabilização e posterior morte celular. Também foi observada uma redução no pH e aumento de proteína solúvel nas primeiras 12 horas de fermentação. A redução de pH que é uma indicação da produção de ácidos orgânicos como ácido lático, ácido acético, entre outros, pelas BAL (DEGEES; VANINGELGEM; DE VUYST, 2001). O aumento da proteína solúvel está relacionado a uma maior concentração de peptídeos e proteínas de baixo peso molecular (MUKHERJEE; CHAKRABORTY; DUTTA, 2016). As BAL quebram as proteínas liberando os peptídeos. Resultados semelhantes também foram observados durante a fermentação do farelo de soja com BAL e cultura mista de microrganismos (DE OLIVEIRA, et al. 2022; PICOLI et. al., 2022).

A fermentação não afetou a composição bromatológica e perfil de aminoácidos das rações. Em todos os tratamentos os valores de proteína bruta se mantiveram acima de 33% que seria a recomendação para esta fase (EL SAYDE, 2002). Resultados com a fermentação do farelo de soja mostraram que pode haver aumento na proteína e nos aminoácidos, mas em muitos casos o valor se mantém (DAI, et al. 2017; PICOLI, 2022). As bactérias ácido láticas são capazes de sintetizar aminoácidos, levando a um aumento na proteína (PARRA HUERTAS, 2010). Entretanto, de acordo com o tipo de fermentação pode não haver síntese proteica, apenas a quebra de proteína maiores, liberando peptídeos e aminoácidos livres (DEZA; DE OLMOS; GARRO, 2019; VENEGAS-ORTEGA, 2019; DE JESUS et al., 2015). O aumento da proteína solúvel confirma a maior disponibilidade de peptídeos de baixo peso molecular (PICOLI, 2022; ASRI, et al., 2020; CHOI, D. G. et al., 2020). Ainda são necessários mais estudos para caracterizar o perfil de peptídeos nas rações fermentadas. Fatores como a escolha do microrganismo fermentador, substrato, tempo e temperatura podem influenciar no aumento ou redução de aminoácidos e na qualidade nutricional da dieta durante a fermentação (YANG, et al., 2018; DAI, et al. 2017; FRIAS, et al., 2008).

As análises de *shelf-life* mostraram que as BAL se mantiveram viáveis mesmo após a peletização das rações. As rações vegetais fermentadas apresentaram a menor contagem de bolores e leveduras em relação aos dois controles ao longo de 60 dias de avaliação. O aumento da *shelf-life* de produtos fermentados pode ser associado a produção de substâncias antimicrobianas e redução do pH (BEHERA; RAY; ZDOLEC, 2018). Bactérias do gênero *Lb.*, quando em situações de competição ou stress, podem liberar substâncias antimicrobianas como enzimas exógenas (lisozima) e bacteriocinas (ELAYARAJA, et al., 2014; CORBO, et al. 2009). Estas substâncias inibem a microflora deteriorante, como bolores e fungos, presente no alimento (CORBO, et al. 2009). A liberação de ácidos orgânicos, como o ácido lático e ácido acético, durante a fermentação pelas BAL, também pode ser um fator inibitório para o crescimento de microrganismos deteriorantes (SHI; KNØCHEL, 2021). Os ácidos orgânicos têm ação antifúngica por interagir com a parede celular do microrganismo (SHI; KNØCHEL, 2021). Potenciais estudos caracterizando as bacteriocinas e ácidos orgânicos presentes nas rações fermentadas são importantes para compreender melhor estes resultados.

A dinâmica da qualidade da água do sistema BFT não foi afetada pelo uso das rações fermentadas. Em todos os tratamentos as concentrações de sólidos suspensos chegaram a valores médios de  $225,22 \pm 82,08 \text{ mg L}^{-1}$ . Para o cultivo de tilápia de acordo com Mohammadi, Adorian e Rafiee (2020) os valores para sólidos suspensos devem permanecer entre  $300 \text{ mg L}^{-1}$  a  $690 \text{ mg L}^{-1}$ . Também houve o controle efetivo da amônia e ciclagem dos compostos nitrogenados, demonstrada pelos baixos níveis de nitrito e aumento do nitrato. O uso das rações fermentadas afetou positivamente a contagem de microrganismos na água, com aumento nas BAL e redução nos *Vibrios* sp. As BAL presentes nas rações fermentadas podem ter contribuído para a redução nos *Vibrios* pelo processo de exclusão competitiva (ALP; KULEAŞAN, 2020). Já foi demonstrado que o uso de probióticos é efetivo no sistema BFT no controle de bactérias patogênicas na água (HE, et al. 2022). Os resultados de modulação da microbiota da água com o uso de rações fermentadas é inédito e demonstra a viabilidade do uso desta estratégia no sistema BFT.

O consumo das rações vegetais fermentadas o *Lb. acidophilus* não diferiu da dieta controle contendo farinha de peixe. Este resultado confirma o potencial da fermentação como estratégia para melhorar a palatabilidade das dietas. Durante o processo fermentativo são liberados compostos orgânicos aromáticos, que podem melhorar a palatabilidade das rações atraindo os peixes (ZULHISYAM, et al., 2020). De maneira geral, rações contendo proteína animal são mais ingeridos pela tilápia-do-Nilo

(MAKWINJA; GEREMEW, 2020). Este é o primeiro trabalho realizado com rações vegetais fermentadas, mas já foi demonstrado que o farelo de soja fermentado com BAL pode substituir parcialmente a farinha de peixe sem prejudicar o consumo e o desempenho (YANG, H. *et al.*, 2022; WANG, *et al.*, 2016). Mais estudos ainda são necessários para identificar os compostos aromáticos presentes nas rações fermentadas.

A fermentação da ração vegetal não afetou o ganho de peso dos peixes. O melhor crescimento foi encontrado com a ração contendo proteína animal (RPA). As rações fermentadas foram mais consumidas, mas houve uma piora na conversão alimentar o que pode ter prejudicado o desempenho. A tilápia seleciona partículas de alimento na boca (VINOGRADSKAYA; KASUMYAN, 2019). Mesmo se sentido atraídas pelas rações fermentadas, pode haver uma rejeição do alimento após a apreensão (VINOGRADSKAYA; KASUMYAN, 2019). Por outro lado, não foram constatadas sobras de ração e não houve alteração nos sólidos suspensos e na qualidade da água. Outra hipótese para a piora na conversão poderia ser pela maior ingestão de farelo de soja (CARNEIRO, *et al.*, 2017; LIN, S.; LUO, 2011). Existem fatores antinutricionais como inibidores de enzimas, protease, tripsina e lectinases, fatores antivitamínicos, ácido fítico, e estrogênios, aglutininas, além de proteínas antigênicas como a  $\beta$ -conglicinina e glicina, fibras insolúveis, fitatos e taninos que podem não ter sido eliminados durante a fermentação (HYMOWITZ, 2022; JINGTING, *et al.* 2020; ZHAO *et al.*, 2010; BAJPAI, SHARMA; GUPTA, 2005). Por se tratar de um tema inédito, mas estudos ainda são necessários para esclarecer esta questão.

A sobrevivência foi mais elevada nos peixes alimentados com rações fermentadas durante 6 horas em relação a dieta a base de vegetais. Este resultado é inédito com rações fermentadas e demonstra a eficiência do processo fermentativo para melhorar a saúde dos animais. Com o uso de farelo de soja fermentado existem evidências de melhora na saúde intestinal, mas em geral sobrevivência não é afetada (SONG, *et al.* 2022; WANG, L. *et al.*, 2016; PLAIPETCH; YAKUPITIYAGE, 2014). Ao expandir os benefícios da fermentação a ração completa os efeitos dos fermentados pode ter sido maximizada. A melhora da sobrevivência pode ser ligada pelo aumento tanto das BAL quanto pelos metabólitos produzidos na fermentação. Durante a fermentação ocorreu um crescimento exponencial do *Lb. acidophilus*, que tem propriedades probióticas (RINGO *et al.*, 2020) e produzem substâncias com propriedades nutracêuticas, melhorando a saúde intestinal dos peixes (WUERTZ; SCHROEDER; WANKA, 2021). Diversos estudos comprovam que o uso direto BAL em rações para tilápia podem aumentar a sobrevivência dos animais

(DUC, et al., 2022; KHUNRANG, et al., 2021; VILLAMIL; REYES; MARTÍNEZ-SILVA, 2014). Mais avaliações em condições de desafio são necessárias para avaliar o potencial nutracêutico das rações fermentadas.

Neste experimento houve uma melhora na contagem de bactérias heterotrófica e BAL no intestino das tilápias com o uso das rações fermentadas. O parâmetro de contagem microbiana intestinal pode ser relacionado a um indicativo de saúde (EGERTON, et al., 2018) e pode ajudar a explicar a melhora na sobrevivência. O aumento nas BAL corrobora o aumento que também foi observado na contagem na ração e na água. Nos peixes existe uma correlação entre a microbiota intestinal e do ambiente (TURNER JR, et al., 2022). Na redução dos *Vibrios* pode ter sido observado um efeito semelhante de modulação através das rações e da água. Além disso, as BAL possuem a capacidade de fagocitar bactérias patogénicas e podem produzir substâncias imunoestimulantes e antimicrobianas (FREIRE, et al., 2021, NAIEL, et al., 2021). Resultados semelhantes foram encontrados trabalho que usou o *Lb. acidophilus* para fermentar o farelo de soja (FSM) (DE OLIVEIRA et al, 2022).

As características morfométricas do epitélio das tilápias alimentadas com a rações vegetais fermentadas não diferiram das rações contendo farinha de peixe. Estes resultados podem ser relacionados a melhora na contagem de microrganismos intestinais dos peixes que receberam rações fermentadas. As BAL presentes nas rações, podem modular positivamente as vilosidades intestinais (PIRARAT, et al., 2011). Resultados com a soja fermentada para tilápias cultivadas em sistema BFT mostraram aumento mesmo em relação ao controle positivo (PICOLI et al., 2022). A menor altura de vilosidades intestinais foi dos animais alimentados com a dieta vegetal. A altura das vilosidades intestinais é diretamente proporcional ao aumento da superfície de contato que o alimento terá para ser absorvido (DAWOOD, 2021). Este resultado possivelmente está ligado a presença de fatores anti-nutricionais no farelo de soja, como fibras insolúveis e proteínas antigénica (ZHOU, et al. 2018). Já foi demonstrado que na soja fermentada pode haver redução dos fatores anti-nutricionais (JEYAKUMAR; LAWRENCE, 2022), mas efeito da fermentação das rações ainda precisa ser avaliado.

A concentração das células caliciformes foi maior nos animais alimentados com a ração fermentada por 6 horas. As células caliciformes são responsáveis pela produção de substâncias mucosas entre células do epitélio intestinal (HONORATO, et al., 2013.) e são associadas a promoção de saúde e melhora da digestibilidade (MELLO, et al., 2013). O aumento da concentração de células califormes pode ser associado ao aumento na

sobrevivência e melhora da saúde intestinal, corroborada pelo aumento na contagem de bactérias benéficas e aumento das vilosidades. Estudos revelam que o consumo de rações contendo BAL podem aumentar o número de células caliciformes no intestino de tilápias do Nilo (RUIZ, 2016). Resultado semelhante ao encontrado por Picoli et. al., (2022) nos tratamentos que receberam a inclusão de 28% de soja fermentada.

A fermentação das rações vegetais não afetou a atividade das enzimas digestivas do TGI dos animais avaliados. O uso de microrganismos fermentadores em rações para peixes pode melhorar a atividade enzimática do TGI e são um indicativo de saúde intestinal (WATTANAKUL, et al, 2021; RAHIMNEJAD, et al., 2021). Foi observado aumento da atividade de amilase e protease no farelo de soja fermentado com *Lb. acidophilus* (DE OLIVEIRA et al., 2022) Diversos motivos podem interferir na produção de enzimas como qualidade da água, hábitos alimentares, qualidade nutricional das rações e saúde intestinal (PAVASOVIC, et al., 2007). Porém não são todos os estudos que conseguem identificar o efeito do uso de fermentados na concentração enzimática no TGI de peixes, utilizando o *Lb. acidophilus* (DE OLIVEIRA et al., 2022; LI, et al. 2022).

Os resultados deste estudo são promissores e mostram o potencial do uso de rações fermentadas na alimentação de peixes. A fermentação foi conduzida com sucesso e bons resultados foram obtidos sobre a saúde dos animais. Trata-se de uma tecnologia promissora que pode ser aplicada tanto antes como depois do processamento. A fermentação é um processo que pode ser realizado com facilidade, viabilizando a adoção desta tecnologia por produtores de peixes que poderiam aplicá-la em rações já processadas. Por se tratar de um tema novo, existe demanda por pesquisa e desenvolvimento A prospecção de diferentes microrganismos e os efeitos das rações fermentadas sobre diferentes tipos de patógenos ainda precisa avaliado.

## 6 CONCLUSÃO

A fermentação com *Lb. acidophilus* melhorou o perfil nutricional da ração vegetal e aumentou a concentração microbiana. Houve um aumento na contagem de BAL e na contração de proteína solúvel, assim como uma redução no pH. A fermentação aumentou o consumo da ração vegetal e a sobrevivência dos peixes. Por outro lado, a eficiência alimentar piorou. O fornecimento das rações fermentadas aumentou a contagem de bactérias benéficas e reduziu as bactérias patogênicas no intestino dos animais e na água. Além disso, houve aumento nas células caliciformes. De maneira geral, os melhores resultados de sobrevivência e saúde intestinal foram identificados na ração fermentada por 6 horas.

## REFERÊNCIAS

ABAKARI, G. *et al.* The use of biochar in the production of tilápia (Oreochromis niloticus) in a biofloc technology system-BFT. **Aquacultural Engineering**, v. 91, p. 102-123, 2020.

ABDEL-WARITH, A. W. *et al.* O efeito da substituição da farinha de peixe por Aminoácidos e Níveis Otimizados de Proteína na dieta da tilápia do Nilo Oreochromis niloticus. **Brazilian Journal of Biology**, v. 79, n. 4, p. 703-711, 2019.

ABDEL-RAHMAN, M. A.; TASHIRO, Y.; SONOMOTO, K. Lactic acid production from lignocellulose-derived sugars using lactic acid bacteria: overview and limits. **Journal of biotechnology**, v. 156, n. 4, p. 286-301, 2011.

ALP, D.; KULEAŞAN, H. Determination of competition and adhesion abilities of lactic acid bacteria against gut pathogens in a whole-tissue model. **Bioscience of Microbiota, Food and Health**, 2020.

ANDRIANI, Y. *et al.* Effect of addition of fermented restaurant waste meal in artificial feed on the growth of nile tilápia (Oreochromis niloticus). In: **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. IOP Publishing, v. 674, n. 1, p. 012073, 2021.

AMADOU, I. *et al.* Influence of Lactobacillus plantarum Lp6 fermentation on the functional properties of soybean protein meal. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, p. 456-465, 2010.

ASRI, N. M. *et al.* Low molecular weight peptides generated from palm kernel cake via solid state lactofermentation extend the shelf life of bread. **Lwt**, v. 134, p. 110206, 2020.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 2000. Official Methods of Analysis, 17th ed. Gaithersburg, MD, USA.

AVNIMELECH, Y., et al. Tilápis production using biofloc technology (BFT).

In: *Proc 9th Int Symp on*

**in Aquaculture.** p. 362-366, 2011.

AVNIMELECH, Y., et al. Biofloc technology. **A practical guide book. The World Aquaculture Society, Baton Rouge**, v. 182, 2009.

AVNIMELECH, Y. Bio-filters: the need for an new comprehensive approach. **Aquacultural engineering**, v. 34, n. 3, p. 172-178, 2006.

AXELSSON, L. et al. Lactic acid bacteria: classification and physiology. **FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-NEW YORK-MARCEL DEKKER**, v. 139, p. 1-66, 2004.

AZIM, M.E; LITTLE, D. C. The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition, and growth and welfare of Nile tilápis (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 283, p. 29-35, 2008.

AZIM, M. E.; LITTLE, D. C.; BRON, J. E. Microbial protein production in activated suspension tanks manipulating C: N ratio in feed and the implications for fish culture. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 9, p. 3590-3599, 2008.

BALCÁZAR, J. L. et al. The role of probiotics in aquaculture. **Veterinary microbiology**, v. 114, n. 34, p. 173-186, 2006.

BAPTISTA, Maria Galvão de Figueiredo Mendes. **Mecanismos de Resistência aos Antibióticos**. 2013. 51 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia, Lisboa, 2013.

BAQUERO, F. et al. Evolutionary pathways and trajectories in antibiotic resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 34, n. 4, p.00050-19, 2021.

BARBOSA, P. T. L. *et al.* SISTEMA BIOFLOCOS. ANAIS DA X MOSTRA CIENTÍFICA FAMEZ, UFMS, CAMPO GRANDE, 2017.

BEHERA, S. S.; RAY, R. C.; ZDOLEC, N. *Lactobacillus plantarum* with functional properties: an approach to increase safety and shelf-life of fermented foods. **BioMed Research International**, p. 1-18, 2018.

BOWYER, P. H. *et al.* Benefits of a commercial solid-state fermentation (SSF) product on growth performance, feed efficiency and gut morphology of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed different UK lupin meal cultivars. **Aquaculture**, 523, 735192, 2020.

BÖCK, A. Fermentation. **Encyclopedia Of Microbiology**, [S.L.], p. 132-144, 2009.

BASSO, T. O. *et al.* Homo-and heterofermentative lactobacilli differently affect sugarcane-based fuel ethanol fermentation. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 105, n. 1, p. 169-177, 2014.

BHARGAV, S. *et al.* Solid-state fermentation: an overview. **Chemical and Biochemical Engineering Quarterly**, v. 22, n. 1, p. 49-70, 2008.

BOMFIM. V. B., *et al.* Produção e extração de exopolissacarídeos de cepas de *lactobacillus* spp. potencialmente probióticas. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Paraíba, João Pessoa, 2019.

BOSCOLO, W. R. *et al.* Farinha de resíduos da indústria de filetagem de tilápias como fonte de proteína e minerais para alevinos de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 5, p. 1425-1432, 2005.

BOSCOLO, W. R. *et al.* Desempenho e características de carcaça de machos revertidos de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), linhagens tailandesa e comum, nas fases inicial e de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 5, p. 1391-1396, 2001.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual de métodos oficiais para análise de alimentos de origem animal / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: MAPA, 2017. Acesso em: 26 de setembro de 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 18 de setembro de 2003. Disponível em:<<https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/instrucao-normativa-sda-62-de-26-08-2003,665.html>>. Acesso em: 16 jun. 2020.

BRUNO, L. M. Manual de curadores de germoplasma-micro-organismos: bactérias ácido-láticas. **Embrapa Agroindústria Tropical-Dокументos (INFOTECA-E)**, 2011.

CALOMME, M. *et al.* Seleno-lactobacillus. **Biological Trace Element Research**, v. 47, n. 1, p. 379-383, 1995.

CAMOLEZE, E. **Tilápia: O segundo peixe mais consumido do mundo.** 2019. Disponível em: <https://animalbusiness.com.br/producao-animal/criacao-animal/tilapia-o-segundo-peixe-mais-consumido-dono-mundo/#:~:text=Os%20maiores%20produtores%20mundiais%20de,Estados%20 Unidos%20 como%20 maior%20 comprador>. Acesso em: 16 jun. 2020.

CARDONA, E. *et al.* Bacterial community characterization of water and intestine of the shrimp *Litopenaeus stylirostris* in a biofloc system. **Bmc Microbiology**, v. 16, n. 1, p. 1-9, 2016.

CARNEIRO, W. F., et al. Digestible protein requirement for Nile tilápia fed with rations based on soybean meal and corn. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, n.39, p. 343-349, 2017.

CASAGRANDE, J.; DOS SANTOS BRANCO, C.; NICOLETTO, B. B. Análise da rancidez oxidativa em castanhas do Brasil em diferentes condições de armazenamento. **RBONE-Revista Brasileira De Obesidade, Nutrição E Emagrecimento**, v. 13, n. 81, p. 812-820, 2019.

CAVALCANTE, R. B. *et al.* Probiotics, Prebiotics and Synbiotics for Nile tilápia: Growth performance and protection against *Aeromonas hydrophila* infection. **Aquaculture Reports**, v. 17, p. 100343, 2020.

CATALÁN, N. *et al.* Fermented soybean meal increases lactic acid bacteria in gut microbiota of Atlantic Salmon (*Salmo salar*). **Probiotics and antimicrobial proteins**, v. 10, n. 3, p. 566-576, 2018.

CHERDKEATTIPOL, K. *et al.* Effect of Partial Replacement of Fish Meal by *Bacillus* sp-Fermented Soybean Meal on Growth Performance, Immunity, Hepatopancreas Microbiota and Disease Resistance in Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Journal of Fisheries and Environment**, v. 45, n. 2, p. 32-42, 2021.

CHOI, D. G. *et al.* Replacement of fish meal with two fermented soybean meals in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture Nutrition**, v. 26, n. 1, p. 37-46, 2020.

COFFEY, R. G., REITHEL, F. J. An enzymic determination of lactose. **Analytical biochemistry**, v. 32, p. 229-232, 1969.

COLLAZOS-LASSO, L. F.; ARIAS-CASTELLANOS, J. A. Fundamentos de la tecnología biofloc (BFT). Una alternativa para la piscicultura en Colombia. Una revisión. **Orinoquia**, v. 19, n. 1, p. 77-86, 2015.

CORBO, M. R., et al. Prolonging microbial shelf life of foods through the use of natural compounds and non-thermal approaches—a review. **International Journal of Food Science & Technology**, v.2, p.223-241, 2009.

CURBELO, Y. G. *et al.* Probióticos: una alternativa para mejorar el comportamiento animal. **Revista Cubana de Ciencia Agrícola**, v. 39, n. 2, pág. 129-140, 2005.

DABROWSKI, K. R. Ontogenetical aspects of nutritional requirements in fish. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, v. 85, n. 4, p. 639-655, 1986.

DA CUNHA, L., et al. Fermented soybean meal can partially replace fishmeal and improve the intestinal condition of goldfish juveniles reared in a biofloc system. **Aquaculture Research**, v.53, n.18, p. 6803-6815, 2022.

DAI, C., et al. Improvement of nutritional value and bioactivity of soybean meal by solid-state fermentation with *Bacillus subtilis*. **LWT**, v. 86, p. 1-7, 2017.

DAWOOD, M. AO *et al.* *Saccharomyces cerevisiae* increases the acceptability of Nile tilápia (*Oreochromis niloticus*) to date palm seed meal. **Aquaculture Reports**, v. 17, p. 100314, 2020.

DA SILVA, G. F., *et al.* **TILÁPIA-DO-NILO Criação e cultivo em viveiros no estado do Paraná**. Curitiba: Gia, 2015. 290 p.

DAYRELL, L. C. **Avaliação do potencial probiótico de bactérias no cultivo de tainha (*Mugil liza*)**. 2019. Trabalho de conclusão de curso em Engenharia da Pesca - Instituto Federal do Espírito Santo, Piúma, 2019.

DE ALMADA, C. N.; DE ALMADA, C. N.; DE SOUZA SANT'ANA, Anderson. Paraprobiotics as potential agents for improving animal health. *In: Probiotics and prebiotics in animal health and food safety*. Springer, Cham, 2018. p. 247-268.

DE DEA LINDNER, J. Characteristics and Production of Microbial Cultures. *In: Ana Lucia Barreto Penna; Luis A. Nero; Svetoslav D. Todorov. (Org.). Fermented Foods of Latin America: From Traditional Knowledge to Innovative Applications.* 1ed. Boca Raton: CRC Press - Taylor & Francis Groupv. 1, p. 267-294, 2016.

DE JESUS, C. S. A. et al. Biotechnological alternatives for the utilization of dairy industry waste products. **Advances in Bioscience and Biotechnology**, v. 6, n. 03, p. 223, 2015.

DE OLIVEIRA, N. S., et al. Fermentation of Soybean Meal with *Lactobacillus acidophilus* Allows Greater Inclusion of Vegetable Protein in the Diet and Can Reduce *Vibronacea* in the Intestine of the South American Catfish (*Rhamdia quelen*). **Animals**, v.12, n. 6, p.690, 2022.

DEGEEST, B.; VANINGELGEM, F.; DE VUYST, L. Microbial physiology, fermentation kinetics, and process engineering of heteropolysaccharide production by lactic acid bacteria. **International Dairy Journal**, v.11, p. 747-757, 2001.

DESHPANDE, G.; ATHALYE-JAPE, G.i; PATOLE, S. Para-probiotics for preterm neonates—The next frontier. **Nutrients**, v. 10, n. 7, p. 871, 2018.

DESWATI, D., et al. Biofloc technology: water quality (pH, temperature, DO, COD, BOD) in a flood & drain aquaponic system. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v.102, n.18, p. 6835-6844, 2022.

DE VUYST, L.; VANDAMME, E. J. Lactic acid bacteria and bacteriocins: their practical importance. **Bacteriocins of lactic acid bacteria: microbiology, genetics and applications**,p. 1-11, 1994.

DEZA, M. A. C.; DE OLmos, Antonieta Rodríguez; GARRO, Marisa Selva. Solid state fermentation to obtain vegetable products bio-enriched with isoflavone aglycones using lactic cultures. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 51, n.3, p.201-207, 2019.

DIAS, M. E. D.; DE OLIVEIRA, E. L. A PISCICULTURA BRASILEIRA PELA ÓTICA DO DESENVOLVIMENTO DA GENÉTICA DA TILÁPIA. **Estudos Geográficos: Revista Eletrônica de Geografia**, v. 1, n. 1, p. 3-15, 2021.

DILEEP, N. *et al.* Nutritive value of guar and copra meal after fermentation with yeast *Saccharomyces cerevisiae* in the diet of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Tropical Animal Health and Production**, v. 53, n. 4, p. 1-13, 2021.

DILLON, V. M. Lactic acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects, 2nd edn. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 33, n. 2, p. 195-196, 1998.

DUC, P. M., et al. Effects of Heat-Killed *Lactobacillus plantarum* L-137 on Growth Performance, Feed Utilization, Immune Response, and Survival Rate in Red Tilapia (*Oreochromis* sp.). **Science & Technology Asia**, p.199-208, 2022.

DULF, E.-H., et al. Mathematical Modeling and Optimization of *Lactobacillus* Species Single and Co-Culture Fermentation Processes in Wheat and Soy Dough Mixtures. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 10, 2022.

EPAGRI (Santa Catarina). **Santa Catarina aumenta em 10,6% a produção de peixes deágua doce**. Disponível em: <<https://www.epagri.sc.gov.br/index.php/2019/08/27/santa-catarinadeaguadoce/#:~:text=Em%202018%2C%20Santa%20Catarina%20produziu,produ%C3%A7%C3%A3o%20total%20de%20Santa%20Catarina.>>. Acesso em: 16 fev. 2021.

ELAYARAJA, S., et al. Production, purification and characterization of bacteriocin from *Lactobacillus murinus* AU06 and its broad antibacterial spectrum. **Asian Pacific journal of tropical biomedicine**, v.4, p.305-S311, 2014.

EL-SAYED, A. F. M. **Tilápis culture**. Academic Press, 2019.

EL-SAYED, A. F. M. Tilápis culture in salt water: environmental requirements, nutritional implications and economic potentials. **Avances en Nutricion Acuicola**, 2006.

EL-SAYED, A. F. M. Alternative dietary protein sources for farmed tilápis, *Oreochromis* spp. **Aquaculture**, v. 179, n. 1-4, p. 149-168, 1999.

EL-SAYED, A. F. M.; GARLING JR, D. L. Carbohydrate-to-lipid ratios in diets for Tilápis zillii fingerlings. **Aquaculture**, v. 73, n. 1-4, p. 157-163, 1988.

EGERTON, S., et al. The gut microbiota of marine fish. **Frontiers in microbiology**, v. 9: 873, 2018

FABREGAT, T. E. P. *et al.* Replacement of fish meal by soybean meal in diets for juveniles of Curimba. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 37, n. 3, p. 289-294, 2011.

FANCHER, B. I.; ROLLINS, D.; TRIMBEE, B. Feed processing using the annular gap expander and its impact on poultry performance. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 5, n. 4, p. 386-394, 1996.

FAO. **The State Of World Fisheries And Aquaculture 2020**, Roma, p. 1-244, 2020. Disponível em: <http://www.fao.org/documents/card/en/c/ca9229en>. Acesso em: 30 jun. 2021.

FAO. Food and Agriculture Organization. **El estado mundial de la pesca y la acuicultura. 2018.** Disponível em:< <http://www.fao.org/3/i9540en/i9540en.pdf>>. Acesso em: 12 out. de 2020a.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **The state of world fisheries and aquaculture. 2018.** Disponível em:< <http://www.fao.org/3/i9540en/i9540en.pdf>>. Acesso em: 16 jun. 2020b.

FENG, H. *et al.* Effect of dietary hydroxyproline supplementation on Chinese perch (*Siniperca chuatsi*) fed with fish meal partially replaced by fermented soybean meal. **Aquaculture**, v. 547, p. 737454, 2022.

FERNANDES, R. F. Aminoácido. **Revista de Ciência Elementar**, v. 3, n. 3, 2015.

FONTAINHAS-FERNANDES, A. *et al.* Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of Nile tilapia: digestibility and growth performance. **Aquaculture International**, v. 7, n. 1, p. 57-67, 1999.

FELLOWS, P. J. *Tecnologia do Processamento de Alimentos: Princípios e Prática*. 2a edição, Artmed. **Porto Alegre**, p. 602, 2006.

FIELDS, M. L.; YOA, F G. Nutritional improvement of corn meal by fermentation by *Bacillus licheniformis* and *Enterobacter cloacae*. **Journal of food protection**, v. 53, n. 3, p. 245-248, 1990.

FREIRE, T. T. *et al.* Bactérias ácido lácticas suas características e importância: revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, p. e513101119964-e513101119964, 2021.

FRIAS, J. *et al.* Immunoreactivity and amino acid content of fermented soybean products. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 56, n. 1, p. 99-105, 2008

FURUYA, W. M. *et al.* Farelo de soja integral em rações para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 26, n. 2, p. 203-207, 2004.

GALLAGHER, M. L. The use of soybean meal as a replacement for fish meal in diets for hybrid striped bass (*Morone saxatilis* × *M. chrysops*). **Aquaculture**, v. 126, n. 1-2, p. 119-127, 1994.

GARCÍA-CAREÑO, F.L.; HAARD N.F. Characterization of proteinase classes in lanostilla (*Pleuroncodes planipes*) and crayfish (*Pacifastacus astacus*) extracts. **J Food Biochem**, v. 17, p. 97–113. 1993.

GONCALVES, G. S. *et al.* Energia e nutrientes digestíveis de alimentos para a tilápia do Nilo. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 35, n. 2, p. 201-213, 2018.

GRASSI, T. L. M.; SEDLACEK-BASSANI, J.; PONSANO, E. H. G. Estabilidade oxidativa de rações de tilápia contendo *Saccharomyces cerevisiae* e *Spirulina platensis*. **Ciência Rural**, v. 50, n. 1, 2020.

JATOBÁ, A.; MOURIÑO, J. L. P. *Lactobacillus plantarum* effect on intestinal tract of *Oreochromis niloticus* fingerlings. **Ciência Animal Brasileira**, v. 16, n. 1, p. 45-53, 2015.

JEYAKUMAR, E.; LAWRENCE, R. Microbial fermentation for reduction of antinutritional factors. In: **Current Developments in Biotechnology and Bioengineering**. Elsevier, p. 239-260, 2022.

JINGTING, Y., et al. Effect of soybean antigenic protein on feed palatability of fishmeal replaced diets for obscure puffer (*Takifugu fasciatus*) and the alternation of diet preference by domestication. **Aquaculture Reports**, v.17: 100332, 2020.

HA, N. et al. Sardine (*Sardinella* spp.) protein hydrolysate as growth promoter in South American catfish (*Rhamdia quelen*) feeding: Productive performance, digestive enzymes activity, morphometry and intestinal microbiology. **Aquaculture**, v. 500, p. 99-106, 2019.

HAN, J. R.; AN, C. H.; YUAN, J. M. Solid-state fermentation of cornmeal with the basidiomycete *Ganoderma lucidum* for degrading starch and upgrading nutritional value. **Journal of applied microbiology**, v. 99, n. 4, p. 910-915, 2005.

HASSAN, A. N.; FRANK, J. F. Starter cultures and their use. **FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-NEW YORK-MARCEL DEKKER**, p. 151-206, 2001.

HAMMES, W. P.; HERTEL, C. Genus I. *Lactobacillus* Beijerinck 1901, 212AL. **Bergey's manual of systematic bacteriology**, v. 3, p. 465-511, 2009.

HAMMES, W. P.; VOGEL, Rudi F. The genus *lactobacillus*. In: **The genera of lactic acid bacteria**. Springer, Boston, MA, p. 19-54, 1995.

Hargreaves, J. A. *Biofloc production systems for aquaculture* Stoneville, MS: **Southern Regional Aquaculture Center.**, v. 4503, p. 1-11, 2013.

HASSAAN, M. S. *et al.* Eubiotic effect of a dietary potassium diformate (KDF) and probiotic (*Lactobacillus acidophilus*) on growth, hemato-biochemical indices, antioxidant status and intestinal functional topography of cultured Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed diet free fishmeal. **Aquaculture**, v. 533, p. 736147, 2021.

HASSAAN, M. S.; SOLTAN, M. A.; ABDEL-MOEZ, A. M. Nutritive value of soybean meal after solid state fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Animal Feed Science and Technology**, v. 201, p. 89-98, 2015.

HE, X., et al. Effects of different probiotics (*Bacillus subtilis*) addition strategies on a culture of *Litopenaeus vannamei* in biofloc technology (BFT) aquaculture system. **Aquaculture**, 2022.

HE, M. *et al.* Effects of fish meal replaced by fermented soybean meal on growth performance, intestinal histology and microbiota of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). **Aquaculture Nutrition**, v. 26, n. 4, p. 1058-1071, 2020a.

HE, Ming *et al.* An evaluation of replacing fish meal with fermented soybean meal in the diets of largemouth bass (*Micropterus salmoides*): Growth, nutrition utilization and intestinal histology. **Aquaculture Research**, v. 51, n. 10, p. 4302-4314, 2020b.

HERAWATI, V. E. *et al.* The effect of fermented duckweed (*Lemna minor*) in feed on growth and nutritional quality of tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Biodiversitas Journal of Biological Diversity**, v. 21, n. 7, 2020.

HONG, K. J.; LEE, C. H; KIM, S. W. *Aspergillus oryzae* GB-107 fermentation improves nutritional quality of food soybeans and feed soybean meals. **Journal of medicinal food**, v. 7, n. 4, p. 430-435, 2004.

HONORATO, C. A. *et al.* Histologia do intestino de tilapia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes fontes de proteína. **Nucleus Animalium**, v. 5, n. 1, p. 9, 2013.

HOOSHYAR, Y. *et al.* Effects of *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 on Different Parameters Related to Health Status of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) and the Protection Against *Yersinia ruckeri*. **Probiotics and antimicrobial proteins**, v. 12, n. 4, p. 1370-1384, 2020.

HYMOWITZ, T. Anti-nutritional factors in soybeans: genetics and breeding. In: *World Soybean Research Conference III: Proceedings*. CRC Press, p. 368-373, 2022.

IQBAL, M.; YAQUB, A.; AYUB, M. Partial and full substitution of fish meal and soybean meal by canola meal in diets for genetically improved farmed tilápia (*O. niloticus*): Growth performance, carcass composition, serum biochemistry, immune response, and intestine histology. **Journal of Applied Aquaculture**, p. 1-26, 2021.

INÊS, António *et al.* Revisão: as bactérias do ácido láctico do vinho-Parte I. **Ciência e técnica vitivinícola**, v. 23, n. 2, p. 81-96, 2008.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análises de alimentos. 4<sup>a</sup> ed. (1<sup>a</sup> Edição digital), 2008.

IRIANTO, A.; AUSTIN, B. Probiotics in aquaculture. **Journal of fish diseases**, v. 25, n. 11, p. 633-642, 2002.

ISOLAURI, E.; SALMINEN, S.; OUWEHAND, A. C. Probiotics. **Best practice & research Clinical gastroenterology**, v. 18, n. 2, p. 299-313, 2004.

JAMAL, M. T. *et al.* Probiotics as alternative control measures in shrimp aquaculture: A review. **Journal of Applied Biology & Biotechnology**, v. 7, n. 3, p. 69-77, 2019.

KAKTCHAM, P. M. *et al.* Quantitative analyses of the bacterial microbiota of rearing environment, tilápia and common carp cultured in earthen ponds and inhibitory activity of its lactic acid bacteria on fish spoilage and pathogenic bacteria. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 33, n. 2, p. 32, 2017.

KARI, Z. A. *et al.* Effect of fish meal substitution with fermented soy pulp on growth performance, digestive enzyme, amino acid profile, and immune-related gene expression of African catfish (*Clarias gariepinus*). **Aquaculture**, v. 546, p. 737418, 2022.

KARI, Z. A. *et al.* The possibility of replacing fish meal with fermented soy pulp on the growth performance, blood biochemistry, liver, and intestinal morphology of African catfish (*Clarias gariepinus*). **Aquaculture Reports**, v. 21, p. 100815, 2021.

KESARCODI-WATSON, A. *et al.* Probiotics in aquaculture: the need, principles and mechanisms of action and screening processes. **Aquaculture**, v. 274, n. 1, p. 1-14, 2008.

KHAN, M. I. R. *et al.* Characterization of *Bacillus* spp. isolated from intestine of *Labeo rohita*—Towards identifying novel probiotics for aquaculture. **Aquaculture Research**, v. 52, n. 2, p. 822-830, 2021.

KHUNRANG, T., et al. Effects of mixed probiotic (*Lactobacillus* sp. and *Saccharomyces cerevisiae*) on the growth performance and immune gene expression of tilápis (*Oreochromis niloticus*) after *Streptococcus agalactiae* vaccination. **Aquaculture Research**, v.52.8, p. 3882-3889, 2021.

KLEIN, G. *et al.* Taxonomia e fisiologia das bactérias probióticas do ácido láctico. **Jornal Internacional de Microbiologia de Alimentos**, v. 41, n. 2, pág. 103-125, 1998.

KONG, Y. *et al.* The positive effects of single or conjoint administration of lactic acid bacteria on *Channa argus*: Digestive enzyme activity, antioxidant capacity, intestinal microbiota and morphology. **Aquaculture**, v. 531, p. 735852, 2021.

KUBITZA, F. Nutrição e alimentação de tilápias-parte I. **Panorama da aquicultura**, v. 9, n. 52, p. 42-50, 1999.

KUEBUTORNYE, F. K. *et al.* Modulation of nutrient utilization, growth, and immunity of Nile tilápia, *Oreochromis niloticus*: the role of probiotics. **Aquaculture International**, v. 28, n. 1, p. 277-291, 2020.

KUBITZA, F. Ajustes na nutrição e alimentação das tilápias. **Panorama da Aquicultura**, v. 17, n. 98, p. 17-24, 2006.

LAHTINEN, S. *et al.* (Ed.). **Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects**. Crc Press, 2011.

LARA, Gabriele Rodrigues de. **Técnicas de manejo aplicadas à redução das concentrações de nitrito na água de cultivo de *Litopenaeus vannamei* em sistema de bioflocos**. 2012. 71 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Aquicultura, Pós Graduação em Aquicultura da Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2012.

LEROY, F.; DE VUYST, L. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. **Trends in Food Science & Technology**, v. 15, n. 2, p. 67-78, 2004.

LI, C., et al. Effects of Replacing Fishmeal by Raw or *Lactobacillus acidophilus*-Fermented Soybean Meal on Growth, Intestinal Digestive and Immune-Related Enzyme Activities, Morphology, and Microbiota in Turbot (*Scophthalmus maximus* L.). **Aquaculture Nutrition**, 2022.

LI, Y. *et al.* Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. **China Dairy Industry**, v. 34, n. 1, p. 35, 2006.

LIN, Y. H.; CHEN, Y. T. *Lactobacillus* spp. fermented soybean meal partially substitution to fish meal enhances innate immune responses and nutrient digestibility of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed diet with low fish meal. **Aquaculture**, v. 548, p. 737634, 2022.

LIN, S.; LUO, L. Effects of different levels of soybean meal inclusion in replacement for fish meal on growth, digestive enzymes and transaminase activities in practical diets for

juvenile tilápia, *Oreochromis niloticus*×*O. aureus*. **Animal Feed Science and Technology**, n.168, p. 80-87, 2011.

LIU, T., et al. Effects of replacing fish meal with soybean meal on growth performance, feed utilization and physiological status of juvenile redlip mullet *Liza haematocheila*. **Aquaculture Reports**, v.20, n.100756, 2021.

LIU, X. *et al.* The effects of fermented soybean meal on growth performance and immune characteristics in weaned piglets. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 31, n. 5, p. 341-345, 2007.

LIKONGWE, J. S. *et al.* Combined effects of water temperature and salinity on growth and feed utilization of juvenile Nile tilápia *Oreochromis niloticus* (Linneaus). **Aquaculture**, v. 146, n. 1-2, p. 37-46, 1996.

LIM, S. J.; LEE, K. J. A microbial fermentation of soybean and cottonseed meal increases antioxidant activity and gossypol detoxification in diets for Nile tilápia, *Oreochromis niloticus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 42, n. 4, p. 494-503, 2011.

LIN, S.; LUO, L. Effects of different levels of soybean meal inclusion in replacement for fish meal on growth, digestive enzymes and transaminase activities in practical diets for juvenile tilápia, *Oreochromis niloticus*× *O. aureus*. **Animal Feed Science and Technology**, v. 168, n. 1-2, p. 80-87, 2011.

LIN, Y. H.; MUI, J. J. Comparison of dietary inclusion of commercial and fermented soybean meal on oxidative status and non-specific immune responses in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Fish & shellfish immunology**, v. 63, p. 208-212, 2017.

LIN, H. *et al.* Replacement of fish meal with fermented soybean meal in practical diets for pompano *T. rachinotus ovatus*. **Aquaculture Research**, v. 44, n. 1, p. 151-156, 2012.

LIU, X. *et al.* The effects of fermented soybean meal on growth performance and immune characteristics in weaned piglets. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 31, n. 5, p. 341-345, 2007.

LUCAS, B. e SOTELO, A. Effect of different alkalies, temperature and hydrolysis times on tryptophan determination of pure proteins and of food. **Analytical Biochemistry**, n.109, p.192-197, 1980.

MAPENZI, L. L. et al. Efficacy of *Lactobacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae* on growth improvement of hybrid Nile and Rufiji tilápia populations. **Western Indian Ocean Journal of Marine Science**, v. 20, n. 1, p. 35-45, 2021.

MARTINS, G. P. **Soja crua em dietas para a tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2011. 79 f. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado em Aquicultura)-Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

MELLO, H. de, et al. Efeitos benéficos de probióticos no intestino de juvenis de Tilápia-do-Nilo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, n.33, p.724-730, 2013.

MENEZES, L. A. A.; DRUNKLER, D. A. Microencapsulação de *Lactobacillus Acidophilus*: Curva de Crescimento e Influência da Ativação da Cultura Sobre A Viabilidade Celular. **Blucher Food Science Proceedings**, v. 1, n. 1, p. 591-592, 2014.

MÉTAIS P.; BIETH J. (1968) Détermination de l'a-amylase. *Ann Biol Clin* 26:133– 142.

MIAO, S. et al. Effect of disaccharides on survival during storage of freeze dried probiotics. **Dairy Science and Technology**, v. 88, n. 1, p. 19-30, 2008.

MOHAMMADI, Ghasem; ADORIAN, Taida Juliana; RAFIEE, Gholamreza. Beneficial effects of *Bacillus subtilis* on water quality, growth, immune responses, endotoxemia and protection against lipopolysaccharide-induced damages in *Oreochromis niloticus* under biofloc technology system. **Aquaculture Nutrition**, v. 26.5, p.1476-1492, 2020.

MOTTA, A. S. et al. Technological and functional properties of lactic acid bacteria: the importance of these microorganisms for food. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 70, n. 3, p. 172-184, 2015.

MORAES, K. N. *et al.* Uso de bactérias ácido-láticas na ração de camarão marinho. **Mostra Nacional de Iniciação Científica e Tecnológica Interdisciplinar**. 2015.

MORO, E. B. *et al.* Fenilalanina em dietas para juvenis de tilápis do nilo/Phenylalanine in diets for juvenile of nile tilapia. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 29340-29353, 2020.

MUKHERJEE, R.; CHAKRABORTY, R.; DUTTA, A. Role of fermentation in improving nutritional quality of soybean meal—a review. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 29, n. 11, p. 1523, 2016.

NAIEL, M. AE., *et al.* Using lactic acid bacteria as an immunostimulants in cultured shrimp with special reference to *Lactobacillus* spp. **Aquaculture International**, v. 29, n. 1, p. 219-231, 2021.

NG, W. K.; ROMANO, N. A review of the nutrition and feeding management of farmed tilápis throughout the culture cycle. **Reviews in Aquaculture**, v. 5, n. 4, p. 220-254, 2013.

NG, W. K.; CHONG, Cheong-Yew. An overview of lipid nutrition with emphasis on alternative lipid sources in tilápis feeds. In: **Proceedings of the Sixth International Symposium on Tilápis in Aquaculture**. Manila, Philippines: Bureau of Fisheries and Aquatic Resources, p. 241-248, 2004.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Princípios de bioquímica. 6<sup>a</sup> edição. **Porto Alegre, BR, Artimed**, 2014.

NOVAKI, L. *et al.* Produção de invertase por fermentação em estado sólido a partir de farelo de soja. **Engevista**, v. 12, n. 2, 2010.

OJOKOH, A. O.; YIMIN, W. Effect of fermentation on chemical composition and nutritional quality of extruded and fermented soya products. **International Journal of Food Engineering**, v. 7, n. 4, 2011.

OLIVA-TELES, A. Nutrition and health of aquaculture fish. **Journal of fish diseases**, v. 35, n. 2, p. 83-108, 2012.

ORDÓÑEZ J. A. *et al.*, Tecnologia de Alimentos, componentes dos alimentos e processos. Vol. 1. **Porto Alegre, BR, Artimed**, 2005.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA. FAO. Fisheries and Aquaculture Department. Statistics. Disponível em:< <http://www.fao.org/3/ca5304en/CA5304EN.pdf>>. Acesso em: 16 de fevereiro de 2020, 2019a.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA. FAO. Fisheries and Aquaculture Department. Statistics. Disponível em<<http://www.fao.org/fishery/statistics/global-aquaculture-production/en>>. Acesso em: 16 de fevereiro de 2020.

PANDEY, A. Solid-state fermentation. **Biochemical engineering journal**, v. 13, n. 2-3, p. 81-84, 2003.

PANDIYAN, P. *et al.* Probiotics in aquaculture. **Drug invention today**, v. 5, n. 1, p. 55-59, 2013.

PARENTE, E.; COGAN, T. M.; POWELL, Ian B. Starter cultures: general aspects. In: **Cheese**. Academic Press, 2017. p. 201-226.

PARRA HUERTAS, R. A. BACTÉRIAS ÁCIDO LÁCTICAS: PAPEL FUNCIONAL NOS ALIMENTOS. **Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial**, v. 8, n. 1, p. 93-105, 2010.

PAVASOVIC, A. *et al.* Influence of dietary protein on digestive enzyme activity, growth and tail muscle composition in redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus* (von Martens). **Aquaculture Research**, v. 38, n. 6, p. 644-652, 2007.

PELEG, M.; COLE, M. B. Reinterpretation of microbial survival curves. **Critical Reviews in Food Science**, v. 38, n. 5, p. 353-380, 1998.

PÉREZ-SÁNCHEZ, T. *et al.* Probiotics in aquaculture: a current assessment. **Reviews in Aquaculture**, v. 6, n. 3, p. 133-146, 2014.

PÉREZ-FUENTES, J. A. *et al.* C: N ratios affect nitrogen removal and production of Nile tilápia *Oreochromis niloticus* raised in a biofloc system under high density cultivation. **Aquaculture**, v. 452, p. 247-251, 2016.

PETERSON, W. H.; FRED, E. B.; ANDERSON, J. A. The fermentation of hexoses and related compounds by certain pentose fermenting bacteria. **Journal of Biological Chemistry**, v. 53, n. 1, p. 111-123, 1922.

PEZZATO, L. E. *et al.* Exigência em fósforo disponível para alevinos de tilápia do Nilo. **Ciência Rural**, v. 36, n. 5, p. 1600-1605, 2006.

PICOLI, F. *et al.* Dietary bee pollen affects hepatic–intestinal histomorphometry of Nile tilápia fingerlings. **Aquac Res.**, v. 50, n. 11, p. 1–10, 2019.

PIRARAT, N., et al. Modulation of intestinal morphology and immunity in nile tilápia (*Oreochromis niloticus*) by *Lactobacillus rhamnosus* GG. **Research in veterinary science**, v. 91.3, p.92-e97, 2011.

PLAIPETCH, P.; YAKUPITIYAGE, A. Effect of replacing soybean meal with yeast-fermented canola meal on growth and nutrient retention of Nile tilápia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus 1758). **Aquaculture Research**, v. 45, n. 11, p. 1744-1753, 2014.

POFFO, F.; SILVA, M. A. C. Caracterização taxonômica e fisiológica de bactérias ácido-láticas isoladas de pescado marinho. **Food Science and Technology**, v. 31, n. 2, p. 303-307, 2011.

POPMA, T.; MASSER, M. Tilápia life history and biology. **Malawi Fisheries Repository**, n. 283, 1999.

QUINTO, E. J. *et al.* Probiotic lactic acid bacteria: a review. **Food and Nutrition Sciences**, v. 5, n. 18, p. 1765, 2014.

RAJ, T. *et al.* Recent biotechnological trends in lactic acid bacterial fermentation for food processing industries. **Systems Microbiology and Biomanufacturing**, p. 1-27, 2021.

RAHIMNEJAD, S. *et al.* Evaluation of *Bacillus pumillus* SE5 fermented soybean meal as a fish meal replacer in spotted seabass (*Lateolabrax maculatus*) feed. **Aquaculture**, p. 735975, 2020.

REDDY, G. *et al.* Amylolytic bacterial lactic acid fermentation—a review. **Biotechnology advances**, v. 26, n. 1, p. 22-34, 2008.

RINGO, E. *et al.* Probiotics, lactic acid bacteria and bacilli: interesting supplementation for aquaculture. **Journal of applied microbiology**, v. 129, n. 1, p. 116-136, 2020.

RINGO, E. *et al.* Lactic acid bacteria vs. pathogens in the gastrointestinal tract of fish: a review. **Aquaculture Research**, v. 41, n. 4, p. 451-467, 2010.

RINGO, E.; GATESOUPE, F. J. Lactic acid bacteria in fish: a review. **Aquaculture**, v. 160, n. 3-4, p. 177-203, 1998.

ROUBACH, R. *et al.* Nutrição e manejo alimentar na piscicultura. **Embrapa Amazônia Ocidental-Documentos (INFOTECA-E)**, 2002.

RAHIMNEJAD, S., et al. Evaluation of *Bacillus pumillus* SE5 fermented soybean meal as a fish meal replacer in spotted seabass (*Lateolabrax maculatus*) feed. **Aquaculture**, v. 531: p.735975, 2021.

RUIZ, M. L., et al. Diferentes concentrações de *Lactobacillus plantarum* em dietas para tilápia-do-nilo. 2016.

S.A. BRASIL produziu 758 mil toneladas de peixes em 2019. **Sociedade Nacional da Agricultura**, Rio de Janeiro, v. 2, n. 1, p. 1-2, 17 fev. 2020. Disponível em: <https://www.sna.agr.br/brasil-produziu-758-mil-toneladas-de-peixes-em-2019/>. Acesso em: 05 fev. 2021.

SAEED A, H.; SALAM A, I. Current limitations and challenges with lactic acid bacteria: a review. **Food and Nutrition Sciences**, v. 2013, 2013.

SAFRA. **Tilápis: Brasil é 4º maior produtor mundial.** Disponível em:< <http://revistasafra.com.br/tilápis-brasil-e-4o-maior-produtor-mundial/>.>. Acesso em: 16 fev. 2021. 2019.

SAGADA, G. *et al.* Effect of dietary inactivated *Lactobacillus plantarum* on growth performance, antioxidative capacity, and intestinal integrity of black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*) fingerlings. **Aquaculture**, p. 736370, 2021.

SALMINEN, S.; VON WRIGHT, A. (Ed.). **Lactic acid bacteria**. New York, USA: Dekker, 1993.

SANTAELLA, S. T. *et al.* Biofloc production in activated sludge system treating shrimp farming effluent. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 23, n. 6, p. 1143-1152, 2018.

SENAR. **Piscicultura: alimentação**, 1.ed. Brasília, v. 1, 2019.

SHARMA, R., GARG, P., KUMAR, P., BHATIA, S. K., & KULSSHRESTHA, S. Microbial fermentation and its role in quality improvement of fermented foods. **Fermentation**, 2020, 6(4), 106.

SCHULTER, E. P.; VIEIRA FILHO, J. E. R. **Evolução da piscicultura no Brasil: Diagnóstico e desenvolvimento da cadeia produtiva de tilápis**. Texto para Discussão, 2017.

SCHNÜRER, J.; MAGNUSSON, J. Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. **Trends in Food Science & Technology**, v.16.1-3, p. 70-78,2005.

SILVA, Vitor Fernandes *et al.* Produção integrada de camarão-branco-do-pacífico e tilápia-do-nilo em bioflocos suplementados ou não com microalga e ração para peixes. 2020.

SILVA, L. J. M. **Isolamento e Caracterização Bioquímica das Bactérias do Ácido Láctico do Queijo São Jorge DOP.** 2011. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar) – Universidade dos Açores, Angra do Heroísmo, 2011.

SILVA, P. C. *et al.* Avaliação econômica da produção da tilápia-do-Nilo em tanques com diferentes esquemas de troca de água no sistema raceway. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 4, p. 760-763, 2010.

SINGHANIA, R. R. *et al.* Recent advances in solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 44, n. 1, p. 13-18, 2009.

SONG, X., et al. Effects of fermented soybean meal and guanosine 5'-monophosphate on growth, intestinal health and anti-stress capability of *Penaeus vannamei* in low fish meal diet. **Aquaculture**, v.548, n.737591, 2022.

SOUZA, R.V. de; SILVA, B. C. da; NOVAES, A.L.T. A aquicultura de Santa Catarina em números. Florianópolis, SC, 2022. 39p. (Epagri. Documentos, 354).

STAVROPOULOU, E.; BEZIRTZOGLOU, E. Predictive modeling of microbial behavior in food. **Foods**, v. 8, n. 12, p. 654, 2019.

STICKNEY, R., R. Tilápia tolerance of saline waters: a review. **The Progressive Fish-Culturist**, v. 48, n. 3, p. 161-167, 1986.

THIELE, Christina J. *et al.* Microplastics in fish and fishmeal: an emerging environmental challenge?. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 1-12, 2021.

THOMAS, L.; LARROCHE, C.; PANDEY, A. Current developments in solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 81, p. 146-161, 2013.

TOWERS, L. **Farming tilápia: life history and biology.** 2005. Disponível em: <https://thefishsite.com/articles/tilápia-life-history-and-biology>. Acesso em: 21 out. 2020.

TORO, C. R. Uso de bactérias láticas probióticas na alimentação de camarões *Litopenaeus vannamei* como inibidoras de microrganismos patogênicos e estimulantes do sistema imune. **PhD Theses, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brazil**, p. 1-153, 2005.

TURNER JR, J. W., et al. Gut microbiota of wild fish as reporters of compromised aquatic environments sleuthed through machine learning. **Physiological genomics**, v.54.5, p. 177-185, 2022.

UCZAY, J. *et al.* Fish meal replaced by hydrolysed soybean meal in diets increases growth and improves the antioxidant defense system of silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Aquaculture Research**, v. 50, n. 5, p. 1438-1447, 2019.

VARGAS-ALBORES, F. *et al.* Therapeutic modulation of fish gut microbiota, a feasible strategy for aquaculture?. **Aquaculture**, p. 737050, 2021.

VENEGAS-ORTEGA, M. G. et al. Production of bioactive peptides from lactic acid bacteria: a sustainable approach for healthier foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 18, n. 4, p. 1039-1051, 2019.

VICENTE, I. ST; ELIAS, F.; FONSECA-ALVES, C. E. Perspectivas da produção de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) no Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 37, n. 4, p. 392-398, 2014.

VIDAL, M. F.; XIMENES, L. F. Produção de pescados na área de atuação do BNB. **Caderno Setorial ETENE**, v.4, n. 91, 2019.

VILLAMIL, L.; REYES, C.; MARTÍNEZ-SILVA, M. A. In vivo and in vitro assessment of *Lactobacillus acidophilus* as probiotic for tilápia (*Oreochromis niloticus*, Perciformes: Cichlidae) culture improvement. **Aquaculture Research**, v.45, n.7, p.1116-1125, 2014.

VINOGRADSKAYA, M. I.; KASUMYAN, A. O. Palatability of water organisms for Nile tilápis *Oreochromis niloticus* (Cichlidae). **Journal of Ichthyology**, v.59, n.3, p.389-398, 2019.

VITULE, J. R. S.; FREIRE, C. A.; SIMBERLOFF, D. Introduction of non-native freshwater fish can certainly be bad. **Fish and Fisheries**, v. 10, n. 1, p. 98-108, 2009.

XU, C. *et al.* Effects of partial fish meal replacement with two fermented soybean meals on the growth of and protein metabolism in the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*). **Aquaculture Reports**, v. 17, p. 100328, 2020.

XU, Q. *et al.* Effects of Replacing Dietary Fish Meal by Soybean Meal Co-Fermented Using *Bacillus subtilis* and *Enterococcus faecium* on Serum Antioxidant Indices and Gut Microbiota of Crucian Carp *Carassius auratus*. **Fishes**, v. 7, n. 2, p. 54, 2022.

WANG, L. *et al.* Effects of soybean meal fermentation by *Lactobacillus plantarum* P8 on growth, immune responses, and intestinal morphology in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.). **Aquaculture**, v. 464, p. 87-94, 2016.

WANG, YUH-YUN DAVID; FIELDS, ML. Viabilidade da fermentação caseira para melhorar o equilíbrio de aminoácidos da farinha de milho. **Journal of Food Science**, v. 43, n. 4, pág. 1104-1104, 1978.

WATTANAKUL, W., et al. Optimal Replacement of Soybean Meal with Fermented Palm Kernel Meal as Protein Source in a Fish Meal-Soybean Meal-Based Diet of Sex Reversed Red Tilápis (*Oreochromis niloticus* × *O. mossambicus*). **Animals**, v. 11.8, p.2287, 2021.

WEBSTER, C. D. *et al.* Use of soybean meal and distillers grains with solubles as partial or total replacement of fish meal in diets for channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, v. 106, n. 3-4, p. 301-309, 1992.

WEI, C. *et al.* Replacement of fishmeal with *Shewanella* sp. MR-7 fermented soya bean meal in Pacific white shrimp. **Aquaculture Research**, v. 52, n. 5, p. 2110-2120, 2021.

WEI, Y.; LIAO, S.; WANG, A. The effect of different carbon sources on the nutritional composition, microbial community and structure of bioflocs. **Aquaculture**, v. 465, p. 88-93, 2016.

WESSELS, Stephen *et al.* The lactic acid bacteria, the food chain, and their regulation. **Trends in food science & technology**, v. 15, n. 10, p. 498-505, 2004.

WHITE J., HART R., FRY J. An Evaluation of The Waters Pico-Tag System For The Amino-Acid-Analysis of Food Materials. **Journal of Automatic Chemistry**, v.8, n.4, p.170-177, 1986.

WILLIAMS, N. T. Probióticos. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 67, n. 6, pg. 449-458, 2010.

WOHLFARTH, Giora W.; HULATA, Gideon I. Applied genetics of tilápias. 1981.

WUERTZ, S.; SCHROEDER, A.; WANKA, K. M. Probiotics in fish nutrition—long-standing household remedy or native nutraceuticals? **Water**, v.13, n.10, p.1348, 2021

YANBO, W.; ZIRONG, X. Effect of probiotics for common carp (*Cyprinus carpio*) based on growth performance and digestive enzyme activities. **Animal feed science and technology**, v. 127, n. 3-4, p. 283-292, 2006.

YANG, A. et al. Degradation of major allergens and allergenicity reduction of soybean meal through solid-state fermentation with microorganisms. **Food & function**, v. 9, n. 3, p. 1899-1909, 2018.

YANG, H. *et al.* Effects of replacing fish meal with fermented soybean meal on the growth performance, intestinal microbiota, morphology and disease resistance of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). **Aquaculture Reports**, v. 22, p. 100954, 2022.

YASSINE, T. *et al.* The enhancement of the growth rate, intestinal health, expression of immune-related genes, and resistance against suboptimal water temperature in common

carp (*Cyprinus carpio*) by dietary paraprobiotics. **Aquaculture Reports**, v. 20, p. 100729, 2021.

YİĞİT, N. Ö.; ARAFATOĞLU, E.; YASAR, S. Effect of Partial Replacement of Fish Meal with Fermented Soybean Meal on Growth, Feed Efficiency, Body Composition, Amount of Lactic Acid Bacteria in Diet and Intestine in Carp (*Cyprinus carpio* L. 1758). **Acta Aquatica Turcica**, v. 16, n. 3, p. 416-422, 2020.

ZHANG, X. *et al.* Effects of dietary fish meal replacement by fermented moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves on growth performance, nonspecific immunity and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* in juvenile gibel carp (*Carassius auratus gibelio* var. CAS III). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 102, p. 430-439, 2020.

ZHENG, X. *et al.* The effect of *Lactobacillus plantarum* administration on the intestinal microbiota of whiteleg shrimp *Penaeus vannamei*. **Aquaculture**, v. 526, p. 735331, 2020.

ZHANG, G. P. *et al.* Solid-state fermentation of cornmeal with the ascomycete *Morchella esculenta* for degrading starch and upgrading nutritional value. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 26, n. 1, p. 15-20, 2010.

ZHAO, Y., et al. Stability and immunoreactivity of glycinin and  $\beta$ -conglycinin to hydrolysis in vitro. **Food and agricultural immunology**, v.21.3, p. 253-263, 2010.

ZHUO, L. C.; LIU, K.; LIN, Y. H. Apparent digestibility of soybean meal and *Lactobacillus* spp. fermented soybean meal in diets of grouper, *Epinephelus coioides*. **Aquaculture Research**, v. 47, n. 3, p. 1009-1012, 2014.

ZHOU, Q. C. *et al.* Partial replacement of fishmeal by soybean meal in diets for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture Nutrition**, v. 11, n. 3, p. 175-182, 2005.

ZHOU, Z., et al. Dietary effects of soybean products on gut microbiota and immunity of aquatic animals: a review. **Aquaculture Nutrition**, v. 24, n.1, p.644-665, 2018.

ZULHISYAM, A. K. et al. Using of fermented soy pulp as an edible coating material on fish feed pellet in African catfish (*Clarias gariepinus*) production. **Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation**, v. 13, n. 1, p. 296-308, 2020.

ZUNIGA, M.; PARDO, I.; FERRER, S. An improved medium for distinguishing between homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria. **International journal of food microbiology**, v. 18, n. 1, p. 37-42, 1993.

## ANEXO I

## ANEXO I. Qualidade da água

	RPA	RPV	RPVF6	RPVF18
<i>Temperatura</i>				
7 dias	26,96±0,30	27,18±0,61	27,43±0,39	27,16±0,45
15 dias	26,27±0,10	26,77±0,55	26,62±0,51	26,37±0,43
30 dias	26,31±0,26	26,14±0,2	26,34±0,22	26,23±0,28
45 dias	25,98±0,49	26,49±0,49	26,07±0,79	26,69±0,28
60 dias	26,22±0,16	26,13±0,53	26,18±0,38	26,26±0,30
<i>Oxigênio dissolvido</i>				
7 dias	8,01±0,21	8,15±0,18	8,23±0,17	8,12±0,29
15 dias	8,15±0,15	8,32±0,15	8,34±0,15	8,18±0,10
30 dias	7,5±0,23	7,65±0,25	7,85±0,29	7,78±0,32
45 dias	8,17±3,54	8,12±0,17	8,08±0,13	8,16±0,14
60 dias	8,98±0,06	8,97±0,11	8,95±0,16	8,89±0,21
<i>pH</i>				
7 dias	8,42±0,15	8,44±0,08	8,50±0,07	8,12±0,29
15 dias	8,45±0,16	8,52±0,10	8,49±0,11	8,49±0,24
30 dias	6,90±0,15	6,92±0,36	7,10±0,41	7,20±0,33
45 dias	6,88±0,72 a	6,69±0,27b	6,78±0,28b	6,93±0,39a
60 dias	7,10±0,28	7,36±0,32	6,78±0,59	7,36±0,77
<i>Sólidos sedimentáveis (Cone inhoffe)</i>				
7 dias	5,01±0,74	4,06±0,98	4,70±1,40	4,15±0,85
15 dias	5,65±2,04	5,22±0,99	5,86±1,53	5,59±1,73
30 dias	9,72±0,81	9,59±1,56	10,85±2,96	10,04±1,80
45 dias	13,33±4,71	15,10±5,66	18,80±6,74	19,00±6,32
60 dias	17,29±0,28	12,52±0,32	17,05±0,59	19,29±0,77
<i>Amônia</i>				
7 dias	0,28±0,03	0,69±0,51	0,47±0,13	0,43±0,14
15 dias	2,85±0,44	1,45±0,35	2,28±0,67	1,75±0,65
30 dias	0,08±0,06	0,07±0,13	0,07±0,06	0,10±0,04
45 dias	1,05±0,92a	0,80±0,55ab	1,07±0,58ab	0,69±1,00b
60 dias	0,30±0,10	0,35±0,22	0,27±0,07	0,26±0,19

Legenda: RPA- Ração proteína animal; RPV- Ração proteína vegetal; RPVF6- Ração proteína vegetal fermentada por 6H; RPVF18- Ração proteína vegetal fermentada por 18H. Médias seguidas de letras diferentes diferem ( $P<0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Fonte: Próprio autor.





Código para verificação: **ZA349ZU9**

Este documento foi assinado digitalmente pelos seguintes signatários nas datas indicadas:

 **THIAGO EL HADI PEREZ FABREGAT** (CPF: 224.XXX.108-XX) em 04/04/2023 às 15:08:16  
Emitido por: "SGP-e", emitido em 30/03/2018 - 12:34:16 e válido até 30/03/2118 - 12:34:16.  
(Assinatura do sistema)

Para verificar a autenticidade desta cópia, acesse o link <https://portal.sgpe.sea.sc.gov.br/portal-externo/conferencia-documento/VURFU0NfMTIwMjJfMDAwMTMyMTdfMTMyMzBfMjAyM19aQTM0OVpVOQ==> ou o site <https://portal.sgpe.sea.sc.gov.br/portal-externo> e informe o processo **UDESC 00013217/2023** e o código **ZA349ZU9** ou aponte a câmera para o QR Code presente nesta página para realizar a conferência.