

NANDARA SOARES DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DO HIDROLISADO PROTEICO DE SARDINHA (*Sardinella sp.*) E DE
PROBIÓTICO COMERCIAL COMO PROMOTORES DE CRESCIMENTO PARA
JUVENIS DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)**

Dissertação apresentada ao Curso
de Pós-Graduação em Ciência
Animal, da Universidade do Estado
de Santa Catarina, como requisito
parcial para obtenção do título de
Mestre em Ciência Animal.
Orientador: Dr. Thiago El Hadi
Perez Fabregat.

LAGES

2017

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

Soares de Oliveira, Nandara
AVALIAÇÃO DO HIDROLISADO PROTEICO DE SARDINHA
(*Sardinella sp.*) E DE PROBIÓTICO COMERCIAL COMO
PROMOTORES DE CRESCIMENTO PARA JUVENIS DE JUNDIÁ
(*Rhamdia quelen*) / Nandara Soares de Oliveira. -
Lages , 2017.
46 p.

Orientador: Thiago El Hadi Perez Fabregat
Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado de
Santa Catarina, Centro de Ciências
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal, Lages, 2017.

1. Nutrição de peixes. 2. Desempenho zootécnico.
3. Hidrólise enzimática. I. El Hadi Perez Fabregat,
Thiago. II. Universidade do Estado de Santa
Catarina. Programa de Pós-Graduação. III. Título.

NANDARA SOARES DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DO HIDROLISADO PROTEICO DE SARDINHA (*Sardinella*
sp.) E DE PROBIÓTICO COMERCIAL COMO PROMOTORES DE
CRESCIMENTO PARA JUVENIS DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciência Animal como requisito
parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Banca Examinadora:

Orientador:

Prof. Dr. Thiago El Hadi Perez Fabregat.

(Universidade do Estado de Santa Catarina)

Membro:

Prof. Dr. Clóvis Eliseu Gewehr

(Universidade do Estado de Santa Catarina)

Membro:

Prof. Dr. Marcos LuisPessatti.

(Universidade do Valle do Itajaí)

LAGES, 20/02/17

Dedico este trabalho ao meu pai, João Soares de Oliveira (*in memoriam*), por todo amor, educação e esforço. E ao meu irmão, Lucas Soares de Oliveira, essa conquista também é de vocês.

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter permitido a realização deste objetivo em minha vida.

À minha família pela educação, valores passados e incentivo.

Ao meu namorado, Tercio Fehlauer, pelo carinho, incentivo e paciência nos momentos difíceis.

Ao professor Thiago El Hadi Fabregat, pela orientação, aprendizado e paciência durante esses anos.

Aos amigos e colegas de laboratório André Gonçalves, Emanuel Favereto, Erick William, Manuela Martins e Natália Há pelo auxílio durante a realização deste trabalho, e aos demais colegas pela convivência e troca de conhecimentos.

À ALLTECH pela doação do produto Lacto Sacc e à POLI-NUTRI pela doação do premix, ambos utilizados em tratamentos no experimento.

À UDESC, seus professores e funcionários pela oportunidade de cursar em uma instituição de qualidade.

À CAPES pelo apoio financeiro através da bolsa de estudos.

“Pessoas que você ama, elas fizeram quem você é. Elas ainda são uma parte de você. Se você parar de ser quem é, essa última parte delas que ainda está dentro, quem você é, desaparece.”

Glenn Rhee- The Walking Dead

RESUMO

Neste estudo foram avaliadas dietas contendo diferentes combinações de hidrolisado proteico de sardinha e probiótico comercial como promotores de crescimento para juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*). Foram utilizados 240 juvenis de jundiá (peso médio de 7,76 g), distribuídos em 20 caixas, cada caixa foi considerada uma unidade experimental, totalizando 5 repetições por tratamento. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e o experimento foi conduzido por 56 dias. Quatro dietas isoprotéicas e isoenergéticas foram avaliadas, sendo uma delas totalmente isenta de hidrolisado de sardinha e probiótico comercial, uma contendo 5% de hidrolisado, outra contendo apenas probiótico e a última que continha 5% de hidrolisado juntamente com o probiótico. Foi avaliado o desempenho zootécnico, índices organométricos e morfometria intestinal. Os resultados foram analisados por análise de variância paramétrica (ANOVA). Não foi verificada diferença significativa ($P>0,05$) entre as médias dos parâmetros avaliados. A inclusão do hidrolisados na dietas de peixes pode ser uma boa alternativa ao uso da farinha de peixe, uma vez que não trouxe prejuízos no desempenho. Apesar dos microrganismos utilizados no probiótico terem ser efeito comprovado em outras espécies, não teve ação promotora de crescimento no jundiá sobre as condições experimentais.

Palavras-chave: Nutrição de peixes. Desempenho zootécnico. Hidrólise enzimática.

SUMMARY

In this study, diets containing different combinations of sardine protein hydrolyzate and commercial probiotic were evaluated as growth promoters for juvenile jundiá (*Rhamdia quelen*). A total of 240 jundiá juveniles (average weight of 7.76 g) were used, distributed in 20 boxes, each box to an experimental unit, totaling 5 replicates per treatment. The experimental design was completely randomized and the experiment was conducted for 56 days. Four isoproteic and isoenergetic diets were evaluated, one of them completely free of sardine hydrolyzate and commercial probiotic, one containing 5% hydrolyzate, one containing only probiotic and one containing 5% hydrolyzate together with the probiotic. The zootechnical performance, organometric indexes and intestinal morphometry were evaluated. The results were analyzed by analysis of parametric variance (ANOVA). There was no significant ($P > 0.05$) between the means of hair evaluated. The inclusion of hydrolysates in fish diets may be a good alternative for the use of fish meal, since it did not bring the losses in performance. Although the non-probiotic used microorganisms had a proven effect in other species, it did not have a growth promoting action without conditions on the experimental conditions.

Key words: Fish nutrition. Zootechnical performance. Enzymatic hydrolysis

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Trabalhos realizados que utilizaram hidrolisado proteico na alimentação de peixes.....	23
Tabela 2- Trabalhos que utilizaram probiótico na alimentação de peixes.....	25
Tabela 3- Composição bromatológica do hidrolisado de músculo de sardinha (<i>Sardinella</i> sp.).....	28
Tabela 4- Composição das dietas com diferentes combinações de hidrolisado e probiótico comercial.....	29
Tabela 5- Desempenho (médias \pm desvio padrão) de juvenis de jundiá alimentados com dietas contendo diferentes combinações de hidrolisado e probiótico comercial.....	33
Tabela 6- Índices organométricos de juvenis de jundiá alimentados com dietas contendo diferentes combinações de hidrolisado e probiótico comercial.....	33
Tabela 7- Morfometria do intestino médio de juvenis de jundiá alimentados com dietas contendo diferentes combinações de hidrolisado e probiótico comercial.....	34

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1	RESÍDUOS NA INDUSTRIA PESQUEIRA.....	21
2.2	HIDROLISADOS DE PESCADO NA RAÇÃO PARA PEIXES	22
2.3	PROBIÓTICO	24
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	27
3.1	ANIMAIS E INSTALAÇÃO	27
3.2	PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO HIDROLISADO DE RESÍDUO DE SARDINHA.....	27
3.4	DIETAS EXPERIMENTAIS	28
3.5	ENSAIO DE DESEMPENHO.....	29
3.6	MORFOMETRIA INTESTINAL.....	30
3.7	AVALIAÇÕES MICROBIOLÓGICAS.....	30
3.8	ÍNDICES ORGANOMÉTRICOS	31
3.9	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	31
4	RESULTADOS	33
5	DISCUSSÃO	35
6	CONCLUSÃO.....	39
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

1 INTRODUÇÃO

O crescente aumento populacional e a busca por alimentos de qualidade, fez com que o consumo de pescado aumentasse no mundo todo (FAO, 2014). Para que essa demanda na produção seja suprida se tornou necessário, a intensificação na piscicultura, aumentando a demanda por rações de qualidade, de forma a evitar um baixo desempenho zootécnico e, consequentemente, perdas econômicas. A farinha de peixe é um ingrediente importante na formulação das rações, mas que está cada vez mais caro e menos disponível. Para substituir a farinha devem ser utilizados ingredientes que atendam às exigências nutricionais dos animais, promovendo o seu desenvolvimento adequado (GRAEFF & MONDARDO 2006). Esses fatores levaram a um aumento das pesquisas com alimentos funcionais e de substâncias que promovam o aumento da eficiência alimentar, assim como um aumento na taxa de crescimento dos peixes, sem causar danos ao meio ambiente (CAVALCANTE, 2015).

Uma alternativa ao uso da farinha de peixe é o hidrolisado proteico de pescado, oriundo do reaproveitamento de resíduos da indústria de processamento, os quais podem representar cerca de 60% da produção (CHALAMAYA, 2012). O hidrolisado proteico consiste na digestão prévia da proteína pelo processo de hidrólise enzimática, resultando em um produto rico em peptídeos de baixo peso molecular, que são de absorção mais rápida nos enterócitos (OSPINA et al., 2016). Os peptídeos livres apresentam vários benefícios como a sua utilização como substrato por microrganismos intestinais (DELCROIX, 2015), e atuam também como atrativos alimentares, melhorando a palatabilidade e aumentando o consumo (MARTÍNEZ-ALVAREZ et al., 2015).

Outro aditivo bastante utilizado para melhorar o desempenho em peixes são os probióticos, organismos vivos que podem trazer efeitos benéficos ao hospedeiro, equilibrando a microbiota intestinal (CALVACANTE, 2015). Os probióticos auxiliam no aumento do comprimento das vilosidades intestinais e consequentemente numa maior área de superfície de absorção e aproveitamento dos nutrientes (FERREIRA et al., 2014). As bactérias do gênero *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e da espécie *Enterococcus faecium*, e leveduras do gênero *Saccharomyces* são os principais micro-organismos probióticos utilizados na alimentação dos organismos aquáticos (LIMA et al, 2014). Safari et al., (2012) e Arihara et al., (2006) sugeriram que os peptídeos livres presentes nos hidrolisados proteicos tem potencial para estimular o crescimento de bactérias lácticas e outros microrganismos benéficos. Um tripeptídeo formado por glutamato-leucina-mationina encontrado no hidrolisado de músculo suíno já teve sua atividade prebiótica comprovada (ARIHARA et al.,

2006). Dessa maneira, a suplementação da dieta com hidrolisados proteicos, ricos em peptídeos livres, incrementaria o crescimento e a estabilidade dos microrganismos probióticos no intestino, aumentando a superfície de absorção da mucosa intestinal, e resultando em melhor absorção e aproveitamento dos nutrientes (ARIHARA, 2006; WOSNIAK et al., 2016).

Devido à grande variedade de espécies nativas cultivadas, não existem probióticos com efeito comprovado sobre crescimento para cada uma delas, entre elas o jundiá (*Rhamdia quelen*). A produção de jundiá aumentou expressivamente nos últimos anos, em 2013 foi produzido 800.000 quilos no estado de Santa Catarina (AMARAL JÚNIOR et al., 2015). Trata-se de uma espécie de grande importância econômica na região sul do país, devido ao seu bom desempenho zootécnico, resistência a baixas temperaturas, o sabor de sua carne e ausência de espinhos intramusculares. Portanto o objetivo deste trabalho foi avaliar o hidrolisado proteico de músculo de sardinha como substituto da farinha de peixe e sua combinação com um probiótico comercial como promotores de crescimento na alimentação de juvenis de jundiá.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 RESÍDUOS NA INDÚSTRIA PESQUEIRA

A indústria do pescado é uma atividade econômica importante, sendo a proteína de pescado uma fonte essencial de nutrientes para muitas pessoas, especialmente nos países em desenvolvimento (CHALAMAYA, 2012). Dentro deste contexto, a produção aquícola cresceu de forma significativa nos últimos anos, atingindo em 2012 cerca de 67 milhões de toneladas (FAO, 2014). Além disso as rejeições a bordo, ou seja espécies sem interesse comercial pescadas accidentalmente e desprezadas, atingem anualmente, cerca de 7 milhões de toneladas (BATISTA et al, 2014).

Uma grande quantidade de resíduos do processamento de pescado é descartada diariamente pela indústria, que variam de acordo com o grau de processamento. Os resíduos podem representar 10 a 50 % da matéria-prima no caso dos produtos congelados, enquanto no conservero cerca de 40 % (CHALAMAYA, 2012). Estes resíduos são constituídos por cabeças, vísceras, espinhas, escamas, pedaços, peles, exemplares inteiros ou produtos rejeitados (BATISTA et al, 2014). Em geral são destinados para a fabricação de fertilizantes, produtos químicos, óleo e, principalmente, a produção de farinha de peixe. Porém a farinha de peixe apresenta algumas desvantagens como (Adaptado por BATISTA et al., 2014):

- Alto teor de sais minerais e baixo teor proteico quando oriunda de subprodutos
- Lipídios podem estar muito oxidados
- A qualidade da farinha é muito afetada pelas características da matéria-prima
- Algumas funções biológicas das proteínas não são expressadas

A hidrólise enzimática pode ser utilizada como alternativa para aproveitar melhor os resíduos da pesca, e resulta em um produto de alto valor biológico agregado (HEVROY et al., 2005). O hidrolisado proteico de pescado é obtido através da adição de enzimas purificadas de outras fontes, adicionadas à matéria-prima de maneira controlada, quebrando as ligações peptídicas, disponibilizando peptídeos com diferentes massas moleculares e sequências de aminoácidos (FRIES et al., 2012). Estas sequências apresentam atividades biológicas muito diversas que apenas se manifestam quando não se encontram incorporadas na cadeia proteica (BATISTA et al, 2014). A composição química final do produto é semelhante à do pescado original e inclui proteínas de elevado valor, ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa da

série n-3, alguns minerais importantes e ainda diversos compostos com aplicações em nutracêuticos (BATISTA et al, 2014).

Geralmente, as proteínas hidrolisadas são compostas de pequenos fragmentos de peptídeos que contêm 2-20 aminoácidos (CHALAMAYA, 2012). Alguns desses peptídeos, chamado peptídeos bioativos, podem ter uma biofunção específica e um impacto positivo no corpo, podendo influenciar na saúde do animal, (KITTS et al., 2003). De acordo com a sequência de aminoácidos do peptídeo, este pode ter diferentes funções biológicas, tais como anti-hipertensores, agonistas de opióides, imunomodulador, anti-trombóticos, antioxidantes, anti-carcinogenicos e atividades antimicrobianas (HARNEDY et al., 2012). Essas funções biológicas se devem as suas características estruturais que desempenham diferentes atividades, tais como hidrofobicidade, carga ou propriedades de ligação microelementos (KIM, et al., 2010). Com isso é muito importante que se tenha controle no processo hidrolítico e o grau de hidrólise, pois isso determina muitas das propriedades funcionais e biológicas dos hidrolisados (ELIAS et al, 2008).

2.2 HIDROLISADOS DE PESCADO NA RAÇÃO PARA PEIXES

O hidrolisado de pescado possui várias propriedades como boa digestibilidade, elevada solubilidade, alto teor proteico, rápida absorção e baixo teor de cinzas, que viabiliza seu uso na nutrição animal (Referência). Na produção animal seu uso é indicado, entre outras aplicações, a animais nas fases iniciais da vida, visto que nessa fase a maioria não apresenta o trato digestório morfologicamente desenvolvido, uma vez que a atividade enzimática presente é ainda rudimentar (CAHU et al, 1999; SKALLI et al., 2014).

Na aquicultura os hidrolisados podem ser utilizados principalmente como suplementos proteicos (CAHU et al., 1999; HEVRØY et al., 2005; ZHENG et al., 2014), atrativos e potencializadores de palatabilidade (BROGGI, 2014). Além disso, a inclusão de hidrolisado em rações para peixe permite melhorar a retenção de nitrogênio e aumentar a taxa de conversão relativamente aos peixes alimentados com rações que continham apenas farinha de peixe (KRISTINSSON, 2010; ZHENG et al., 2014; KHORSAVI et al., 2015).

Tabela 1. Trabalhos realizados que utilizaram hidrolisado proteico de pescado na alimentação de peixes

Espécie	Hidrolisado	Inclusão	Resultado	Referência
<i>Dicentrarchus labrax</i>	Comercial	RPC	Melhora o desenvolvimento inicial e digestório de larvas	Cahu et al., 1999
<i>Salmo salar</i>	<i>Clupea harengus</i>	18-24%	Maior desempenho zootécnico	Hevrøy et al., 2005
In vitro	<i>Thunnus albacares</i>	10 g/L	Crescimento de bactérias do gênero <i>Lactobacillus</i>	Safari et al., 2009
<i>Gadus morhua</i>	<i>Pollachius virens</i>	8%	Reduziu as deformidades.	Johannsdottir et al., 2013
<i>Paralichthys olivaceus</i>	<i>Theragra chalcogramma</i>	11%	Maior crescimento e melhor eficiência proteica	Zheng et al., 2013
<i>Platichthys stellatus</i>	Soja	70%	Sem efeito	Song et al., 2014
<i>Platichthys stellatus</i>	<i>Euphausia superba</i>	4,03%	Melhora desempenho zootécnico e resposta imune não-específica	Khorsavi et al., 2015
<i>Platichthys stellatus</i> e <i>Pagrus major</i>	<i>Euphausia superba</i>	2%	Melhoria do desempenho e estímulo da imunidade inata	Khorsavi et al., 2015
<i>Rachycentron canadum</i>	<i>Litopenaeus vannamei</i>	12%	Melhor desempenho zootécnico.	Costa-Bomfim et al., 2016
<i>Chirostoma estor</i>	Comercial	15%	Maior crescimento	Ospina et al., 2016

RPC= Recomendado pelo fabricante

Como pode ser observado na Tabela 1 os níveis de inclusão nas dietas variam bastante, até mesmo porque existem diferenças na matéria-prima utilizada e na espécie avaliada. Mas de maneira geral os resultados são positivos. A inclusão de apenas 2% de hidrolisado de krill (*Euphausia superba*) já resultou na melhoria do desempenho e da imunidade do Solha (*Platichthys stellatus*) e goraz (*Pagrus major*) (KHORSAVI et al., 2015). Outros autores também relataram melhora do desempenho zootécnico utilizando variados tipos e níveis de inclusão de hidrolisado proteico com diferentes espécies de peixes (CAHU et

al., 1999; HEVRØY et al., 2005; ZHENG et al., 2014; GOOSEN et al., 2014; KHORSAVI et al., 2015). Porém no estudo de Song et al, (2014) ao substituir até 70% da farinha de peixe por hidrolisado de soja na ração do solha estrelado, não observou nenhuma mudança no desempenho dos animais.

2.3 PROBIÓTICO

A intensificação do cultivo provoca o estresse, o que causa uma piora no desempenho dos animais (CARVALHO et al., 2011). Isso fez com que aumentassem as pesquisas com alimentos funcionais que promovam o aumento da eficiência alimentar e a taxa de crescimento dos peixes, além de não causar danos no meio ambiente (LARA-FLORES et al., 2003; PINTO et al., 2015; YAMASHITA et al., 2015; AZEVEDO et al., 2016). Uma alternativa é a utilização de probióticos, que tem como finalidade estabelecer determinada população bacteriana favorecendo o desempenho zootécnico e resistência dos animais frente a patógenos (CORNÉLIO, 2009). Segundo Mello et al. (2013) os probióticos são definidos como suplementos alimentares à base de micro-organismos vivos capazes de colonizar, estabelecer-se e multiplicar-se no intestino do hospedeiro e promover o equilíbrio da microbiota com benefícios para o hospedeiro.

Os mecanismos de ação dos probiótico ainda não estão totalmente esclarecidos, porém existem algumas possíveis causas descritas a seguir:

- a) *Exclusão competitiva*: os probiótico aderem-se na parede do sistema digestório, formando uma barreira física, competindo com os patógenos por espaço, nutrientes e energia (Gibson & Roberfroid, 1995)
- b) *Aumento da imunocompetência*: o exato mecanismo ainda não está elucidado, mas sabe-se que os probióticos possuem a capacidade de melhorar o sistema imune, podendo aumentar a atividade fagocítica dos leucócitos e ativação dos macrofagos (CROSS, 2002).
- c) *Produção de substâncias antibacterianas*: alguns micro-organismos produzem substâncias que diminuem ou interrompem o crescimento de bactérias patogênicas (FULLER, 1989).
- d) *Auxílio no processo de digestão e absorção de nutrientes*: certos microrganismos podem favorecer os processos digestivos por meio da produção de enzimas extracelulares (WANG et al., 2000).

Na Tabela 2 estão listados alguns trabalhos que utilizaram probióticos na alimentação de peixes. Alguns autores ao suplementarem diferentes espécies de peixes com microrganismos

probióticos variados, observaram melhora no desempenho zootécnico (LARA-FLORES et al., 2003; ABDEL-TAWWAB et al., 2008; WANG et al., 2008; CORNÉLIO, 2009; PINTO et al., 2015; YAMASHITA et al., 2015; AZEVEDO et al., 2016) e aumento das vilosidades intestinais (LIMA et al., 2014; MELLO et al., 2013). Porém outros autores não obtiveram o mesmo resultado e a suplementação não alterou o desempenho nem as vilosidades (CEROZI et al., 2012; FERREIRA et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2014; NOFFS et al., 2015; POLETTI, 2015). Estes resultados demonstram que o mesmo microrganismo pode ter efeitos benéficos para determinada espécie e ainda assim não ter resultado em outras espécies, mas como dito anteriormente, os mecanismos de ação destes microrganismos ainda não estão totalmente elucidados o que não nos permite compreender completamente o porquê desta disparidade.

Tabela 2. Trabalhos que utilizaram probiótico na alimentação de peixes (continua)

Espécie	Probiótico	Resultado	Referência
Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ; <i>Enterococcus faecium</i> ; <i>Saccharomyces cerevisiae</i> e <i>Lactobacillus plantarum</i> ; <i>Streptococcus faecium</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i>	Melhora no desempenho zootécnico	Lara-Flores et al., 2003; Abdel-Tawwab et al., 2008; Wang et al., 2008; Cornélio, 2009;
Cachara (<i>Pseudoplatystoma</i> a ssp); Robalo (<i>Centropomus undecimalis</i>); Pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>)	<i>Bacillus subtilis</i>	Sem efeito	Oliveira et al., 2014; Noffs et al., 2015; Cerozi et al., 2012
Tilápia do Nilo	<i>Bacillus cereus</i> e <i>Bacillus subtilis</i>	Aumento na altura, e largura das vilosidades intestinais	Mello et al., 2013
Lambari-do-rabo-amarelo (<i>Astyanax altiparanae</i>)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Aumento das vilosidades intestinais	Lima et al., 2014

Tabela 2. Trabalhos que utilizaram probiótico na alimentação de peixes (conclusão)

Espécie	Probiótico	Resultado	Referência
Jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>)	<i>Bacillus cereus</i>	Melhora no desempenho	Pinto et al., 2015
Jundiá	<i>Aeromonas Veronii</i>	Sem efeito	Poletto, 2015
Tilápia do Nilo	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Melhorou o desempenho, alterou a microbiota intestinal	Yamashita et al., 2015
Tambaqui	<i>Bacillus subtilis</i>	Aumentou o crescimento, melhorou a utilização do alimento	Azevedo et al., 2016

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Piscicultura do Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV) da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC). O projeto foi aprovado no Comitê de Ética e Experimentação Animal da universidade sobre o número de protocolo 6726010416. O delineamento experimental foi em blocos casualizados (classes de peso), com quatro tratamentos e cinco repetições.

3.1 ANIMAIS E INSTALAÇÃO

Foram utilizados 240 juvenis de jundiá, distribuídos em dois blocos de acordo com o peso. sendo um bloco com peixes menores(peso médio de $6,31\pm0,21$ g) e outro bloco com peixes maiores (peso médio $8,73\pm0,20$ g). Para o bloco dos pequenos foram duas repetições por tratamento e para o bloco dos grandes, três repetições de cada tratamento. Os peixes foram adquiridos de piscicultura comercial e previamente aclimatados as condições experimentais. Os peixes foram distribuídos em 20 caixas de polietileno com volume útil de 70 litros ligadas em sistema de recirculação de água equipado com filtro mecânico, biológico e sistema de aquecimento. Os animais foram considerados aclimatados quando começaram a se alimentar regularmente.

3.2 PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO HIDROLISADO DE RESÍDUO DE SARDINHA

O hidrolisado proteico de resíduos de sardinha foi produzido com carcaças limpas (desprovidas de cabeça, cauda e vísceras) de sardinhas (*Sardinella* sp.) (Tabela 3). Alíquotas com cerca de 300 g, totalizando 1,45 kg de amostra, foram homogeneizadas em liquidificador com 3 volumes de água e incubadas com a Protamex® Novozymes A/S (1:500 enzima:peixe) a 50°C durante 90 minutos, seguido de inativação da enzima a 80°C durante 15 minutos. O material resultante foi concentrado em estufa à 60° C, até redução da metade do volume original, pasteurizadas à 80° C por 15 minutos e congeladas à -20° C até o momento do uso.

As análises químicas foram efetuadas de acordo com os métodos da AOAC (1995). O teor de umidade será determinado em balança com infravermelho e o teor de lipídeos pelos métodos de Soxhlet. O grau de hidrólise (GH%) foi determinado por metodologia modificada

a partir de Nielsen et al. (2001). A análise consiste na quantificação da proporção de grupamentos amino-livres na fração solúvel do hidrolisado de proteína, pela reação destes grupamentos com o *o-phthaldialdehyde* (OPA), em relação à proteína total da matéria prima, determinada pelo método de Kjeldahl (AOAC,1995). Os resultados da composição dos hidrolisados está apresentada na Tabela 3.

Tabela 3- Composição bromatológica do hidrolisado de músculo de sardinha (*Sardinella* sp.).

	Umidade (%)	PB* (%)	EE* (%)	MM* (%)	GH (%)
Hidrolisado músculo	61,24	75,29	7,59	10,75	16,5

*Valores baseados na matéria seca; PB = Proteína bruta; EE = Extrato etéreo; MM = Matéria mineral; GH = Grau de hidrólise.

3.3 PROBIÓTICO

O probiótico utilizado foi o Lacto Sacc doado pela empresa Alltech, o mesmo é composto pela levedura *Saccharomyces cerevisiae* na concentração mínima de 2×10^8 UFC/g e pelas bactérias *Enterococcus faecium*, concentração mínima de 1×10^7 UFC/g e *Lactobacillus acidophilus*, concentração mínima de 1×10^7 UFC/g. A inclusão foi feita durante a mistura dos ingredientes secos da ração, na dosagem máxima recomendada pelo fabricante, 6 gramas por quilo de ração, também foi respeitada a temperatura de tolerância dos micro-organismos durante a secagem da ração.

3.4 DIETAS EXPERIMENTAIS

Foram avaliadas quatro dietas isoprotéicas (39% de proteína bruta) e isoenergéticas (cerca de 4450 kcal de energia bruta/ kg), sendo uma delas totalmente isenta de hidrolisado de sardinha e probiótico comercial, uma contendo 5% de hidrolisado, outra contendo apenas probiótico e a ração que continha 5% de hidrolisado juntamente com o probiótico (Tabela 4). Além do hidrolisado as dietas serão formuladas utilizando-se farinha de peixe e farelo de soja como fontes proteicas e o milho e o óleo de peixe e soja com fontes energéticas. Os ingredientes foram previamente analisados (AOAC, 1995) para garantir maior precisão durante a formulação. Depois de misturados, os ingredientes foram finamente triturados em moinho de faca com peneira de 2 mm de diâmetro de malha. As dietas foram peletizadas (5

mm), separadas em tamanho pela granulometria e armazenadas em freezer até o momento da utilização.

Tabela 4. Composição das dietas com diferentes combinações de hidrolisado e probiótico comercial.

Ingrediente (%)	Controle	Hidrolisado	Probiótico	Hid+Probió
Farelo de soja	25	25	25	25
Farelo de trigo	10	10	10	10
Milho	10,5	14,5	9,9	13,9
Farinha de peixe	46,5	39,5	46,5	39,5
Hidrolisado	-	5	-	5
Probiótico	-	-	0,6	0,6
Óleo de peixe	2	-	2	-
Óleo de soja	5	5	5	5
Premix ¹	1	1	1	1
Total	100	100	100	100
Composição calculada				
MS%	91,21	91,01	91,21	91,01
PB%	39,44	39,52	39,44	39,52
EB%	4316,05	4395,80	4316,05	4395,80
EE%	11,64	10,70	11,64	10,70
FB%	3,09	3,16	3,09	3,16
MM%	14,62	13,16	14,62	13,16

Hidrolisado= hidrolisado de músculo de sardinha; Hid+Probió= hidrolisado de músculo de sardinha mais probiótico comercial

¹ Ácido fólico – 2.400 mg, ácido nicotínico – 48 g, ácido pantotênico – 24 g, biotina – 96 mg, vit. A – 2.400.000 UI, vit. D3 – 400.000 UI, vit. E – 24.000 UI, vit. B1 – 9.600 mg, vit. B2 – 9.600 mg, vit. B6 – 9.600 mg, vit. B12 – 9.600 mg, vit. K3 – 4.800 mg, vit. C – 96 g, ferro – 100 g, manganês – 40 g, zinco – 6.000 mg, cobalto – 20 mg, iodo – 200 mg, selênio – 200 mg, antioxidante – 19,6 g.

3.5 ENSAIO DE DESEMPENHO

O experimento foi realizado em temperatura constante, mantida com aquecedores dotados de termostato. Os peixes eram alimentados até a saciedade aparente duas vezes por dia. Diariamente, eram retirados restos de alimentos e verificada a presença de animais mortos. A qualidade da água era monitorada periodicamente e as médias de temperatura ($28,5 \pm X, X^{\circ}\text{C}$), oxigênio dissolvido ($5,0 \pm X, X \text{ mg/l}$) e amônia total ($0,0 \pm 0,0 \text{ ppm}$) mantiveram-

se dentro dos parâmetros recomendados para o cultivo do jundiá (BALDISSEROTO E RADÜNZ, 2004).

Os peixes foram pesados no início do estudo, aos 28 e aos 56 dias. Os seguintes parâmetros de desempenho foram avaliados: peso final, ganho de peso (GP, g = peso médio final – peso médio inicial), consumo individual aparente de ração (CR= alimento consumido no período), conversão alimentar aparente (CA = consumo de ração/ ganho de peso total) e sobrevivência. Além das avaliações de desempenho também foram avaliadas a morfometria intestinal e índices organométricos.

3.6 MORFOMETRIA INTESTINAL

Para avaliação da morfologia intestinal foi colhida a porção média do duodeno de dois peixes por repetição. Os peixes eram anestesiados com eugenol (1 g de 10 l⁻¹ de água) e eutanasiados por seção medular e, posteriormente, submetidos a incisão longitudinal no ventre para a exposição dos órgãos. Porções de aproximadamente 3 cm de comprimento foram colhidas do intestino médio, e cada amostra foi fixada em solução de formalina tamponada 10% por 24 horas, desidratadas com uma série gradual de soluções de álcool, diafanizadas em xileno, embebidas em parafina e cortada em secções de 5 micrômetros, e em seguida foram coradas de acordo com a técnica de coloração de Harris-Eosina (HE) (BEHMER et al., 2003). As lâminas foram observadas com um microscópio óptico OptiCam (10x) e fotografadas usando uma câmera digital (Moticam 2300, 3 MP, resolução de 3264x2448). Altura total, largura e espessura das vilosidades foram medidas utilizando um analisador de imagem (software TouTek TouView - x64 versão 2270/07/03).

3.7 AVALIAÇÕES MICROBIOLÓGICAS

Para as avaliações da microbiota intestinal, ao final do ensaio foi amostrado o intestino completo de dois peixes por unidade experimental. Os tratos intestinais foram homogeneizados e diluídos serialmente (1:10), em solução salina estéril a 0,65% (SSE), e semeados nos meios de cultura ágar TCBS (tiosulfato, citrato, bile e sacarose), ágar MRS e ágar TSA, para a contagem de bactérias vibrionáceas, láticas e totais, respectivamente. Os intestinos semeados nas placas de Petri foram incubados em estufas a 30°C. Foram efetuadas as contagens totais de unidades formadoras de colônias (UFC), após 24 horas de incubação no

ágar TCBS e TSA. No meio MRS, as contagens foram efetuadas após 48 horas de incubação (SILVA et al., 2013).

3.8 ÍNDICES ORGANOMÉTRICOS

Ao final do experimento, dois peixes de cada caixa foram sacrificados para retirada imediata do fígado e vísceras. Os órgãos foram pesados para os seguintes cálculos de índice hepatossomático (IHS), índice gorduroviscerossomático (IGVS) e índice estomagossomático (IES).

3.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Todos dados foram submetidos a testes para a verificação da normalidade dos erros e homocedasticidade das variâncias. Os resultados foram analisados estatisticamente por meio de Análise de Variância Paramétrica (ANOVA) ao nível de 5% de significância.

4 RESULTADOS

Não houve efeito dos blocos em todos os parâmetros avaliados. Os resultados do desempenho zootécnico estão apresentados na Tabela 5 e como pode ser observado os valores médios para peso final, ganho de peso, consumo individual e conversão alimentar não apresentaram diferença significativa ($P>0,05$) entre os tratamentos avaliados.

Tabela 5. Desempenho (médias \pm desvio padrão) de juvenis de jundiá alimentados com dietas contendo diferentes combinações de hidrolisado e probiótico comercial

	Controle	Hidrolisado	Probiótico	Hid.+Probió	CV
Peso final (g)	27,66 \pm 4,12	23,61 \pm 4,39	24,08 \pm 7,72	23,87 \pm 3,21	20,24
Ganho de peso (g)	19,87 \pm 3,09	17,60 \pm 5,54	18,14 \pm 7,05	16,11 \pm 2,48	28,16
Consumo Individual (g)	25,03 \pm 2,59	23,28 \pm 3,81	24,47 \pm 6,20	22,08 \pm 1,88	12,69
Conversão alimentar	1,27 \pm 0,10	1,37 \pm 0,28	1,33 \pm 0,35	1,38 \pm 0,11	12,14

Hid.+Probió- hidrolisado e probiótico.

Nenhum dos índices organométricos foi afetado significativamente ($P>0,05$) pela utilização do hidrolisado ou pelo probiótico, assim como pela combinação dos mesmos (Tabela 6).

Tabela 6. Índices organométricos de juvenis de jundiá alimentados com dietas contendo diferentes combinações de hidrolisado e probiótico comercial

	Controle	Hidrolisado	Probiótico	Hid.+Probio	CV
IIS	1,67 \pm 0,15	1,59 \pm 0,07	1,66 \pm 0,20	1,54 \pm 1,47	9,75
IHS	1,39 \pm 0,32	1,32 \pm 0,34	1,55 \pm 0,27	1,28 \pm 0,35	23,29
IGVS	2,01 \pm 1,22	2,54 \pm 0,57	2,32 \pm 0,31	1,92 \pm 0,69	35,30
IES	1,09 \pm 0,21	1,24 \pm 0,21	1,23 \pm 0,16	1,25 \pm 0,18	16,16

Hid.+Probió- hidrolisado e probiótico.

IIS -índice intestinossomático; IHS-índice hepatossomático; IGVS- índice gorduraviscerosomático; IES- índice estomagossomático.

Os valores de altura total das vilosidades (ATV), altura das vilosidades (AV), largura das vilosidades (LV) e espessura das vilosidades (EV) foram semelhantes entre os tratamentos (Tabela 7) e não foi verificada diferença significativa ($P>0,05$) entre as médias

Tabela 7. Morfometria do intestino médio de juvenis de jundiá alimentados com dietas contendo diferentes combinações de hidrolisado e probiótico comercial

	Controle	Hidrolisado	Probiótico	Hid.+Probio	CV
ATV	919,29±139,67	901,78±144,72	803,13±91,81	871,99±157,54	15,75
AV	838,11±133,37	824,62±128,36	724,32±88,33	802,31±144,98	16,12
LV	150,41±16,16	150,43±16,68	145,39±19,23	149,03±33,71	14,84
EV	65,77±8,11	66,88±5,35	65,66±8,51	62,16±8,67	12,5

Hid.+Probió- hidrolisado e probiótico.

ATV: Altura Total das Vilosidades (μm); AV: Altura das Vilosidades (μm); LV: Largura das Vilosidades (μm); EV: Espessura das Vilosidades (μm)

Não houve crescimento de bactérias na avaliação microbiológica.

5 DISCUSSÃO

A inclusão de diferentes tipos de hidrolisados proteicos em dietas de peixes pode ser uma boa alternativa ao uso da farinha de peixe, como demonstrado por Song et al. (2014), onde a substituição de 70% da mesma pelo hidrolisado de soja na alimentação de solha estrelado (*Platichthys stellatus*) não prejudicou o crescimento e a conversão alimentar. Outros autores, inclusive, observaram melhora no desempenho. Para o robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*) a substituição de 19% da farinha de peixe por um hidrolisado comercial melhorou a sobrevivência de larvas de 10 dias (CAHU et al, 1999). A substituição de 24% da proteína da farinha peixe por hidrolisado de arenque (*Clupea harengus*) melhorou o desempenho do salmão do Atlântico (*Salmo salar*) (HEVRØY et al 2005). Da mesma forma, a substituição da farinha de peixe pelo hidrolisado de escamudo do alasca (*Theragra chalcogramma*) melhorou o desempenho de solha japonesa (*Paralichthys olivaceus*) (ZHENG et al., 2014) e larvas de corvina amarela (*Larimichthys crocea*) (CAI et al., 2015). No presente estudo, a inclusão de 5% do hidrolisado proteico de sardinha, resultou na substituição de 15% da proteína fornecida pela farinha de peixe na dieta. Essa substituição não prejudicou o crescimento nem a conversão alimentar, o que demonstra o potencial de utilização deste ingrediente como substituto da farinha de peixe.

A substituição da farinha de peixe é positiva, porém com inclusão do hidrolisado proteico de sardinha era esperada melhora no desempenho dos jundiás, uma vez que em estudo ainda inédito deste laboratório a inclusão do mesmo nível de hidrolisado (5%) melhorou o ganho de peso, taxa de crescimento, consumo e diminuiu conversão alimentar de juvenis de jundiá. Uma possível explicação para esta diferença é que no referido estudo o grau de hidrólise do hidrolisado de músculo de sardinha era 47,5%, mais elevado que o do utilizado no presente estudo (16,5%). O grau de hidrólise indica a quantidade de ligações peptídicas clivadas (PAIVA et al, 2015), ou seja um maior grau de hidrólise maior implica numa maior proporção de peptídeos de baixo peso molecular, que são aqueles que agem como promotores de crescimento (MARTÍNEZ-ALVAREZ et al., 2015). Estes resultados sugerem que hidrolisados proteicos que possuam níveis mais baixos de grau de hidrólise, necessitariam de níveis de inclusão maiores para expressar seu potencial como promotor de crescimento. Na literatura, há poucos trabalhos que relacionem o grau de hidrólise com seu nível de inclusão, Wosniak et al., (2016) observaram que no tratamento com maior grau de hidrolise de hidrolisado de sardinha, o jundiá apresentou maior ganho de peso, consumo e menor

conversão alimentar, o que confirma a necessidade de mais estudos abordando esses dois aspectos.

No presente estudo a utilização do probiótico comercial não afetou o desempenho e a morfometria intestinal de juvenis de jundiá. O probiótico utilizado consistia numa combinação de *Saccharomyces cerevisiae*, *Enterococcus faecium* e *Lactobacillus acidophilus*. Estes microrganismos já foram utilizados com eficiência para outras espécies. A *Saccharomyces cerevisiae* melhorou o desempenho da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (LARA-FLORES et al., 2003; ABDEL-TAWWAB et al., 2008; CORNÉLIO et al., 2009). Também para a tilápia o *Enterococcus faecium* mostrou resultados positivos (WANG et al., 2008), mas mesmo havendo resultados positivos para a tilápia, os microrganismos utilizados não teriam necessariamente efeito sobre o jundiá. A literatura mostra que determinadas bactérias podem ter efeitos positivos no desenvolvimento algumas espécies e não influenciar em outras. A *Bacillus subtilis* melhorou o desempenho zootécnico do tambaqui (*Colossoma macropomum*) (AZEVEDO et al., 2016) e a morfometria intestinal da tilápia do Nilo (MELLO et al., 2013), mas não teve o mesmo não teve efeito sobre o desempenho do pacu (CEROZI, 2012), cachara (OLIVEIRA, 2014) e do robalo (NOFFS et al., 2015).

A utilização de uma combinação de microrganismos foi a abordagem utilizada neste trabalho para desenvolver um probiótico para o jundiá. Existe a demanda pela identificação e avaliação de microrganismos probióticos para o jundiá, mas poucas informações estão disponíveis, e os resultados não são muito consistentes, Poletto (2015) ao isolar *Aeromonas veronii* presente no intestino de jundiás e usá-lo como probiótico, não observou alterações histológicas intestinais e o desempenho foi melhor em peixes alimentados com ração sem probiótico. Pinto et al (2015) ao incluir *Bacillus cereus* em dieta de jundiás observou melhora no desempenho.

Uma possibilidade para que não tenha sido observada a ação probiótica no presente estudo, é o fato de que os animais foram mantidos durante o experimento em condições ideais de criação, como boa qualidade de água, pouco estresse e recebendo uma alimentação adequada. Segundo Meurer et al (2007) as boas condições sanitárias diminuem a possibilidade de o contato desses animais com microrganismos patogênicos e dessa forma, dificilmente o desempenho dos animais seriam influenciados significativamente pela ingestão de probiótico.

A utilização de carboidratos prebióticos já é uma estratégia difundida na nutrição de peixes. Entretanto, a avaliação de peptídeos prebióticos é ainda inédita. Os peptídeos bioativos presentes no hidrolisado proteico de sardinha poderiam potencializar a ação do probiótico comercial, uma vez que são mais facilmente absorvidas como fonte de

aminoácidos para o metabolismo das bactérias benéficas (ARIHARA et al, 2006). Este dado foi comprovado por Safari et al (2009), que ao realizar um teste in vitro utilizando hidrolisado de atum-albacora (*Thunnus albacares*), obteve um maior crescimento de bactérias do gênero *Lactobacillus*. No presente estudo o hidrolisado não potencializou a ação do probiótico, possivelmente devido a alguns fatores já discutidos, como o grau de hidrólise e o nível de inclusão do hidrolisado. Ainda são necessários mais estudos deste tipo para elucidar melhor a questão.

6 CONCLUSÃO

O uso de hidrolisado proteico de sardinha mostrou-se eficiente para substituir 15% da proteína da farinha de peixe na alimentação dos juvenis de jundiá.

A suplementação de probiótico composto por *S. cerevisiae*, *E. faecium* e *L. acidophilus* não promoveu melhora no desempenho zootécnico de juvenis de jundiá nas condições experimentais.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-TAWWAB, M., ABDEL-RAHMAN, A. M., & ISMAEL, N. E. Evaluation of commercial live bakers' yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for Fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged in situ with *Aeromonas hydrophila*. **Aquaculture**, v.280(n.1), 185-189. 2008.
- AMARAL JÚNIOR, H.; GARCIA, S; WARMLING, P.F.; SILVA, B.C.; MARCHIORI, N.C. **Assim cultivamos o jundiá *Rhamdia quelen* no estado de Santa Catarina**. Camboriú EPAGRI/CNPQ/MPA/FAPESC 2015.
- ARIHARA, K. Strategies for designing novel functional meat products. **Meat science**, v. 74, n. 1, p. 219-229, 2006.
- ARIHARA, K., ISHIKAWA, S., & ITOH, M. Bifidobacterium growth promoting peptides derived from meat proteins. **Japan patent**, n. 2006-8738, 2006.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). Association Official Methods of Analysis. 16. ed. Arlington: **AOAC**, 1995.
- AZEVEDO, R. V., FOSSE FILHO, J. C., PEREIRA, S. L., CARDOSO, L. D., JÚNIOR, M. V. V.; ANDRADE, D. R. Suplementação com prebiótico, probiótico e simbiótico para juvenis de tambaqui a duas densidades de estocagem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 1, p. 9-16, 2016.
- BATISTA, I. PIRES, C., TEIXEIRA, B., NUNES, M.L. Hidrolisados proteicos com atividade biológica: uma alternativa para a valorização de subprodutos de pescado. **Boletim Biotecnologia**, v. 2, n. 5, p. 14-15, 2014.
- BEHMER, O.H., E.M.C. TOLOSA; A.G. FREITAS NETO. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. Barueri-SP, Manole, 256 pp. 2003.
- BROGGI, José Augusto et al. **Hidrolisado proteico de sardinha (Clupeidae) como atrativo alimentar para o jundiá (*Rhamdia quelen*)**. 2014. Dissertação de Mestrado. Universidade do Estado de Santa Catarina.
- CAHU, C. L. INFANTE, J.L.Z., QUAZUGUEL, P.; GALL, M.M. Protein hydrolysate vs. fish meal in compound diets for 10-day old sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae. **Aquaculture**, v. 171, n. 1, p. 109-119, 1999.
- CAI, Z., LI, W., MAI, K., XU, W., ZHANG, Y., & AI, Q. Effects of dietary size-fractionated fish hydrolysates on growth, activities of digestive enzymes and aminotransferases and expression of some protein metabolism related genes in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) larvae. **Aquaculture**, 440, 40-47. 2015

CARVALHO, J. V. D., LIRA, A. D. D., COSTA, D. S. P., MOREIRA, E. L. T., PINTO, L. F. B., ABREU, R. D., & ALBINATI, R. C. B. Desempenho zootécnico e morfometria intestinal de alevinos de tilápia-do-Nilo alimentados com " *Bacillus subtilis* " ou mananoligossacarídeo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 12, n. 1, 2011.

CAVALCANTE, R.B. **UTILIZAÇÃO DE IMUNOESTIMULANTES EM TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*)**. 2015. Tese de Doutorado. INSTITUTO DE PESCA.

CEROZI, B.S. **Prebióticos e probióticos dietéticos, desempenho e higidez de juvenis de pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887)**. 2012. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz.

CHALAMAIAH, M., R. HEMALATHA, AND T. JYOTHIRMAYI. "Fish protein hydrolysates: proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: a review. **Food Chemistry** 135.4 : 3020-3038. 2012

CORNÉLIO, F. H. G. **Avaliação da suplementação de dois probióticos no desempenho zootécnico, digestibilidade de nutrientes e resistência à infecção por patógeno em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2009. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina.

COSTA-BOMFIM, C. N., SILVA, V. A., BEZERRA, R. D. S., DRUZIAN, J. I., & CAVALLI, R. O. Growth, feed efficiency and body composition of juvenile cobia (*Rachycentron canadum* Linnaeus, 1766) fed increasing dietary levels of shrimp protein hydrolysate. **Aquaculture Research**, 2016.

CROSS, M.L. Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic lactobacilli and their role in protection against microbial pathogens. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v.34, n.4, p.245-253, 2002.

DELCROIX, J., GATESOUPE, F. J., DESBRUYÈRES, E., HUELVAN, C., LE DELLIOU, H., LE GALL, M. M., ... & ZAMBONINO-INFANTE, J. L. The effects of dietary marine protein hydrolysates on the development of sea bass larvae, *Dicentrarchus labrax*, and associated microbiota. **Aquaculture Nutrition**, v. 21, n 1, 98-104. 2015

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Rome. 223 p. 2014.

FERREIRA, C. M., ANTONIASSI, N. A., SILVA, F. G., POVH, J. A., POTENÇA, A., MORAES, T. C., ... & ABREU, J. S.. Características histomorfométricas do intestino de juvenis de tambaqui após uso de probiótico na dieta e durante transporte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.34, n 12, 1258-1264. 2014.

FRIES, E. M., LUCHESI, J. D., COSTA, J. M., RESSEL, C., SIGNOR, A. A., BOSCOLO, W. R.; FEIDEN, A. Hidrolisados cárneos proteicos em rações para alevinos de kinguio (*Carassius auratus*). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 37, n. 4, p. 401-407, 2011.

FULLER, R. History and development of probiotics. In: Fuller, R. (Ed), **Probiotics: the Scientific Basis**. Champam and Hall, London, p.1-8,1992.

GIBSON, G.R.; ROBERFROID, M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, v.125, p.1401-1412, 1995.

GRAEFF, A.; MONDARDO, M. Influência do probiótico no crescimento das carpas comum (*Cyprinus carpio*) na fase de recria. **Revista Electrónica de Veterinaria**, v. 7, n. 11, p. 1-8, 2006.

GOOSEN, N. J., DE WET, L. F.; GÖRGENS, J. F. The effects of protein hydrolysates on the immunity and growth of the abalone *Haliotis midae*. **Aquaculture**, v. 428, p. 243-248, 2014.

HARNEDY, P. A.; FITZGERALD, R. J. Bioactive peptides from marine processing waste and shellfish: A review. **Journal of Functional Foods**, v. 4, n. 1, p. 6-24, 2012.

HEVRØY, E. M., ESPE, M., WAAGBØ, R., SANDNES, K., RUUD, M., & HEMRE, G. I. Nutrient utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) fed increased levels of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. **Aquaculture Nutrition**, v.11, n 4, 301-313. 2005

JOHANNSDOTTIR, J., HEIMSDOTTIR, H. L., HAKONARDOTTIR, K., HROLFSDOTTIR, L., STEINARSSON, A., IMSLAND, A. K., ... & BJORNSDOTTIR, R. Improved performance of Atlantic cod (*Gadus morhua L.*) larvae following enhancement of live feed using a fish protein hydrolysate. **Aquaculture Nutrition**, v. 20, n. 3, p. 314-323, 2014.

KIM, S.; WIJESEKARA, I. Development and biological activities of marine-derived bioactive peptides: A review. **Journal of Functional Foods**, v. 2, n. 1, p. 1-9, 2010.

KITTS, D. D.; WEILER, K.. Bioactive proteins and peptides from food sources. Applications of bioprocesses used in isolation and recovery. **Current pharmaceutical design**, v. 9, n. 16, p. 1309-1323, 2003.

KRISTINSSON, H. G.; RASCO, B. A. Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 40, n. 1, p. 43-81, 2000.

KHOSRAVI, S., BUI, H. T. D., RAHIMNEJAD, S., HERAULT, M., FOURNIER, V., JEONG, J. B.; LEE, K. J. Effect of dietary hydrolysate supplementation on growth performance, non-specific immune response and disease resistance of olive flounder

(*Paralichthys olivaceus*) challenged with *Edwardsiella tarda*. **Aquaculture Nutrition**, v. 21, n. 3, p. 321-331, 2015.

KHOSRAVI, S., BUI, H. T. D., RAHIMNEJAD, S., HERAULT, M., FOURNIER, V., KIM, S. S.; LEE, K. J. Dietary supplementation of marine protein hydrolysates in fish-meal based diets for red sea bream (*Pagrus major*) and olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). **Aquaculture**, v. 435, p. 371-376, 2015.

LARA-FLORES, M., OLVERA-NOVOA, M. A., GUZMÁN-MÉNDEZ, B. E., & LÓPEZ-MADRID, W.. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v.216, n 1, 193-201. 2003

LIMA, F. W. et al. Colonização e morfometria intestinal de lambaris-do-rabo-amarelo *Astyanax altiparanae* alimentados com dietas contendo levedura *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico. 2014.

MARTÍNEZ-ALVAREZ, O., CHAMORRO, S., & BRENES, A. Protein hydrolysates from animal processing by-products as a source of bioactive molecules with interest in animal feeding: A review. **Food Research International**, v.73, 204-212. 2015.

MELLO, H.; MORAES, J., NIZA, I. G., MORAES, F. R. D., OZÓRIO, R., SHIMADA, M. T., ... & CLAUDIO, G. Efeitos benéficos de probióticos no intestino de juvenis de Tilápia-do-Nilo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.33, 724-730, 2013.

MEURER, F., HAYASHI, C., COSTA M. M. DA, FRECCIA, A., MAUERWERK M. T. *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico para alevinos de tilápia-do-nilo submetidos a desafio sanitário. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.5, p.1219-1224. 2007.

NIELSEN, P.M.; PETERSEN, D.; DAMBMANN, C. Improved Method for Determining Food Protein Degree of Hydrolysis. **Journal of Food Science**, v. 66, n.5, 642-646, 2001.

NOFFS, A. P., TACHIBANA, L., SANTOS, A. A., & RANZANI-PAIVA, M. J. T.. Common snook fed in alternate and continuous regimens with diet supplemented with *Bacillus subtilis* probiotic. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, n. 4, p. 267-272, 2015.

OLIVEIRA, N.S.; NUNES, C.S. CRESCIMENTO E HEMATOLOGIA DE SURUBINS HÍBRIDOS *Pseudoplatystoma* ssp. SUPLEMENTADOS COM PROBIÓTICO COMERCIAL CONTENDO *Bacillus subtilis*. **ANAIIS DO ENIC**, n. 6, 2014.

OSPINA-SALAZAR, G. H., RÍOS-DURÁN, M. G., TOLEDO-CUEVAS, E. M., & MARTÍNEZ-PALACIOS, C. A. The effects of fish hydrolysate and soy protein isolate on the growth performance, body composition and digestibility of juvenile pike silverside, *Chiostoma estor*. **Animal Feed Science and Technology**, 220, 168-179. 2016.

PAIVA, F. D. C ; de Jesus, R. S., ALECRIM, M., KIRSCH, L. D. S.,, & TEIXEIRA, M. F. S. Produção de hidrolisado proteico de pirarucu utilizando-se protease de *Aspergillus flavo-furcatis* e pancreatina. **Pesquisa Agropecuária** v. 45, n 1. p. 89-96. 2015.

PINTO, V. B., COSTENARO-FERREIRA, C., OLIVEIRA, P. L. S., OLIVEIRA, R. R. B. D., PIEDRAS, S. R. N., & POUEY, J. L. O. F. Performance of jundiá larvae, *Rhamdia quelen*, fed on probiotic supplemented diets. **Acta Scientiarum. Animal Sciences** , v.37, n 3, 215-220. 2015.

POLETTO, T.V. **Aeromonas veronii** Como candidata a probiótico para o jundiá (*Rhamdia quelen*): efeitos no desempenho e digestibilidade. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina. 2015

RADÜNZ NETO, J.; BALDISSEROTO, B.; RADÜNZ NETO, J. Manejo alimentar-nutrição. BALDISSEROTTO, B.; RADÜNZ NETO, J. **Criação de jundiá**. Santa Maria: UFSM, p. 143-160, 2004.

SAFARI, R., MOTAMEDZADEGAN, A., OVISSIPOUR, M., REGENSTEIN, J. M., GILDBERG, A., & RASCO, B. REZA et al. Use of hydrolysates from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) heads as a complex nitrogen source for lactic acid bacteria. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, n. 1, p. 73-79, 2012.

SILVA, B. C.; NASCIMENTO VIEIRA, F.; MOURIÑO, J. L. P., FERREIRA, G. S.; SEIFFERT, W. Q. Salts of organic acids selection by multiple characteristics for marine shrimp nutrition. **Aquaculture**, v. 384, p. 104-110, 2013.

SONG, Z.; LI, H.; WANG, J; LI, P.; SUN, Y., ZHANG, L. "Effects of fishmeal replacement with soy protein hydrolysates on growth performance, blood biochemistry, gastrointestinal digestion and muscle composition of juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*)." **Aquaculture**, v. 426. p. 96-104. 2014.

SKALLI, A., ZAMBONINO-INFANTE, J. L., KOTZAMANIS, Y., FABREGAT, R.; GISBERT, E. Peptide molecular weight distribution of soluble protein fraction affects growth performance and quality in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. **Aquaculture Nutrition**, v. 20, n. 2. p. 118-131, 2014.

WANG, Y. B., TIAN, Z. Q., YAO, J. T., & LI, W. F. Effect of probiotics, *Enterococcus faecium*, on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response. **Aquaculture**, v.277, n 3, 203-207. 2008.

WOSNIAK, B., E.W.H. MELIM, N. HÁ, J. UCZAY, C. PILATTI, M.L. PESSATTI; T.E.H.P. FABREGAT.. Effect of diets containing different types of sardine waste (*Sardinella* sp.) protein hydrolysate on the performance and intestinal morphometry of silver catfish

juveniles (*Rhamdia quelen*). **Latin American Journal of Aquatic Research.**, v. 44, n 5: 957-966. 2016

YAMASHITA, M. M. Suplementação dietária com probiótico em tilápia do Nilo como prevenção à estreptococose. 2015. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina.

ZHENG, K., XU, T., QIAN, C., LIANG, M., & WANG, X. Effect of low molecular weight fish protein hydrolysate on growth performance and IGF-I expression in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) fed high plant protein diets. **Aquaculture Nutrition**, v.20, n 4, 372-380. 2014