UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

TEORES DE UMIDADE DA DIETA PARA LARVAS DE SURUBIM ALTERAM AS FUNÇÕES DIGESTIVAS E O APROVEITAMENTO DO ALIMENTO

LARISSA SELINI DORCE

DOURADOS MATO GROSSO DO SUL 2019

TEORES DE UMIDADE DA DIETA PARA LARVAS DE SURUBIM ALTERAM AS FUNÇÕES DIGESTIVAS E O APROVEITAMENTO DO ALIMENTO

LARISSA SELINI DORCE

Orientadora: PROF. Dr. Claucia Aparecida Honorato da Silva

Co-orientador: Dr Rudã Fernandes Brandão Santos

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências para conclusão do curso de Engenharia de Aquicultura.

DOURADOS MATO GROSSO DO SUL 2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

D693t Dorce, Larissa Selini

TEORES DE UMIDADE DA DIETA PARA LARVAS DE SURUBIM ALTERAM AS FUNÇÕES DIGESTIVAS E O APROVEITAMENTO DO ALIMENTO [recurso eletrônico] / Larissa Selini Dorce. -- 2019.

Arquivo em formato pdf.

Orientadora: Claucia Aparecida Honorato da Silva.

Coorientadora: Rudă Fernandes Brandão Santos .

TCC (Graduação em Engenharia de Aquicultura)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2019.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em: https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio

 Aproveitamento alimentar. 2. Digestibilidade. 3. Larvicultura. I. Silva, Claucia Aparecida Honorato Da. II. Santos, Rudă Fernandes Brandão. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

CDireitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

TEORES DE UMIDADE DA DIETA PARA LARVAS DE SURUBIM ALTERAM AS FUNÇÕES DIGESTIVAS E O APROVEITAMENTO DO ALIMENTO

Por

Larissa Selini Dorce

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de ENGENHEIRO DE AQUICULTURA

Aprovado em 28 de Novembro de 2019.

Profa. Dra. Clavcia Aparecida Honorato da Silva Orientador – UFGD/FCA

> MSc. Rebeca Maria Sousa Membro da Banca

Prof Dr. Dacley Hertes Neu Membro da Banca – UFGD/FCA

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por te me direcionado ate aqui, permitindo que eu sempre me mantivesse de pé em frente as adversidade que cruzou meu caminho. Agradeço pela saúde, fé e persistência a mim concebida. Agradeço por tudo meu pai!

Á Universidade Federal da Grande Dourados por me dar todo o suporte necessário para minha formação acadêmica, pela estrutura e os profissionais desta unidade, que sempre me atenderam da melhor forma quando foi preciso.

Aos meus pais Aparecido Dorce e Leila Cristiani Selini Dorce, pelo carinho e confiança depositada em mim.

Á minha querida irmã Lethicia Camila Dorce por sempre estar ao meu lado com todo seu amor, carinho, cuidado, dedicação, amizade e orientações, e sempre estando junto a mim nos momentos de fraqueza, obrigada por todo o suporte, me espelho sempre em você, obrigada por nunca desistir de mim meu anjo.

Ao meu irmão Matheus Vinícius Dorce, por ter me acolhido em sua casa nos meus primeiros meses de faculdade e apoio dados ao longo da minha graduação.

Ao meu grande companheiro, amigo, confidente, namorado José Alves Favela Junior pelo amor e companheirismo, obrigada por ouvir todas minhas queixas sem reclamar, por enxugar minhas lagrimas e me acolher em seus abraços quando foi preciso, pelas noites de sono perdido que você passou ao meu lado me ajudando em inúmeros trabalhos.

A Prof. Dr. Zefa Valdivina Pereira, por todo amparo e amizade durante estes cinco anos de graduação.

Á minha grande amiga orientadora Prof. Dr. Claucia Aparecida Honorato da Silva, pela oportunidade, pelo carinho, orientações e os vários cafés, obrigada por me receber ate tarde da noite em sua casa, com esse sorriso maravilhoso em seu rosto, meu eterno agradecimento.

Á um grande amigo Valmir Morais, pelos inúmeros conselhos, amizade e motivação passada a mim, obrigada por tudo.

Ao casal senhor José e senhora Lucirley, por todo carinho, ajuda, e inúmeros conselhos que foram de grande importância neste período, e por sempre me tratarem como uma filha.

Aos meus professores, por todo conhecimento transmitido da melhor forma, para que eu me pudesse adquirir todo o meu conhecimento e sabedoria, estes que são de suma

importância para minha formação tanto acadêmica quanto profissional, além da amizade durante esse período.

Aos meus colegas de curso Yasmim Casadias, Jessica Silva, Jean Melo, Patricia Gauer, Nathalia Azola, Michael Blanck, Tuanny Trindade, Gabriella Bom, Wesley Barbieri, Arypes Marcondes e aos demais colegas aqui não citados pela amizade e companheirismo durante a graduação.

Á todos os amigos que ganhei, obrigada pelas risadas compartilhada, afeto e amizade que levarei comigo sempre.

Á todas as pessoas que contribuíram de alguma forma para facilitar esta graduação meu sincero muito obrigada.

Á mim mesma Larissa Dorce, por acreditar que sou capaz, por não ter fraquejado e desistido do meu sonho, e por nunca te se esquecido de onde vim e de onde quero chegar.

SUMÁRIO

		Página
	RESUMO	1
	ABSTRACT	2
1.	INTRODUÇÃO	3
2.	REVISÃO DE LITERATURA	5
	2.1. Aquicultura e a produção de surubim	5
	2.2. Fisiologia digestiva do surubim	6
	2.3. Treinamento alimentar na fase de co-feeding na larvicultura de surubim	7
	2.4. Atividade enzimática	8
3.	MATERIAL E MÉTODOS	10
	3.1. Dietas experimentais	10
	3.2 Alimentação das larvas de surubim	11
	3.3 Manejo experimental	12
	3.4. Atividade enzimática	13
	3.5. Avaliação histológica	14
	3.6. Análise estatística	15
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
	4.1. Discussão	20
5.	CONCLUSÃO	23
6	PEERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24

DORCE, Larissa Selini. **Teores de umidade da dieta para larvas de surubim alteram as funções digestivas e o aproveitamento do alimento**. 2019.35p. Monografia (Graduação em Engenharia de Aquicultura) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados – MS.

RESUMO

Este trabalho teve por o objetivo avaliar os efeitos do percentual de umidade das dietas, no desenvolvimento, nas enzimas digestivas e no metabolismo hepático em larvas de surubim na fase de co-feeding. Sabendo que o sucesso da larvicultura para as espécies de peixes neotropicais, principalmente larvas altriciais, depende de presas vivas durante a alimentação exógena inicial. A alimentação viva na primeira etapa da vida é de essencial importância para o desenvolvimento e saúde dos peixes. Porém o uso de alimento vivo na larvicultura pode elevar os custos da produção em até 79%, o que se faz indispensável à busca por alternativas de alimento para fase de co-feeding. Dentre as alternativas que se busca está a elaboração de dietas completas para fase inicial de desenvolvimento de peixes neotropicais. Foi utilizado um protocolo alimentar de 4 dietas com repetições com diferentes teores de umidade para larvas de surubim, D47%, D35%, D24% e D8%, durante 21 dias de alimentação sendo os 5 primeiros dias a larvas receberam alimentação exclusiva de náuplios de artêmia. As dietas com teores intermediários de umidade 35 e/ou 24% mostrou-se a mais favorável para serem utilizadas na fase de co-feeding na larvicultura de surubim devido à observação do maior aproveitamento do alimento frente ao teor de umidade.

Palavras-chave: Aproveitamento alimentar; Digestibilidade; Larvicultura.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effects of dietary moisture content on development, digestive enzymes and liver metabolism in co-feeding surubim larvae. Knowing that the success of larviculture for neotropical fish species, especially altricial larvae, depends on live prey during initial exogenous feeding. Live nutrition in the first stage of life is of critical importance for the development and health of fish. However, the use of live food in larviculture can increase production costs by up to 79%, which is indispensable for the search for co-feeding food alternatives. Among the alternatives that are sought is the elaboration of complete diets for the early phase of neotropical fish development. A dietary protocol of 4 diets with repetition with different moisture contents for surubim larvae, D47%, D35%, D24% and D8%, was used during 21 days of feeding. brine shrimp. Diets with intermediate levels of moisture 35 and / or 24% were the most favorable to be used in the co-feeding phase in surubim larviculture due to the observation of the highest utilization of food in relation to moisture content.

Keywords: Food utilization; Digestibility; Larviculture.

1. INTRODUÇÃO

O sucesso da larvicultura para as espécies de peixes neotropicais, principalmente larvas altriciais, depende de presas vivas durante a alimentação exógena inicial (JOMORI et al., 2003). A alimentação viva na primeira etapa da vida é de essencial importância para o desenvolvimento e saúde dos peixes (ALVARADO, 2003). Dentre os peixes de destaque no Brasil está o Surubim (*Pseudoplatystoma* sp), isso se deve, por fatores como sua aceitabilidade no mercado consumidor, devido sua carne apresentar poucos espinhos intramusculares e sabor delicado. (HONORATO et al., 2014). O Brasil produziu cerca de 2126,7 toneladas de Surubins, o que elevou o acréscimo da produção em 84,53%, como mostrado nos dados da Secretaria de Aquicultura e Pesca em 2009. No entanto, as taxas de sobrevivência durante o estágio de larvicultura são baixas, isso deve-se por ainda não ser atendido as exigências nutricionais para esta fase (ALVARADO 2003).

Na fase de larvicultura do Surubim, é indispensável o uso de alimento vivo, sendo os náuplios de artêmia um dos mais utilizados, o que proporciona altas taxas de crescimento e sobrevivência nas primeiras fases de vida (JOMORI et al., 2003 e 2008). A utilização de artêmia representa 79% dos custos operacionais na fase de larvicultura de Surubim (RØNNESTAD et al.,2013). No ponto de vista nutricional a artemia é um alimento que atende a exigência em uma fase limitada do cultivo (JOMORI et al., 2012). Portanto, faz-se indispensável à busca por alternativas de alimento para fase de co-feeding. Dentre as alternativas que se busca está a elaboração de dietas completas para fase inicial de desenvolvimento de peixes neotropicais (CORREA, 2003).

O processamento tecnológico, pode ser uma ferramenta para implementar a utilização de novas dietas para peixes (HONORATO et al., 2010) e ajudar a contribuir para a diminuição dos gargalos apresentados. Yúfera et al. (1996 e 1999) apontaram que para dietas apresentarem a capacidade de substituir a primeira alimentação de larvas de peixes deve possuir as mesmas características fisiológica e estruturais do alimento vivo.

Dietas micropartículadas, com tamanho e qualidade nutricional adequada tem sido testadas para larvas de peixes neotropicais (RØNNESTAD et al., 2013), no entanto, ainda não se demostra capacidade de substituição total da artêmia por dietas inertes larvas de *Sparus aurata L* (YÚFERA et al., 1993). Estes resultados desfavoráveis se devem principalmente atratividade a textura (KUBTIZA (1995). Segundo Kolkovski (2001) a dificuldade da larva de digerir as dietas está relacionada a quantidade de matéria seca de 60 a 90% presente na dieta.

Associado aos esforços em relação o processamento tecnológico utilizado nas dietas, o uso de ferramentas emergentes com o propósito de substituir o alimento vivo é interessante, pois, possibilita a complementação do entendimento das funções do organismo dos peixes e seu reflexo no desempenho produtivo (KOLKOVSKI,2001).

Deste modo, o estudo tem como objetivo de avaliar os efeitos do percentual de umidade das dietas, no desenvolvimento, nas enzimas digestivas e no metabolismo hepático em larvas de surubim na fase de *co-feeding*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aquicultura e a produção de surubim

O consumo mundial de pescado teve um crescimento significativo nas últimas décadas, principalmente em função do aumento populacional além da demanda dos consumidores por alimentos mais saudáveis. Com essa demanda no consumo de pescados em geral, resultou que em 2016 a produção global de peixes atingiu o pico em cerca de 171 milhões de tonelada, com a aquicultura representando 47% do total (FAO, 2018).

Dentre os países com maior potencial para a produção aquícola, o Brasil tem papel de destaque, devido o clima favorável, sua disponibilidade hídrica, e ocorrência natural de espécies aquáticas que compatibilizam interesse zootécnico e mercadológico (HONORATO et al.,2014).

Com ênfase na produção do Brasil de 722.560 toneladas de peixes de cultivo produzidos no país, obtendo um crescimento de 4,5% em relação ao ano anterior, com destaque aos 39,84% da produção total, são de peixes nativos (PEIXE BR, 2019). Deste total da produção brasileira, 25.850 toneladas foram produzidas pelo Mato Grosso do Sul, com 5.300 toneladas de peixes nativos produzidos, levando o estado ao décimo lugar entre os maiores produtores de peixe do país, (PEIXE BR, 2019).

Para a produção de espécies nativas, a aquicultura brasileira utiliza de vasta diversidade, tendo mais de 30 espécies que são utilizadas comercialmente em todo território nacional com potencial de cultivo, isso se da devido a biodiversidade das distintas bacias hidrográficas (RIBEIRO et al., 2017).

Em relação às espécies nativas, as carnívoras como o surubim (*Pseudoplatystoma sp*), da família Pimelodidae, é encontrado com frequências na Bacias Amazônica, do Prata e do São Francisco (ALMEIDA FILHO, 2012 FRANÇA et al.,2019), normalmente alcançam maiores valores de mercado (CREPALDI et al., 2006a e TURRA et al.,2009). Apesar dessa reconhecida aceitação no mercado, suas tecnologias de produção ainda têm vários aspectos a serem aprimorados (TURRA et al., 2009). Uma vez que, é de suma importância estudos que visem aperfeiçoar a viabilidade econômica do seu sistema de produção. No entanto, estudos já realizados apontam o alto potencial comercial desta espécie (SOUSA et al., 2006) como as características e os rendimentos de carcaça (CREPALDI et al., 2008), bom ganho de peso e a conversão alimentar (KUBITZA et al., 1998).

O maior gargalo está na falta de dados concretos sobre as exigências nutricionais nas diferentes fases de crescimento que resulta em altos índices de mortalidade, baixa eficiência alimentar e desempenho. Por isso, estudos sobre nutrição de peixes em condições de cultivo economicamente viáveis vêm ganhando importância, na tentativa de reduzir o impacto ambiental e aumentar a produção (HALVER & HÁRDY, 2002).

2.2. Fisiologia digestiva do surubim

O gênero *Pseudoplatystoma* compreende as espécies de peixes conhecidas por surubins, que são os maiores peixes da família Pimelodidae (STECH, 2009, FRANÇA et al.,2019). Apresentam a cabeça achatada, o corpo alongado e roliço, três pares de barbilhões próximos à boca, com os primeiros raios das nadadeiras peitoral e dorsal, que constituem de um acúleo pontiagudo e forte (CUNHA, 2013).

Os surubins são as espécies de maior valor comercial no Brasil, por serem considerados produtos nobres, apresentarem carne saborosa, com baixo teor de gordura e ausência de espinhas intramusculares, levando ao valor de comercialização alto (CREPALDI et al., 2007, ALMEIDA FILHO et al., 2012,). Possuem elevada taxa de crescimento, podendo alcançar na natureza 100 kg de peso vivo,(ALMEIDA FILHO et al., 2012).

O *Pseudoplatystoma* apresenta hábitos alimentares carnívoros, predominantemente piscívoros (CREPALDI et al., 2007; CAMPOS, 2010). Possui um trato gastrointestinal característico de peixes carnívoros. Porem, essa espécie possui algumas peculiaridades anatômicas que indicam adaptações a uma dieta onívora, como o padrão longitudinal de seu trato gastrointestinal e a presença de várias anastomoses, rede de canais que se bifurcam e recombinam em vários pontos, o leva ao retardamento do avanço dos alimentos, proporcionando um período digestivo mais longo e, consequentemente, melhor aproveitamento dos nutrientes (RODRIGUES et al.2009).

Sobre as exigências nutricionais do surubim podemos destacar o estudo de Gonçalves (2002) que a espécie é muito exigente em proteína digestível, apresentando a melhor resposta quando alimentado com dietas contendo 32g/kg de proteína digestível.

Em relação a fase de crescimento Takahashi e Cyrino (2002) estudaram a utilização de carboidratos nos níveis de 9, 13, 17, 21, 25 e 29g/kg, revelaram que as variações interferem muito nos parâmetros de desempenho e nos índices vicerossomático e gorduroviscerossomático.

Dentre as fontes de energia, os lipídeos se destacam por seu elevado valor energético e por sua aplicabilidade na confecção de dietas comerciais (PEZZATO et al., 2004). Em estudos feitos por Matino et al.,(2003) sobre a influência de lipídeos na dieta, no desempenho produtivo de juvenis de pintados com 5,1 g, foi avaliado a composição de ácidos 8 graxos da carcaça e o lipídeo hepático, utilizando cinco dietas isoproteicas (46,5% de PB) e isolipídicas (19% lipídeo bruto) formuladas com diferentes proporções de óleo de fígado de lula e banha de porco, mostrou que não houve diferença significativa no desempenho produtivo, mas o perfil de ácidos graxos da carcaça dos peixes foi afetado pela composição de ácidos graxos na dieta.

Já a digestibilidade de carboidratos como fonte de energia é aparentemente limitada (STONE, 2003). Em geral assume-se que a digestibilidade de carboidrato não excede 20 g/kg em espécies carnívoras (ALMEIDA FILHO et al., 2012). Desta forma faz-se de suma importância o conhecimento da digestibilidade aparente, que se reflete uma porcentagem de amostra de alimento que é absorvida no trato digestório de um animal e não é encontrado nas fezes, desta forma não existe nenhum método eficiente para separar o nitrogênio metabólico contido nas fezes, por tanto a digestibilidade deve ser considerada como aparente (TEIXEIRA et al.,2010). A determinação da digestibilidade de alimentos utilizados na elaboração de dietas para peixes é fundamental para melhoria de sua eficiência alimentar e para o atendimento das exigências nutricionais de uma espécie, (TEIXEIRA et al., 2010).

2.3. Treinamento alimentar na fase de co-feeding na larvicultura de surubim

O sucesso da alimentação depende do desenvolvimento progressivo de características anatômicas e funções fisiológicas da disponibilidade de itens alimentares adequados ao longo do desenvolvimento larval (RØNNESTAD et al., 2013).

É necessário um entendimento integrado dos vários fatores e eventos que interagem na aquisição e digestão de alimentos para o design de dietas que atendam aos requisitos para ingestão, digestão e absorção ideal. Além disso, um melhor conhecimento nessa área significaria reduções nos custos de produção de alevinos (RØNNESTAD et al., 2013).

Portanto fez-se essencial o aporte de protocolos de transição alimentar na fase de cofeeding para alavancar a produção. Vários protocolos de transição alimentar têm sido testados para a larvicultura intensiva de várias espécies de peixes visando reduzir o período de fornecimento do alimento vivo, consecutivamente diminuir custos na produção (MENOSSI et al.,2012).

O processo de co-feeding é a fase de substituição ou redução do alimento vivo nos primeiros dias de vida do animal (KOLKOVSKI, 2001). No estudo realizado por Tandler & Kolkovski (1991) utilizando larvas de dourada (*Sparus aurata*) com 10 dias de idade, alcançaram 80% de sobrevivência sem problema de crescimento, fazendo uso do *co-feeding*.

2.4. Atividade enzimática

O crescimento e desenvolvimento saudável dos peixes dependem da absorção e da digestão de nutrientes, assim com as interações metabólicas A capacidade digestiva dos peixes pode ser compreendida como a habilidade de secretar enzimas no trato digestório, apto a hidrolisar os polímeros existentes nos alimentos até seus respectivos monômeros, sendo que os níveis destas enzimas dependem dos níveis dos nutrientes presentes no alimento ingerido pelo animal. Uma vez que, a composição da dieta também pode influenciar a liberação das enzimas digestivas (SEIXAS FILHO, 2003)

Sabendo que algumas espécies de peixes possuem limitações digestivas por serem larvas altriciais (JOMORI et al., 2003), como é o caso do surubim, com um aparelho digestivo incompleto, ausência de algumas enzimas, dentre outras. Uma vez que, faz-se necessário o aporte de dietas que estimule o desenvolvimento e a produção de enzimas digestivas para maior absorção dos nutrientes presente no alimento (KOLKOVSKI, 2001).

As enzimas são, em sua maioria, proteínas fundamentais para a realização dos processos metabólicos nos seres vivos, pois, as reações bioquímicas que acontecem no organismo são catalisadas por estas. As enzimas aumentam a velocidade das reações diminuindo a energia de ativação sem variar o equilíbrio químico; são específicas, atuam por meio de sítio ativo, apenas em determinado substrato; são vulneráveis às mudanças de temperatura e pH do meio, havendo assim, um estado ótimo no qual ocorre máxima atividade (GOMES et al., 2016).

O conhecimento sobre enzimas digestivas em peixes é ainda mais complexo em comparação com outros animais, devido a existência de inúmeras espécies, com diferentes composições anatômicas digestivas e hábitos alimentares diversos e, por isso, os estudos feito com uma determinada espécie não podem ser adotados para outras. As enzimas digestivas de peixes são secretadas dentro do lúmen do canal alimentar originados da mucosa gástrica, dos

cecos pilóricos, do pâncreas e da mucosa intestinal com a função de hidrólise de proteínas, carboidratos e gorduras. (STECH et al.,2009).

3. MATERIAL E MÉTODOS

As larvas de surubim foram adquiridas em uma piscicultura comercial. Três dias após eclosão (DPE) e transportadas para o laboratório de aquicultura da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD/FCA).

3.1. Dietas experimentais

As rações foram confeccionadas seguindo o conceito de proteína ideal e com granulometria de 200µm fornecidas pela empresa Bioartemia (ltda). Nas dietas as fontes de proteínas utilizadas foram prioritariamente o hidrolisado de artemia adulta, farinha de peixe e farelo de soja, amido gelatinizado como fonte de carboidrato e óleo de soja como fonte de lipídios e suplementadas com vitamínico-míneral, vitamina C protegida, betaína e caulin.

Estas foram analisadas quanto aos seus teores de umidade, proteína bruta, extrato etéreo e cinzas, conforme metodologia descrita na Association of Official Analytical Chemists (A.O.A.C., 2000). O conteúdo de umidade foi determinado submetendo-se as amostras a 100^{0} - 105^{0} C, em estufa até peso constante. O teor de proteína bruta foi obtido pela multiplicação da porcentagem de nitrogênio total, determinado pelo método de Kjeldhall e multiplicado pelo fator 6,25. Para os níveis de extrato etéreo utilizara o aparelho de extração de Soxhlet, tendo-se como solvente o éter de petróleo (p.e. 30 - 60^{0} C) com refluxo contínuo através da amostra, por 6 horas. A concentração de cinza foi determinada carbonizando-se a amostra em mufla a 600^{0} C, até peso constante.

TABELA 1. Composição bromatológica das dietas com teores de umidade para alimentação de larvas de surubim.

	Teores de umidade (%)				
Composição	D47	D35	D24	D8	
Matéria Seca	52,03	64,70	75,15	91,20	
Umidade	47,97	35,30	24,85	8,80	
Proteína bruta	51,18	58,57	60,51	79,00	
Proteína digestível *	35,70	40,85	42,21	55,10	
Lipídeos	11,18	10,12	11,90	6,37	
Matéria mineral	5,12	7,31	8,75	12,58	
Energia bruta	2567,40	3355,00	3773,70	4101,70	
Energia digestível *	1557,64	2035,48	2289,50	2488,50	

^{*} Proteína e energia digestível calculada com base nos percentuais de digestibilidade dos ingredientes para o surubim (*Pseudoplatystoma corruscans*) de Gonçalves; Carneiro (2004). Composição analisada das dietas segundo AOAC (2000).

3.2 Alimentação das larvas de surubim

O fornecimento do alimento vivo foi realizado através do uso de náuplios de artêmias. Para a eclosão dos cistos de artêmias, foi utilizado recipientes com capacidade de 2L, cistos de artêmia, cloreto de sódio e água, com aeração constante e iluminação. Para contagem dos náuplios foram retiradas amostras em pipeta de 1ml e diluídas 10 vezes, desta foram retiradas uma alíquota de 1 ml e realizada a contagem de número de náuplios disponíveis, e fornecido as larvas.

A alimentação foi exclusiva com artêmia até o 5° dia (DPE), quando foi iniciado o processo de transição alimentar gradual com dieta de diferentes teores de umidade (Tabela 1).

Tratamentos 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 (Dias)

D47% Umidade

D35% Umidade

D24% Umidade

D8% Umidade

TABELA 1. Manejo alimentar ofertado as larvas de surubim.

Manejo alimentar ofertado as larvas no período de 21 dias, sendo 1° ao 5° dia alimentação exclusiva com artemia, e do 6° ao 21° dia alimentação com as respectivas dietas de diferentes teores de umidade.

No início do ensaio de alimentação 10 larvas de cada unidade experimental foram eutanásiadas para verificação de peso e comprimento. Para o manejo alimentar, foram realizados seis fornecimentos de dieta por dia (7:00; 9:00; 11:00; 13:00; 15:00; 17:00h).

3.3 Manejo experimental

As unidades experimentais apresentavam de 20L e foram providas de aeração, aquecimento, as trocas de água foram realizadas 50% do volume diariamente. A qualidade de água foi monitorada durante o período experimental sendo a temperatura mantida a 28° C, o pH manteve-se a 7.2 ± 0.7 , oxigênio dissolvido 5.2 ± 0.8 .

Ao final do período experimental de 21 dias, foi realizada a biometria e verificada a sobrevivência. Na avaliação do desempenho foram mensurados: ganho em peso diário (GP) = (peso final - peso inicial) / tempo, Consumo (C) = consumo de alimento no período experimental, Conversão alimentar (CA) = consumo/ ganho em peso, Taxa de eficiência proteica (TEP) = ganho em peso / proteína bruta consumida, Taxa de crescimento específico (TCE) = ((In peso final - In peso inicial) x 100) / tempo e Sobrevivência (S) = (número inicial de animais – número final de animais) /100. Após o procedimento de biometria as larvas foram anestesiadas com benzocaína (100mg/L de água) e congeladas para a realização das análises das enzimas digestivas.

Todo o manejo dos peixes foi realizado de acordo com os protocolos experimentais aprovados pelo Comitê de Ética da Universidade Federal da Grande Dourados.

3.4. Atividade enzimática

Larvas de surubim (100 mg) foram utilizadas para o ensaio de enzimas do metabolismo hepático (alanina aminotransferase ALT, aspartato aminotransferase AST e albumina) e para atividades das enzimas digestivas (amilase, lipase, protease e fosfatase alcalina).

O mterial biológico foi homogeneizado no tampão fosfato de sódio (glicerol v / v em tampão de fosfato de sódio 20 mM e Tris 10 mM - pH 7,0) e homogeneizado no homogeneizador do tipo Potter-Elvehjem. Posteriormente, o material foi centrifugado 600 x g por 4°C por dez minutos. Deste produto, o sobrenadante foi coletado para análise enzimática por espectrofotometria (espectrofotômetro semiautomático Bioplus S-200), as enzimas metabolicas foram ensaiadas pelo metodo de Reitman & Frankel (1957).

A atividade proteolítica total foi avaliada por hidrólise de caseína (WALTER, 1984).. A mistura de reação para um volume final de 1,0 ml foi: 0,1 M pH 2,0 ou 0,05 M pH 9,0 e caseína 0,5% mais fonte de enzima bruta de alíquota previamente ajustada. Após a incubação a 25 ° C, a reação foi interrompida pela adição de ácido tricloroacético (TCA) a 7% e volume final de 1,5 ml. A mistura foi mantida em banho de gelo por 30 minutos, o precipitado removido por centrifugação a 14,400 x g por três minutos e o sobrenadante foi lido a 280 μm contra solução de tirosina. A atividade específica foi expressa em micromole de substrato hidrolisado / min / mg de proteína (U / mg de proteína).

A lipase foi testada após ajustes adequados (ALBRO et al., 1985). Resumidamente, a mistura de reação para um volume final de 1,0 ml contendo alíquota previamente ajustada da enzima bruta e 0,4mM de nitr-nitrofenil miristato (dissolvido em tampão de bicarbonato de amônio 24mM pH 7,8 mais Triton X-100 a 0,5%) foi incubada por 30 minutos a 25°C . A reação foi interrompida por adição de NaOH 25 mM e transferida para banho de gelo por 15 minutos. A densidade óptica foi lida a 405ηm. Uma unidade foi definida como micromole de substrato hidrolisado por minuto e expresso por miligrama de proteína (U / mg de proteína).

O amilo-hidrolítico foi testado de acordo com Bernfeld (1955). A mistura reacional para um volume final de 1,5 ml foi: 1,5% de amido; Tampão 0,07M de citrato / fosfato, pH 7,0; 0,028M Cl- como co-fator enzimático e uma alíquota previamente ajustada de homogenato de tecido. A mistura foi incubada a 25°C por 30 minutos e a reação foi interrompida pela adição de 1,0 ml de mistura de ZnSO4 a 5%: Ba (OH) 2 a 0,3N. O precipitado foi removido por centrifugação a 11.000 x g por três minutos e a concentração de glicose livre foi determinada a 690 µm (PARK & JOHNSON, 1949).

Atividade específica foi expressa em micromol de açúcares redutores / min / mg de proteína (U / mg de proteína) As fosfatases alcalinas foram medidas utilizando métodos OSR6004), colorimétricos (fosfatase alcalina análise por espectrofotometria (espectrofotômetro semiautomático Bioplus S-200), As concentrações de proteína nos extratos brutos das enzimas foram determinadas como Bradford (1976) a 450nm, e 1,0mg ml ¹ de albumina foi usado como padrão. A atividade proteolítica total foi avaliada por hidrólise de caseína (WALTER, 1984). Anteriormente, os valores do teste de pH eram ajustados a cada seção do trato digestivo. A mistura de reação para um volume final de 1,0 ml foi: 0,1 M pH 2,0 ou 0,05 M pH 9,0 e caseína 0,5% mais fonte de enzima bruta de alíquota previamente ajustada. Após a incubação a 25°C, a reação foi interrompida pela adição de ácido tricloroacético (TCA) a 7% e volume final de 1,5 mL.

A mistura foi mantida em banho de gelo por 30 minutos, o precipitado removido por centrifugação a 14,400 x g por três minutos e o sobrenadante foi lido a 280 μm contra solução de tirosina. A atividade específica foi expressa em micromol de substrato hidrolisado / min / mg de proteína (U / mg de proteína). a lipase foi testada após ajustes adequados (ALBRO et al., 1985). Resumidamente, a mistura de reação para um volume final de 1,0 ml contendo alíquota previamente ajustada da enzima bruta e 0,4mM de nitr-nitrofenil miristato (dissolvido em tampão de bicarbonato de amônio 24mM pH 7,8 mais Triton X-100 a 0,5%) foi incubada por 30 minutos a 25°C. A reação foi interrompida por adição de NaOH 25 mM e transferida para banho de gelo por 15 minutos. A densidade óptica foi lida a 405ηm. Uma unidade foi definida como micromol de substrato hidrolisado por minuto e expresso por miligrama de proteína (U / mg de proteína).

3.5. Avaliação histológica

Foi observada a estrutura do fígado das larvas, estas foram fixadas em solução de formol tampondo 10%, por 24horas (10 larvas de cada tratamento). Após a fixação, ocorreu à lavagem em álcool 70% para desidratação em série alcoólica crescente, diafanizarão em série de xilóis, inclusão em Histosec e foram cortados em espessura variando entre 5 a 7μm de espessura. As lâminas foram coradas pelo método hematoxilina / eosina e pelo método histoquímico PAS (ácido periódico Schiffer).

3.6. Análise estatística

Foram analisados os dados da normalidade e a homogeneidade da variância, testadas antes da aplicação da Análise de Variância (ANOVA). Os resultados de sobrevivência em porcentagem e percentual de canibalismo sofreram transformação em $(arcsen\sqrt{x})100$ onde x é o valor expresso em porcentagem.

Os resultados foram avaliados em um delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos (D47%, D35%, D24% e D8%) e quatro repetições. A análise de componentes principais também foi usada para enfatizar variações entre os grupos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O desempenho de produção das larvas de surubim alimentados com dietas contendo percentuais de crescentes de umidade está apresentado na Tabela 2. As maiores taxas de ganho em comprimento e taxa de eficiência proteica foram obtidas para dietas D24 e D8. No entanto, os demais parâmetros (ganho em peso, taxa de crescimento específico, sobrevivência) não revelaram diferença significativa. Numericamente destacam-se os altos valores de fator de condição e maior sobrevivência das larvas alimentadas com D35.

TABELA 2. Desenvolvimento de larvas de surubim alimentados com dietas com diferentes percentuais de umidade.

Parâmetros					
Parametros	D47%	D35%	D24%	D8%	${f F}$
Ganho em peso (g)	0,031±0,02	0,033±0,01	0,038±0,02	0,037±0,02	2,051 ^{ns}
Ganho em comprimento (mm)	11,619±3,10 ^b	9,598±1,70°	12,891±3,44 ^a	12,447±3,58 ^{ab}	6,28**
Taxa de crescimento específico (%.dia ⁻¹)	16,06±3,78	16,70±6,75	17,09±3,90	16,94±4,08	0,18 ^{ns}
Taxa de eficiência proteica	1,92±0,02 ^b	3,87±0,04 ^b	3,52±0,03 ^b	4,11±0,04 ^a	3,22*
Sobrevivência (%)	$34,2\pm7,80$	38,5±9,02	34,4±4,73	30,5±9,64	1,39 ^{ns}
Fator de condição	8,81	11,62	7,30	4,30	-

Letras distintas na linha reportam diferença estatística pelo teste de Tukey (p>0,05). Ns = não significativo, * (0,05).

Em relação às enzimas digestivas das larvas de surubim, observou-se alteração da atividade das enzimas digestivas frente aos teores de umidade da dieta (Tabela 3). A dieta D47% e D35% apresentaram maior atividade da protease digestiva e fosfatase alcalina. As larvas de surubim alimentadas com a dieta D47% apresentaram maior atividade da enzima alanina aminotrasferase (AST) no entanto destaca-se aumento da atividade da albumina, o que garante a função hepática preservada.

TABELA 3. Enzimas digestivas (amilase, lipase e protease digestiva e fosfatase alcalina), metabolismo proteico (alanina aminotrasferase (ALT) e aspartato aminotrasferase (AST) e albumina de larvas de surubim alimentados com dietas com teores de umidade.

Doughastus a match áliana	% de umidade das dietas								
Parâmetros metabólicos	D47%	D35%	D24%	D8%	F				
Enzimas digestivas (mmol/min/mg protein)									
Amilase	$69,38 \pm 1,99^{a}$	$34,59 \pm 1,19^{d}$	$55,99 \pm 0,72^{b}$	$45,14 \pm 0,93^{c}$	786,12*				
Lipase	$15,18 \pm 0,26^{b}$	$9,26 \pm 0,48^{d}$	$16,66 \pm 1,39^{a}$	$12,13 \pm 0,40^{c}$	107,82*				
Protease inespecífica	$1,06 \pm 0,16^{b}$	$1,56 \pm 0,43^{a}$	$0,26 \pm 0,12^{c}$	0.06 ± 0.03^{c}	50,02*				
Fosfatase alcalina	$335,83 \pm 88,22^{a}$	$147,31 \pm 80,82^{b}$	$0,59 \pm 0,28^{c}$	$0,42 \pm 0,10^{c}$	42,40*				
Enzimas do metabolismo proteico									
\mathbf{ALT} (U.ml ⁻¹)	$0,45 \pm 0,16^{a}$	$0,\!29 \pm 0,\!14$	$0,\!30\pm0,\!16$	$0,\!26 \pm 0,\!09$	2,22*				
AST (U.ml ⁻¹)	$5,27 \pm 2,16^{a}$	$1,38 \pm 0,12^{b}$	$2,19 \pm 0,75^{b}$	$1,62 \pm 0,67^{b}$	13,63*				
Albumina (g.dl ⁻¹)	$0,63 \pm 0,27^{a}$	$0,25 \pm 0,14^{b}$	0.18 ± 0.05^{b}	0.18 ± 0.06^{b}	11,16*				

Letras distintas na linha reportam diferença estatística pelo teste de Tukey (p>0,05). Ns = $n\tilde{a}o$ significativo, * (0,05).

As análises de componentes principais destaca-se que para a fase de larvicultura a maior atividade das enzimas digestivas não apresenta responsividade aos índices de crescimento (Figura 1). Destaca-se que a atividades das enzimas metabólicas (AST, ALT e albumina) com os fatores de crescimento (taxa de eficiência proteica, taxa crescimento específico, ganho em comprimento) apresentam correlação negativa.

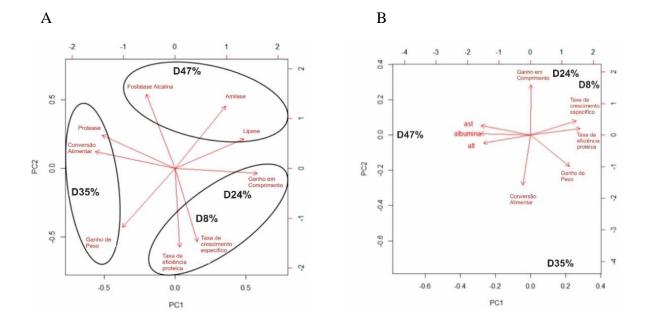


FIGURA 1. A) Dados do comportamento das enzimas digestivas e crescimento. Amilase, fosfatase alcalina, protease, lipase, ganho de peso, conversão alimentar, ganho em comprimento, taxa de eficiência proteica, taxa crescimento especifico das dietas D47%, D35%, D24% e D8% de umidade. B) Dados de crescimento e função hepática. Ganho de peso, conversão alimentar, ganho em comprimento, taxa de eficiência proteica, taxa crescimento especifico. ALT, AST e albumina das dietas D47%, D35%, D24% e D8% de umidade.

Considerando as respostas de crescimento, atividade de enzimas digestivas, função hepática e fator de condição, a D47% se destaca na atividade das enzimas digestivas, mas apresenta baixos índices de crescimento e maior sobrecarga hepática (Figura 2).

A correlação é positiva da conversão alimentar e fator de condição com a atividade da protease (p = 0.083).

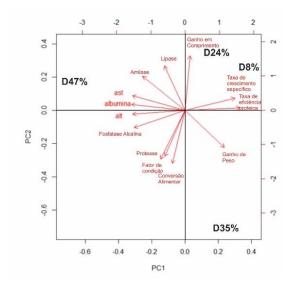


FIGURA 2 – Análise de componente principal dos parâmetros de crescimento, enzimas digestivas e enzimas metabólicas.

As analises histopatológicas hepáticas das larvas de surubim estão apresentadas na figura 3.

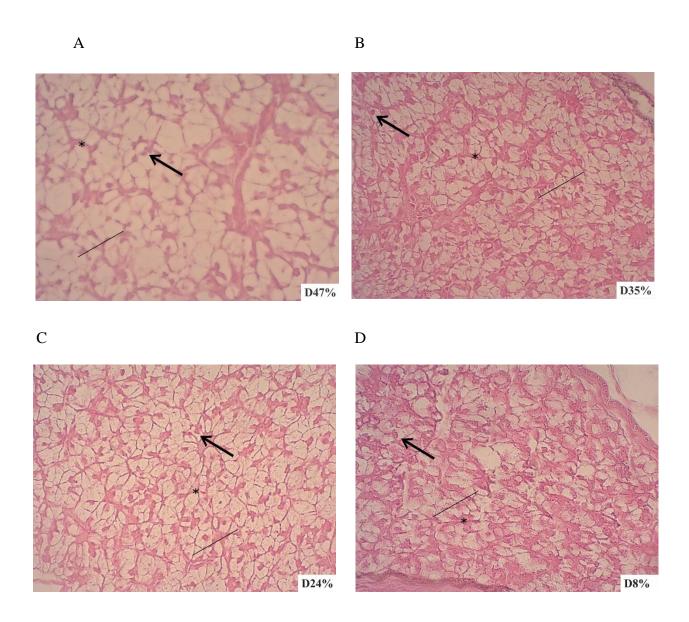


FIGURA 3: Morfologia hepática de surubim submetida a diferentes dietas com teores de umidade, com aumento de 400x. (A) D47 mostrou núcleo descentralizado (ponta de seta), desarranjo cordonal (traço fino), aumento do espaço de sinuosoides (*); (B) D35% demostrou núcleo descentralizado (ponta da seta) e desarranjo cordonal (traço fino), e aumento dos espaços de sunuosoides (*); (C) D24 núcleo centralizado (ponta de seta), arquitetura cordonal (traço fino) e diminuição dos espaços de sinuosoides (*); (D) D8% mostrou núcleo descentralizado (ponta de seta), desarranjo cordonal (traço fino), aumento do espaço de sinuosoides (*); laminas corada por HE = hematoxilina-eosina.

A histologia hepática de larvas de surubim alimentados com dieta D47% apresentaram vacúolo de lipídeos o que demostra o consumo da fonte energética, o deslocamento do núcleo dos hepatócitos e aumento do espaço dos sinusoides e desarranjo cordonal (Figura 3A). Os peixes alimentados com dieta D35% e apresentaram hepatócitos

vacuolizados com núcleo deslocado para periferia da célula, aumento do espaço dos sinusoides e desarranjo cordonal (Figura 3B). Para a dieta D24% foi evidenciados discreta reação inflamatória, núcleo da células centralizado, arquitetura do arranjo cordonal, e redução do espaço dos sinuosoides. E os peixes alimentados com dieta D8% (Figura 3D) apresentaram vacúolo de lipídeos o que demostra o consumo da fonte energética, o deslocamento do núcleo dos hepatócitos e aumento do espaço dos sinusoides e desarranjo cordonal.

4.1. DISCUSSÃO

O uso de dietas com diferentes produtos proteicos (filé de peixe, coração bovino, farinha de peixe) em dietas para larvas de espécies carnívoras é geralmente limitada devido à baixa digestibilidade destes produtos em comparação a artêmia (STERZELECKI1et al., 2016) Esforços foram realizados para melhorar o grau de hidrolise de fontes proteicas como tecnologia para melhorar a taxa de absorção (VALLE et al., 2014; UCZAY et al., 2019).

Nas dietas experimentais a principal fonte de proteína utilizada foi o hidrolisado de artemia adultas. Este produto por sua vez além de manter as características de composição de aminoácidos parecido com as do nauplios de artemia, apresenta-se como atratividade para larvas de organismos aquáticos (YÚFERA, 2007).

A utilização da biomassa de artêmia submetida ao processo de hidrolise, através de ensilamento resultou no aumento no ganho de peso e comprimento de larvas de camarão em um dos processos avaliados pelos autores (ABELIN et al., 1991). No entanto, a obtenção do hidrolisado por via enzimática pode ser vantajosa para a obtenção de um produto com estabilidade e controle de qualidade. Podendo ser uma alternativa mais viável, produtivamente, economicamente e nutricionalmente (VALLE et al., 2014), tornando esse insumo viável para utilização para o setor aquícola.

No entanto, o processo de hidrolise da biomassa de artemia resulta em um produto com maior teor de umidade e atividade de água. O percentual de água resultante do processo é um fator benéfico por proporcionar maior solubilidade da fração proteica o que possibilita a absorção de nutrientes para animais com trato digestório incompleto (AGUILERA et al., 1993). Os resultados revelaram que as dietas com teores de umidade semelhantes ao da *Artemia* sp. apresentaram crescimento satisfatório e superior aos da dieta seca (D8%). Em estudos realizados por Yúfera et al. (1996 e 1999) as dietas com capacidade de substituir a primeira alimentação de larvas de peixes deve possuir as mesmas características fisiológica e

estruturais do alimento vivo. Pode se supor que capacidade das larvas de algumas espécies de peixes em digerir ou não dieta seca, é explicada pelas características morfológicas do trato digestivo e pelas enzimas secretadas ao longo do desenvolvimento (PORTELLA & DABROWSKI, 2008) e também ao teor de soluto das dietas.

A promoção no desenvolvimento com reflexos no fator de condição das larvas do peixe pode ter sido resultado do aumento da atividade das funções digestivas (OTA et al., 2019). A maior ação da protease e da fosfatase alcalina, no presente estudo, na dieta com maior percentual de umidade corroboram com os estudos que evidenciam o melhor aproveitamento de dietas a base de hidrolisado proteico com altos teores de umidade (NASCIMENTO et al., 2008). A correlação entre a atividade da protease e a densidade energética da dieta, ou seja, o excesso de lipídeos pode interferir na taxa de absorção dos nutrientes (NAVARRO-GUILLÉN et al., 2018).

As diferenças observadas nas atividades enzimáticas entre os tratamentos podem ser explicadas por uma regulação positiva da captação de nutrientes das larvas de surubim como forma de compensar deficiências nutricionais e garantir uma melhor digestão e aproveitamento da dieta. Essa resposta compensatória também foi descrita para o robalo (European Sea bass) (GARCÍA-MEILÁN et al. 2016) e (S. dumerili) (NAVARRO-GUILLÉN et al., 2018).

Destaca-se que a responsividade da fosfatase alcalina corresponde à uma maior absorção de nutrientes pelo trato digestório. Moss (1992) sugere que a desfosforilação dos nutrientes pela FA intestinal deva ser necessária para torná-los permeáveis à membrana plasmática. Estudos revelam que esta enzima está envolvida na absorção de nutrientes tais como lipídeos, glicose, cálcio e fosfato inorgânico (TENGJAROENKUL et al., 2000). Algumas condições alimentares podem estimular a produção de enzimas digestivas (AYYAT et al., 2018). Observou-se que larvas de surubim apresentaram maiores atividade da FA que reflete em altas taxas de absorção de nutrientes quando alimentadas com a dieta de D47. No entanto, estes peixes apresentaram aumento da atividade da enzima hepática de metabolismos proteico.

Estes resultados podem estar associados ao aumento da neoglicogênese (MELO et al., 2006; CAMPECHE et al., 2018). Em um estudo com níveis de proteína para juvenis de surubim também foi observado aumento da degradação proteica para fins energéticos conforme o aumento de proteína da dieta (HONORATO et al., 2014). Nesse estudo, as atividades das enzimas envolvidas no metabolismo de proteína foram responsivas a taxa de aproveitamento da digesta, sendo esta fração estaria sendo usado como recurso energético

aumentando a neoglicogênese a partir de aminoácidos. O aumento da atividade da AST e ALT são consideradas resposta do organismo a estressores e ao metabolismo nutricional e é considerado um indicativo de órgão lesionado ou danificado (MENGA et al., 2018).

A morfologia do tecido hepático pode ser usada como um indicador do estado nutricional de surubim (HONORATO et al., 2014; RODRIGUES et al., 2017). A composição e qualidade alteram as funções hepáticas e podem refletir em acúmulo de gordura e deslocamento do núcleo para a periferia da célula. (TADDESE et al., 2014). Análise histopatológicas do fígado confirmam sua ação moduladora frente ao teor de umidade das dietas fornecidas. A diminuição da vacuolização do fígado foi reportada para animais submetidos a restrição de alimento, relacionado ao metabolismo de reserva dos ácidos graxos (OTA et al., 2019). As adaptações morfológicas no fígado demostrando o bom funcionamento do órgão podem refletir no desempenho da funcionalidade do hepatopâncreas (FUENTES-QUESADA et al., 2018).

5. CONCLUSÃO

Em conclusão, após o teste de alimentação de 21 dias, observou responsividade das enzimas de aproveitamento de alimento frente ao teor de umidade. A maior taxa de absorção de nutrientes refletiu em sobrecarga hepática. As dietas com teores intermediários de umidade 35 e/ou 24% mostrou-se a mais favorável para serem utilizadas na fase de *co-feeding* na larvicultura de surubim.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABELIN, P., TACKAERT, W., SORGELOOS, P. Ensiled Artemia biomass: a promising and practical feed for penaeid shrimp postlarvae. **Larvi**, v 91, , p. 125-127, 1991

AGUILERA, J., M.; LEVI, G.; KAREL, M. Effect of water content on the glass transition and caking of fish protein hydrolyzates. **Biotechnology Progress**, v. 9, n. 6, p. 651-654, 1993.

AKAHASHI, L. S.; CYRINO, J. E. P. Avaliação de diferentes níveis de carboidratos da dieta, no desempenho de alevinos de pintado *Pseudoplatystoma coruscans* In: **simpósio brasileiro de aquicultura**, , Goiânia. Simbraq, p.1-3.2002

ALBRO, P. W., HALL, R. D., CORBETT, J. T., SCHROEDER, J. Activation of nonspecific lipase by bile salts. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism**, v. 835, n. 3, p. 477-490, 1985

ALENCAR T. E DE., SALIBA, E. D. O. S., EULER, A. C. C., DE FARIA, P. M. C., CREPALDI, D. V., RIBEIRO, L. P. Coeficientes de digestibilidade aparente de alimentos energéticos para juvenis de surubim. **Revistas Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.6, p.1180-1185, 2010.

ALMEIDA FILHO, R. L.; HONORATO, C. A; DE ALMEIDA, L. C.; USHIZIMA, T. T.; SANTAMARIA, F. M. Nutrição de surubim (*Pseudoplatystoma sp.*) — Desafio para aquicultura. **Revista Eletrônica Nutritime**, Viçosa, v. 9, n. 5, p. 1995-2010, 2012.

ALVARADO, C. E. G. **Treinamento alimentar de pintado** *Pseudoplatystoma coruscans* (**Agassiz, 1829**): **Sobrevivência, crescimento e aspectos econômicos**. 2003. 72 f,Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista-UNESP, Jaboticabal-SP, Cento de Aqüicultura 2003.

ALVIM, I. D. Produção e caracterização de micropartículas obtidas por spray drying e coacervação complexa e seu uso para alimentação de larvas de peixes. 2005.277p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

AOAC Associations Of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analyses of the Association of Analytical Chemists.** Ed. 17. v.2, 2000.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA. PEIXE BR. Anuário Peixe BR da

AYYAT, M. S., AYYAT, A. M. N., AL-SAGHEER, A. A., EL-HAIS, A. E. A. M. Effect of some safe feed additives on growth performance, blood biochemistry and bioaccumulation of aflatoxin residues of Nile tilapia fed aflatoxin-B1 contaminated diet. **Aquaculture**, v 495,n.10, p. 27-3, 2018.

BERNFELD, P. Amylase α and β In: COLOWICK, S. P., KAPLAN, N. (Eds),. Methods in Enzymology. New York: **Academic Press**. v. 1, p.149-158. 1955

BOGLIONE, C. Feeding behaviour and digestive physiology in larval fish: current knowledge, and gaps and bottlenecks in research. **Aquaculture Nutrition**, v.5, p.59-98, Mai., 2013.

- BREADFORD, M. M., MCRORIE, R. A., WILLIAM, W.L 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.
- CAMPECHE, D. F. B., ANDRADE, D. H. D. H., SOUZA, A. M. D., MELO, J. F. B., & BEZERRA, R. D. S. Dietary protein:lipid ratio changes growth, digestive enzyme activity, metabolic profile and haematological parameters in hybrid surubim (*Pseudoplatystoma fasciatum* × *Leiarius marmoratus*). **Aquaculture Research**, v. 49, p. 1-9, 2018.
- CORREA, R. M. Preparo e caracterização de microcapsulas obtidas por polimerização ionica para alimentação de larvas de peixe. 2003. 171f, Dissertação (Mestrado em Alimento e Nutrição) Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas-SP 2003
- CREPALDI, D. V., FARIA, P. M. C., TEIXEIRA, E. D. A., RIBEIRO, L. P., COSTA, A. A. P., MELO, D. D., LOPES, V. E. O surubim na aquacultura do Brasil.**Revista Brasileira Reprodução Animal**,v.30,n.3-4,p. 150-158.,2006
- CREPALDI, D. V., Teixeira, E. D. A., Faria, P. M., Ribeiro, L. P., Melo, D. C., Oliveira, D. A. D. A., Queiroz, B. M. Rendimento de carcaça em surubim (*Pseudoplatystoma spp.*) avaliado por ultra-som. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, n. 4, 2008.
- FAO. **The State of Word Fisheries and Aquaculturure 2018** –Meeting the sustainable developments goals. Roma. Licence:CC BY-NC-AS 3,0 IGO 2018
- FRANÇA, G. B., CAMPOS, D. S. G., HONORATO, C. A. Caraterização da qualidade de dietas com níveis crescentes de proteína para surubim (*Pseudoplatystoma sp*). **Agrarian**, v. 12, n. 43, p. 104-110, 2019.
- FUENTES-QUESADA, J. P., VIANA, M.T., ROMBENSO A. N., GUERRERO-RENTERÍA, Y., NOMURA-SOLÍSC, M., GOMEZ-CALLED, V., LAZOA, J. P., MATA-SOTRESE, J.A. Enteritis induction by soybean meal in Totoaba macdonaldi diets: Effects on growth performance, digestive capacity, immune response and distal intestine integrity. **Aquaculture**, v. 495, p. 78-89, 2018.
- GARCÍA-MEILÁN, I., ORDÓÑEZ-GRANDE, B., MACHAHUA, C., BUENESTADO, S., FONTANILLAS, R., & GALLARDO, M. A. Effects of dietary protein-to-lipid ratio on digestive and absorptive processes in sea bass fingerlings. **Aquaculture**, v. 463, p. 163-173, 2016.
- GOMES, V. D. S.; SILVA, J. H. V. da; CAVALCANTI, C. R.; FONSECA, S. B. da; JORDÃO FILHO, J.; SILVA NETO, M. R. da; SILVA, F. B. da. Utilização de enzimas exógenas na nutrição de peixes revisão de literatura. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 19, n. 4, p. 259-264, 2016.
- HALVER, J.E.,& HARDY, R.W. Nutrient Flow and Retention. In: Halver, J. E; Hardy, R.W. (eds). **Fish Nutriton**. Academic Press, USA,v.3, p. 755-770, 2002.
- HONORATO, C. A., ALMEIDA, L. C., SILVA, N. C. da., CARNEIRO, D. J., MORAES, G. Effects of processing on physical characteristics of diets with distinct levels of carbohydrates and lipids: the outcomes on the growth of pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Aquaculture Nutrition**,v.16, p.91. 2010

- HONORATO, C. A., USHIZIMA, T. T., QUINTANA, C. I. F., CAMPOS, C. M., MARCONDES, V. M., NASCIMENTO, C. A., SANTAMARIA, F. M. Níveis de proteína digestível para surubim (*Pseudoplatystoma sp.*) criados em tanque-rede.**Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 5, p. 2781-2791, 2014.
- JOMORI, R. K.; DUCATTI, C.; CARNEIRO, D. J.; Portella, M. C. Stable carbon (d13C) and nitrogen (d15N) isotopes as natural indicators of live and dry food in *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) larval tissue. **Aquaculture Research**, v.237, p.1-12, Mar., 2008
- JOMORI, R. K.; LUZ, R. K., PORTELLA, M. C. Effect of salinity on larval rearing of pacu, *Piaractus mesopotamicus*, a freshwater species. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 43, p. 423-432, 2012.
- JOMORI, R.K.; CARNEIRO, D.J.; MALHEIROS, E.B.; PORTELLA, M.C. Growth and survival of pacu Piaractus mesopotamicus (Holmberg, 1887) juveniles reared in ponds or at different initial larviculture periods indoors. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 221, p. 277-287, 2003
- KOLKOVSKI, S. Digestive enzymes in fish larvae and juveniles implications and applications to formulated diets. **Aquaculture Nutrition**, v. 200, p. 181-201, Ago., 2001.
- KUBITZA, F., Preparo de rações e estratégias de alimentação no cultivo intensivo de peixes carnívoros.In: **Anais do Simpósio Internacional sobre nutrição de peixes e crustáceos**, **CBNA** Campos de Jordão, São Paulo, p. 91-109, 1995
- KUBITZA, F.; CAMPOS, J.L.; BRUM, J.A. Surubim: produção intensiva no Projeto Pacu Ltda. e Agropeixe Ltda. **Panorama da Aquicultura,** v.8, n.49, p. 41-50, 1998.
- LUNDSTEDT, L. M., MELO, J. F. B.; MORAES, G. Digestive enzymes and metabolic profile of *Pseudoplatystoma corruscans* (Teleostei: Siluriformes) in response to diet composition. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, v. 137, n. 3, p. 331-339, 2004
- MARTINO, R. C.; CYRINO, J. E. P.; PORTZ, L.; TRUGO, L. C. . Effect of dietary lipid level on nutritional performance of surubim, *Pseudoplatystoma coruscans*. **Aquaculture**, 209:209-218, 2003
- MENGA, X.L.; LIA, S.; QINA, C.B., ZHEN, X. Z., HUA,W.P., YANGA, L. P., LUA, R. H., LIB, W. J., NIEA, G. X. Intestinal microbiota and lipid metabolism responses in the common carp (*Cyprinus carpio* L.) following copper exposure. **Ecotoxicology and Environmental Safety** v.160, p.257–264, 2018.
- MOSS, D.W., Perspectives in alkaline phosphatase research. Clin Chem, 38, 2486-2492, 1992.
- NASCIMENTO, J. H. P. do., VERRESCHI, D. C., JESUS, R. de., Hidrolisados Protéicos de Peixe em Dietas para Alevinos de Surubim, pseudoplatystoma coruscans (agassiz, 1829). **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 2, n. 2, p. 1-6, 2008.

- NAVARRO-GUILLÉN, L.E.C. CONCEIÇÃO, W. PINTO, I. SIGUERO, P. URRUTIA, F.J. MOYANO, M. YÚFERA Fast growing greater amberjack post-larvae require a high energy-high protein weaning diet. **Aquaculture**, v. 499, p. 195-202, 2019.
- OTA, E.C. DO., HONORATO, C. A., HEREDIA-VIEIRA, S. C., FLORES-QUINTANA, C. I., SILVA, T. S.C,DA., INOUE, L. A. K. A., CARDOSO, C. A. L.. Hepatic and gastroprotective activity of Serjania marginata leaf aqueous extract in Nile tilapia (Oreochromis niloticus). **Fish physiology and biochemistry**, p. 1-15, 2019.
- PARK, J.T.& JOHNSON, M.J. A sub micro determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, v.181, p.149-151, 1949
- PEZZATO, L. E. et al. Nutrição de peixes. In: CYRINO, J. E. P. et al. (Eds.). Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. São Paulo: Tec Art, 2004. p. 75-169.
- PORTELLA, M. C., & DABROWSKI, K. Diets, physiology, biochemistry and digestive tract development of freshwater fish larvae. Feeding and digestive functions of fishes. Enfield: Science Publishers, p. 227-279, 2008
- REITMAN, S., FRANKEL, S.. A colorimetric method for determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. **Am. J. Clin. Pathol.**, 28, 56, 1957.
- RIBEIRO, F.M.; SANTOS, E.O.; ALMEIRA, E.M.; FREITAS, P.V.D.X.; RIBEIRO, T.B.; CARVALHO, A.T. Alimentação e nutrição de pacu (*Piaractus mesopotamicus*): revisão de literatura. **Revista Nutri-Time**, v. 14, n. 1, p. 1, 2017.
- RODRIGUES, A. P. O. PAULETTI, P., KINDLEIN, L., CYRINO, J. E. P., DELGADO, E. F., & MACHADO-NETO, R. Intestinal morphology and histology of the striped catfish *Pseudoplatystoma fascinatum* (Linnaeus, 1766) fed dry diets. **Aquaculture Nutrition**, v.15, p.559-563, 2009.
- RODRIGUES, Robson Andrade; SATURNINO, Klaus Casaro; FERNANDES, Carlos Eurico. Liver histology and histomorphometry in hybrid sorubim (*Pseudoplatystoma reticulatum*× *Pseudoplatystoma corruscans*) reared on intensive fish farming. **Aquaculture research**, v. 48, n. 9, p. 5083-5093, 2017.
- RØNNESTAD, I., YÚFERA, M., UEBERSCHÄR, B., RIBEIRO, L., SAELE,O. Feeding behaviour and digestive physiology in larval fish: current knowledge, and gaps and bottlenecks in research. **Aquaculture**. v . 5, n.1,p. 59–98, 2013.
- SEIXAS FILHO, José Teixeira de. Revisão Sobre as Enzimas Digestivas nos Peixes Teleostei e seus Métodos de Determinação. **Augustu**s,v. 8,n 17, 2003.
- SOUSA, A. B., Carvalho, D. C., Melo, D. C., Seerig, A. S., Oliveira, D. A. A., Ribeiro, L. P., Faria, P. M. C. A utilização de baixo número de matrizes em piscicultura: perda de recursos genéticos para programas de repovoamento.**Revista Brasileira Reprodução Animal**, v. 30, n. 3-4, p. 100-104, 2006.
- STECH, M. R., CARNEIRO, D. J., JÚNIOR, J. M. P. Fatores que afetam a produção de enzimas digestivas em peixes e o uso de enzimas exógenas como ferramentas em nutrição de peixes. **Ensaios e Ciência: ciências biológicas, agrárias e da saúde**,v.13, n.2, 79-93, 2009

- STERZELECKI, F. C., SUGAI, J. K., BALOI, M., PASSINI, G., DE CARVALHO, C. V. A., FRACALOSSI, D. M., & CERQUEIRA, V. R.. Effects of increasing protein level on the performance, enzyme activity and body composition of the Brazilian sardine, Sardinella brasiliensis (Steindachner, 1879) **Aquaculture nutrition**, v. 24, n. 1, p. 366-374, 2018.
- TADDESE F., HUH M.D., BAI S.C., VIJVERBERG J. Histological changes of liver in overfed young nile tilapia. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*. v.9, p.63–74, 2014.
- TANDLER, A., & KOLKOVSKI, S., Rates of ingestion and digestibility as limiting factors in the successful use Ž.of microdiet in *Sparus aurata* larvae. In: Lavens, P., Sorgeloos, P., Jaspers, E., Ollevier, F., Larvi 'Fish and Crustacean Larviculture Symp. Europ. Aquacult. Soc. Spec. Publ., Gent, Belgium, v. 15, p. 169–171, 1991.
- TEIXEIRA, A.E. DE SALIBA, E. D. O. S., EULER, A. C. C., DE FARIA, P. M. C., CREPALDI, D. V., RIBEIRO, L. P. Coeficientes de digestibilidade aparente de alimentos energéticos para juvenis de surubim. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 6, p. 1180-1185, 2010.
- TENGJAROENKUL, B., SMITH, B.J., CACECI, T., SMITH, S.A. Distribution of intestinal enzymes activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. **Aquaculture,**v. 182, n.3, p.317–327, 2000.
- TURRA, E. M., Queiroz, B. M., Teixeira, E. D. A., Faria, P. M. C. D., Crepaldi, D. V., Ribeiro, L. P.. Densidade de estocagem do surubim *Pseudoplatystoma spp.* cultivado em tanque-rede.**Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 10, n. 1, 2009.
- UCZAY, J., BATTISTI, E. K., LAZZARI, R., PESSATTI, M. L., SCHNEIDER, T. L., HERMES, L. B., FABREGAT, T. E. H. P. Tilapia protein hydrolyzate improves growth performance, protein absorption and antioxidant status in Silver catfish (Rhamdia quelen). **Aquaculture Research**, v. 50, n. 11, p. 3192-3201, 2019.
- VALLE, B. C. S., DANTAS J. R E. M., SILVA, J. F. X., BEZERRA, R. S., CORREIA, E. S., PEIXOTO, S. R. M., SOARES, R. B.Replacement of fishmeal by fish protein hydrolysate and biofloc in the diets of *Litopenaeus vannamei* postlarvae. **Aquaculture Nutrition**, v. 21, n. 1, p. 105-112, 2014.
- WALTER, H. E., . Proteinases: methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrates. In: Bergmeyer, H.U. (Ed.), **Methods of Enzymatic Analysis**, Verlag Chemie, Weinheim, v.5, p. 270-277, 1984
- YÚFERA, M .; POLO, A .; PASCUAL, E. Alterações na composição química e biomassa durante a transição da alimentação endógena para exógena de larvas de *Sparus aurata L.* (*Pisces, Sparidae*) criadas em laboratório. **Biologia marinha experimental e ecologia**, v. 167, n.2, p.149-161, 1993.
- YÚFERA, M.; DARIAS, M.J. The onset of exogenous feeding in marine fish larvae. **Aquaculture**, v. 268, n1-2, p. 53-63, 2007.
- YÚFERA, M.;PASCUAL, E .;FERNÁNDEZ-DIAZ, C. A highly efficient microencapsulated food for early rearing of marine fish larvae **Aquaculture Nutrition**, v. 177, p.249-256, 1999.