

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**DIETAS CONTENDO GRÃOS SECOS DE DESTILARIA
COM SOLÚVEIS DE MILHO SUPLEMENTADAS COM
XILANASE/ β -GLUCANASE PARA A TILÁPIA-DO-NILO
(*Oreochromis niloticus*)**

Autora: Analene Alves Nascimento
Orientador: Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya
Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro

MARINGÁ
Estado do Paraná
Dezembro- 2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**DIETAS CONTENDO GRÃOS SECOS DE DESTILARIA
COM SOLÚVEIS DE MILHO SUPLEMENTADAS COM
XILANASE/ β -GLUCANASE PARA A TILÁPIA-DO-NILO
(*Oreochromis niloticus*)**

Autora: Analene Alves Nascimento
Orientador: Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya
Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro

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

MARINGÁ
Estado do Paraná
Dezembro - 2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

N244d Nascimento, Analene Alves
Dieta contendo grãos secos de destilaria com solúveis de milho suplementadas com Xilanase/ β -glucanase para a Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) / Analene Alves Nascimento. -- Maringá, 2022.
xiii, 78 f.: il., figs., tabs.

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

1. Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) - Dieta. 2. Proteína vegetal. 3. Milho - Grãos secos - Destilaria. 4. Alimento alternativo. 5. Enzimas exógenas. I. Furuya, Wilson Massamitu, orient. II. Ribeiro, Ricardo Pereira, coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. IV. Título.

CDD 21.ed.639.37

Elaine Cristina Soares Lira - CRB-9/1202



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**DIETAS CONTENDO GRÃOS SECOS DE DESTILARIA
COM SOLÚVEIS DE MILHO SUPLEMENTADAS COM
XILANASE/ β -GLUCANASE PARA A TILÁPIA-DO-NILO
(*Oreochromis niloticus*)**

Autora: Analene Alves Nascimento
Orientador: Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya

TITULAÇÃO: Doutora em Zootecnia - Área de Concentração Produção Animal

APROVADA em 14 de dezembro de 2022.

Documento assinado digitalmente
gov.br ANA LUCIA SALARO
Data: 14/12/2022 17:35:02-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof^a Dr^a Ana Lucia Salaro

Documento assinado digitalmente
gov.br LORENA BATISTA DE MOURA
Data: 14/12/2022 19:22:15-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof^a Dr^a Lorena Batista de
Moura

Documento assinado digitalmente
gov.br LILIAN CAROLINA ROSA DA SILVA
Data: 14/12/2022 17:37:42-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof^a Dr^a Lilian Carolina Rosa
Silva

Prof. Dr. Wilson Rogério Boscolo

Documento assinado digitalmente
gov.br WILSON MASSAMITU FURUYA
Data: 14/12/2022 17:26:23-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya
Orientador

“Seja você quem for, seja qual for a posição social que você tenha na vida, a mais alta ou a mais baixa, tenha sempre como meta muita força, muita determinação e sempre faça tudo com muito amor e com muita fé em Deus, que um dia você chega lá. De alguma maneira você chega lá.”

Ayrton Senna

As minhas filhas, minhas duas meninas, Maria Valentina e Liz Maria, fonte de amor, força diária e motivação para que eu possa ser melhor no que eu poder ser! Meus amores!

DEDICO**AGRADECIMENTOS**

A Deus toda honra, toda glória, todo louvor, toda gratidão e toda adoração. A Ele, por ter me concedido saúde, força, sabedoria e discernimento para a realização desse sonho. As minhas duas preciosidades, minhas amadas filhas, Maria Valentina e Liz Maria, fonte de amor, força e motivação diária. Por vocês que todos os dias agradeço ao nosso Senhor pela dádiva de ser mãe, por vocês que são o melhor e o mais valioso que tenho na vida.

Aos meus queridos pais Eurique e Marilene, sei o quanto é importante para vocês poderem celebrar mais essa fase da minha vida. Em todos os momentos sempre se fizeram presentes de todas as formas, mesmo que de longe, por telefone. Sempre me apoiando e incentivando a ser melhor no que eu poder ser, como pessoa, como ser humano. Mãe sua luta e sua bravura desmedida não foi e não é em vão. Admiro sua força e fé, sua garra e sua alegria de viver é para mim uma inspiração. Grata a Deus por tê-la como mãe, grata por suas orações.

Aos meus dois irmãos Cidiney Nascimento e Willian Nascimento, meus dois anjinhos, como eu os chamo carinhosamente, grata pelo carinho, força, apoio e incentivo em todas as fases da minha vida.

Ao meu esposo Bruno César, pelo companheirismo, apoio e compreensão nessa jornada em busca do conhecimento.

Família, vocês são o meu bem mais precioso. Gratidão por tudo! Meus amores!

A minha sogra Lindalva, que cuidou de Valentina enquanto estive ausente.

A minha comadre Meire, a minha amiga Gisele, pelos incentivos e apoio.

Família essa é mais uma conquista, mais um sonho que sem vocês não poderia ser possível de se realizar, gratidão a toda a minha família que tanto amo.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya, pela orientação, pela motivação profissional e pessoal, pela paciência e compreensão, confiança, incentivos e amizade;

Ao meu Coorientador Prof. Dr. Ricardo Pereira Ribeiro, pela disponibilidade e colaborações;

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - UEM, pela oportunidade de realização desse sonho;

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - UEM, por todos os ensinamentos repassados e pelas contribuições profissionais e pessoais compartilhadas;

A secretaria do PPZ, Solange, pela paciência, compreensão e acessibilidade em diversos momentos, sempre prestativa e atenciosa;

As professoras Dra. Valéria Rossetto Barriviera Furuya, Dra. Fernanda Losi Alves de Almeida, Dra. Maria Raquel Natali Marçal e aos técnicos de laboratórios do departamento de Histologia da UEM, Silvia, Ana Paula e Maria Ângela, pela disponibilidade, pelo apoio, ensinamentos e por toda ajuda na realização das análises laboratoriais;

Ao grupo de pesquisa *Fish Nutrition*, Thaís Pereira da Cruz, Allan Vinnicius Urbich, Paola Paulovski, Alycia Rudnik, João Antônio, Luiz Fernando, Ângelo Machado, Ana Flavia, Jéssica Nakamura, Johnny Martins, em especial ao Élisson Macedo que gentilmente compartilhou comigo dados deste trabalho que fazia parte da sua tese de doutorado, para que eu pudesse finalizar o meu doutorado. Grata a todos, pela amizade, pela grandiosa e valiosa ajuda na condução dos experimentos, na realização das análises laboratoriais, a minha eterna gratidão;

A BASF S.A., pelo fornecimento das enzimas utilizados na execução do experimento e pelo apoio ao projeto de pesquisa, agradecimento especial ao Sr. Bruno Wernick, consultor de serviços técnico da BASF S.A. Nutrição animal Maringá, Paraná;

A CAPES, pela concessão de bolsa de doutorado;

A todos meus amigos e colegas do PPZ/UEM, pelo conhecimento compartilhado, em especial a Débora Rodrigues de Aquino pela parceria e por todos os momentos de alegrias vividos;

A todos meus familiares que de forma direta ou indireta contribuíram para que meus objetivos fossem alcançados.

BIOGRAFIA

Analene Alves Nascimento, filha de Marilene Pereira Alves Nascimento e Eurique Crene Pereira do Nascimento, nasceu na cidade de Araripina, estado de Pernambuco, em 20 de fevereiro de 1991.

Em agosto de 2010 ingressou no curso de Engenharia de Pesca na Unidade Acadêmica de Serra Talhada - Universidade Federal Rural de Pernambuco-UAST/UFRPE, obtendo o título de Engenheira de Pesca em agosto de 2016.

Em agosto de 2016 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal na Universidade Federal do Vale do São Francisco em nível de Mestrado - PPGCA/UNIVASF, área de Produção e nutrição de animais não ruminantes, realizou estudos com alimentos alternativos para tilápia-do-Nilo, sendo titulada como Mestre em Ciência Animal em agosto de 2018.

Em março de 2019 iniciou os estudos em nível de doutorado, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia na Universidade Estadual de Maringá - PPZ/UEM, área de concentração Produção Animal, tendo como especialidade a área da Aquicultura. Submeteu-se à banca examinadora para a qualificação em 25 de agosto de 2022 e em 14 de dezembro do mesmo ano, para a defesa da tese, sendo aprovada para a obtenção do título de DOUTORA EM ZOOTECNIA.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
RESUMO	xiii
ABSTRACT	15
CAPÍTULO I - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
INTRODUÇÃO GERAL	17
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
1.1 DDGS de milho na nutrição de organismos aquáticos	19
1.2 Enzimas exógenas na nutrição de peixes	20
1.3 Relação dos grãos secos de destilaria com solúveis de milho com a atividade das enzimas digestivas em animais aquáticos	24
1.4 Efeito dos polissacarídeos não amiláceos (PNA) na atividade das enzimas digestivas em tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)	25
1.5 Relação dos parâmetros bioquímicos do plasma sanguíneo com o estado nutricional e imunológico dos animais aquáticos alimentados com dietas contendo DDGS	28
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
3. OBJETIVOS	40
3.1 Geral	40
3.2 Específicos	40
CAPÍTULO II – ARTIGO CIENTÍFICO	41
Artigo redigido conforme as normas de publicação da Aquaculture.....	41
Melhorando o desempenho produtivo e digestibilidade em juvenis de tilápia-do-Nilo através da suplementação de xilanase mais β -glucanase sobre grãos secos de destilaria com dieta adicionada de solúveis.....	42
Resumo	42
1. Introdução	44
2. Material e métodos	46

3. Resultados	56
4. Discussão	60
Agradecimentos	63
Referências	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Dados da composição nutricional de grãos secos de destilaria com solúveis de milho publicados nos anos de 2020 e 2022 por diferentes autores (base na matéria natural).....	19
Tabela 2:Estudos de diferentes autores realizados nos últimos anos com a adição de enzimas exógenas em dietas à base de ingredientes de origem vegetal sobre a digestibilidade de nutrientes, desempenho e saúde em várias espécies de peixes	22
Tabela 1: Ingredientes e composição química analisada das dietas experimentais.....	67
Tabela 2: Desempenho produtivo de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas experimentais. ¹	69
Tabela 3: Composição corporal de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas experimentais. ¹	71
Tabela 4: Parâmetros sanguíneos de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas experimentais. ¹	75
Tabela 5: Atividade de enzimas digestivas (unidade de atividade por miligrama de proteína) de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas experimentais. ¹	76
Tabela 6: Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA; %) de energia e nutrientes de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas experimentais. ¹	77

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Classificação dos Polissacarídeos não amiláceos (PNA) (adaptado de Lorena Salim de Sousa, 2017). 27
- Figura 2: Imagens com *boxplots* dos principais efeitos de interação das dietas sem (Controle) ou com grãos de destilaria com solúveis (DDGS) de milho, não suplementados (-XB) ou suplementados (+XB) com 0,2 g kg⁻¹ de xilanase mais β -glucanase (B) para fornecer 1120 TXU kg⁻¹ de 1,4-β-xilanase e 500 TGU kg⁻¹ de β-glucanase nas dietas, nos teores de energia digestível (ED; A) e proteína digestível (PD; B) em dietas à base de vegetais fornecidas a juvenis de tilápia-do-Nilo por oito semanas. Pontos pretos e números no lado direito dos *boxplots* mostram os valores médios de quatro réplicas; os *boxplots* mostram os quartis inferior, mediano e superior. Diferenças significativas (P < 0,05) entre as dietas são demonstradas por letras diferentes. Os dados foram analisados por ANOVA de uma via e teste HSD de Tukey..... 79
- Figura 3: Imagem com *boxplots* dos efeitos de interação das dietas sem (Controle) ou com grãos de destilaria com solúveis (DDGS) de milho não suplementados (XB-) ou suplementados (XB+) com 0,2 g kg⁻¹ de xilanase mais β -glucanase para fornecer 1120 TXU kg⁻¹ de 1,4-β-xilanase e 500 TGU kg⁻¹ de β-glucanase de dietas, na viscosidade fecal de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas à base de vegetais por oito semanas. Pontos pretos e números no lado direito dos *boxplots* mostram os valores médios de quatro réplicas; os *boxplots* mostram os quartis inferior, mediano e superior. Diferenças significativas (P < 0,05) entre as dietas são demonstradas por letras diferentes. Os dados foram analisados por ANOVA de uma via e teste HSD de Tukey. 80

Figura 4: Gráfico de carregamento da análise de componentes principais (CP) mostrando correlações entre ganho de peso corporal (GP), índice de eficiência alimentar (EA), atividade das enzimas digestivas amilase, protease e lipase, e viscosidade fecal dos dois primeiros autovalores (PC1 e PC2) de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com dieta sem (Controle) ou com grãos de destilaria com solúveis (DDGS) de milho não suplementados ou suplementados com xilanase mais β -glucanase a 0,2 g kg⁻¹ dieta (B) para fornecer 1120 TXU kg⁻¹ de 1,4- β -xilanase e 500 TGU kg⁻¹ dieta de β -glucanase por oito semanas..... 81

RESUMO

Este estudo foi realizado para avaliar os efeitos da inclusão de grãos secos de destiladores com solúveis (DDGS) de milho em dietas experimentais suplementadas com xilanase/ β -glicanase (XB) sobre o desempenho, digestibilidade, parâmetros bioquímicos e atividade enzimática digestiva de juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). Os peixes (n=192; peso corporal inicial de 7,49 ± 0,07 g) foram distribuídos em esquema fatorial 2x2 composto por duas fontes de proteína, farelo de soja (FS) e grãos secos de destiladores com solúveis (DDGS) de milho, ambos suplementados ou não com 0,2 g kg⁻¹ da preparação XB, contendo média de 1120 TXU kg⁻¹ de xilanase endo-1,4 β -dieta e 500 TGU kg⁻¹ de dieta de endo-1,4- β -glicanase. Observou-se interação significativa entre DDGS e xilanase/ β -glucanase (XB) para a ingestão de alimento dos peixes, sendo mais elevada nas dietas com DDGS mais XB. Os peixes alimentados com dietas contendo DDGS de milho tiveram peso corporal final e ganho de peso significativamente maiores do que os peixes alimentados com dietas contendo FS. Os coeficientes de digestibilidade de nutrientes e energia foram significativamente afetados pela interação entre DDGS de milho e XB. A inclusão de DDGS de milho em dietas baseadas em FS diminuiu a digestibilidade de energia e nutrientes. No entanto, com a adição do complexo enzimático XB, observou-se aumento significativo no consumo de dietas pelos peixes. Não foi observada interação significativa entre DDGS e XB nos parâmetros bioquímicos do sangue. No entanto, o XB aumentou os níveis de colesterol e glicose plasmáticos. Não foram observadas interações entre DDGS e XB na atividade de enzimas digestivas e o XB aumentou a atividade de amilase e lipase digestivas. Concluiu-se que as dietas contendo DDGS

suplementadas com XB melhoraram a digestibilidade de energia e nutrientes e, assim, melhoraram o desempenho produtivo de juvenis de tilápia-do-Nilo.

Palavras-chave: alimento alternativo, carboidratos, *Oreochromis niloticus*, polissacarídeos não amiláceos, proteína vegetal.

ABSTRACT

This study was carried out to evaluate the inclusion effects of corn soluble distillers dried grains (DDGS) in experimental diets supplemented with xylanase/ β -glucanase (XB) on the performance, digestibility, biochemical parameters and digestive enzymatic activity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles. Fish (n=192; initial body weight of 7.49 ± 0.07 g) were distributed in a 2x2 factorial scheme composed of two sources of protein, soybean meal (FS) and corn DDGS, both with or without 0.2 g kg^{-1} of the XB preparation, containing an average of 1120 TXU kg^{-1} of endo-1,4 β -diet xylanase and 500 TGU kg^{-1} of endo-1 diet, 4- β -glucanase. A significant interaction between DDGS and xylanase/ β -glucanase (XB) was observed for fish food intake, being higher in diets with DDGS plus XB. Fish fed diets containing corn DDGS had significantly higher final body weight and weight gain than fish fed diets containing FS. Nutrient and energy digestibility coefficients were significantly affected by the interaction between corn DDGS and XB. Inclusion of corn DDGS in FS-based diets decreased energy and nutrient digestibility. However, with XB enzyme complex addition, a significant increase in diet consumption by fish was observed. No significant interaction was observed between DDGS and XB on blood biochemical parameters. However, XB increased plasma cholesterol and glucose levels. No interactions were observed between DDGS and XB on digestive enzyme activity and XB increased digestive amylase and lipase activity. It was concluded that diets containing DDGS supplemented with XB improved the energy and nutrients digestibility as well as the productive performance of juvenile Nile tilapia.

Keywords: alternative food, carbohydrases, *Oreochromis niloticus*, non-starch polysaccharides, vegetable protein.

CAPÍTULO I - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

INTRODUÇÃO GERAL

Nos últimos anos, com o desenvolvimento da aquicultura intensiva, houve aumento da demanda por alimentos proteicos alternativos que possam ser adicionados as dietas atendendo às necessidades nutricionais dos animais e a sustentabilidade da atividade (FAO, 2022). As fontes de proteína vegetal tornaram-se a principal fonte alternativa de farinha de peixe por sua ampla disponibilidade, baixo preço e curta cadeia de conversão alimentar (Arriaga-Hernández *et al.*, 2021). No entanto, a presença de fatores antinutricionais, desequilíbrio de aminoácidos, falta de alguns elementos minerais e baixa digestibilidade limitam a substituição da farinha de peixe por fontes proteicas vegetais (Hodaret *et al.*, 2020).

O grão seco de destilaria com solúveis (DDGS) é um coproduto à base de milho da produção de etanol via fermentação, destilação e secagem que é realizada por combinação de várias enzimas e leveduras (Yang *et al.*, 2021), que possuem altos teores de nutrientes e fibra (Buenavista *et al.*, 2021). Na aquicultura, dietas com DDGS de milho vêm sendo estudadas desde a década de 1980 (Lovell, 1980). Já foi comprovado o potencial do uso do DDGS de milho como fonte de proteína vegetal nas dietas para diversas espécies com importância para a aquicultura como bagre do canal, *Ictalurus punctatus* (Li *et al.*, 2011), tilápia-do-Nilo *Oreochromis niloticus* (Suprayudiet *et al.*, 2015), robalo *Dicentrarchus labrax* (Magalhães *et al.*, 2015), pacu *Piaractus mesopotamicus* (Oliveira *et al.*, 2020) e camarão *Litopenaeus vannamei* (Ray *et al.*, 2020).

Em sua composição, o DDGS de milho possui alto teor de polissacarídeos nãoamiláceos (PNA), (Maas *et al.*, 2020b). Devido à estrutura específica (contendo ligações β -glicosídicas), dietas ricas em PNA, possuem baixo valor nutritivo para tilápias, que não possuem enzimas digestivas para degradar os PNA (Brito *et al.*, 2021; Jiang *et al.*, 2022).

A tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) é um peixe de águas quentes nativas de regiões tropicais e subtropicais, possui características de bom desempenho, amplo hábito alimentar, forte fecundidade e resistência a doenças, o que é adequado para produção intensiva (Lin *et al.*, 2017). Nos últimos anos, mais e mais ingredientes vegetais foram adicionados à dieta comercial desta espécie, levando ao rápido aumento de PNA na dieta. Assim, uma atenção crescente tem sido dada aos efeitos dos PNAs nas dietas para tilápias (Jiang *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2022). No entanto, nenhum estudo sistemático foi realizado para examinar os efeitos do uso de DDGS de milho associado com carboidrases exógenas para permitir neutralizar ou minimizar os efeitos negativos dos PNA sobre o desempenho dos peixes.

As enzimas exógenas são utilizadas para reduzir ou eliminar os fatores antinutricionais e aumentar o valor nutricional dos alimentos por meio da transformação de componentes complexos em compostos absorvíveis, melhorando a utilização de nutrientes e diminuindo a excreção dos nutrientes pelos peixes no ambiente (Brito *et al.*, 2021). Há enzimas no comércio que podem ser adicionadas nas dietas para não ruminantes que degradam os componentes da parede celular, aumentando a absorção e disponibilidade dos nutrientes. (Kamalam *et al.*, 2017). Entre as enzimas exógenas que degradam a fibra, a xilanase e a β -glucanases são amplamente usadas, uma vez que arabinosilanos e β -glucanos são mais predominantes em dietas com altos teores de fibras (CastilloeGatlin, 2015). No entanto, pesquisas obtiveram dados inconsistentes sobre o efeito dessas enzimas na melhoria de utilização de nutrientes e desempenho dos peixes (Coyle *et al.*, 2004; Webster *et al.*, 2016).

A adição das carboidrases exógenas possuem potencial nas dietas ricas em PNA para tilápia-do-Nilo. Seu uso pode viabilizar a utilização de alimentos ricos em fibra, como por exemplo o DDGS de milho. No entanto, existem poucas informações sobre os efeitos da suplementação de xylanase e β -glucanase (XB) com DDGS de milho em dietas formuladas para tilápia-do-Nilo. Para aumentar a produção de peixes considerando a sustentabilidade econômica e ambiental, a inclusão de carboidrases em alimentos de baixo valor agregado, como por exemplo o DDGS de milho, deve ser avaliada para garantir o desempenho e a saúde.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 DDGS de milho na nutrição de organismos aquáticos

O grão seco de destilaria com solúvel (DDGS) de milho é o coproduto da fermentação do grão de milho feito por enzimas e leveduras na produção de etanol (Jones *et al.*, 2022). A composição dos nutrientes pode variar de acordo com a origem do grão e métodos de fermentação e secagem (Liu *et al.*, 2011). Considerado alimento alternativo em dietas para animais aquáticos (Ray *et al.*, 2022). A Tabela 1 demonstra a composição química desse alimento palatável, de baixo custo de produção e de alta disponibilidade.

Tabela 1: Dados da composição nutricional de grãos secos de destilaria com solúveis de milho publicados nos anos de 2020 e 2022 por diferentes autores (base na matéria natural).

Composição química (g/kg)	(Oliveira <i>et al.</i> , 2020)	(Ray <i>et al.</i> , 2022)
Matéria seca	929	910
Proteína bruta	336	280
Energia bruta (kcal/kg)	4995	-
Lipídeos	40	100
Fibra bruta	-	110
Cinzas	20	52
Fósforo	2	9

O DDGS de milho é importante fonte de proteína, cálcio e fósforo considerado alimento promissor na indústria de dietas para animais aquáticos (Buenavista *et al.*, 2021). Na aquicultura, o uso do DDGS de milho vem sendo estudado desde a década de 1980 (Lovell, 1980). Estudos recentes têm reafirmado o potencial de DDGS em dietas para diversas espécies com importância na aquicultura, como bagre do canal, *Ictalurus punctatus* (Li *et al.*, 2011), truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss* (Overland *et al.*, 2013; Welker *et al.*, 2014), tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus* (Suprayudiet *et al.*, 2015; Suehset *et al.*, 2022), pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Oliveira *et al.*, 2020), bagre listrado, *Pangasianodon hypophthalmus* (Allamet *et al.*, 2020), carpa comum *Cyprinus carpio* (Révész *et al.*, 2020) e bagre europeu, *Silurus glanis* (Sándor *et al.*, 2021). Além disso, alguns pesquisadores estudaram a digestibilidade do DDGS de milho para o camarão branco do Pacífico, *Litopenaeus vannamei* (Lemos *et al.*, 2009; Ray *et al.*, 2020), corvina, *Argyrosomus regius* e robalo, *Dicentrarchus labrax* (Magalhães *et al.*, 2015), mostrando o potencial do DDGS de milho como fonte de proteína vegetal que pode substituir o farelo de soja e a farinha de peixe nas dietas de uma variedade de espécies aquáticas.

No entanto, o DDGS de milho pode ser fonte eficiente de proteína, principalmente para espécies onívoras, como a tilápia-do-Nilo, que toleram níveis mais elevados de fibra na dieta (Oliva-Teles *et al.*, 2015), minimizando as limitações do uso DDGS de milhelo seu alto teor de fibra (Malvandiet *al.*, 2022).

O DDGS de milho é boa fonte de fósforo disponível e satisfaz as necessidades de várias espécies de peixes que variam entre 0,3-1,0% (NRC, 2011). Outro benefício do uso do DDGS de milho na aquicultura deve-se a baixa excreção de fósforo no meio ambiente por causa do alto teor de fósforo digestível, que pode ser explicado pela alta biodisponibilidade (Sándor *et al.*, 2021). Os processos de fermentação e aquecimento a que o DDGS de milho é submetido podem ter resultado no aumento da hidrólise das moléculas de fitato, que não são digeríveis para os animais aquáticos (Révész *et al.*, 2020). O sucesso da inclusão de DDGS em dietas para peixes, bem como a eficiência de utilização de nutrientes pelos peixes, dependerá da fonte e composição do DDGS de milho utilizado (Oliveira *et al.*, 2020).

1.2 Enzimas exógenas na nutrição de peixes

As enzimas, consideradas catalisadores biológicos, são proteínas capazes de acelerar a velocidade das reações químicas, essenciais para o bom funcionamento celular de todos os seres vivos (Ravindran, 2013). O modo de ação de cada enzima é diferente e interdependente, em combinação com formulações de dietas deve ser realizado de forma racional e cuidadosa para alcançar o máximo de efeitos positivos, atuando direta ou indiretamente nos nutrientes, tendo efeitos principais sobre o substrato ao qual se dirigem (Zhenget *al.*, 2020).

Além disso, a atividade catalítica das enzimas é influenciada pela temperatura, pH, especificidade do substrato, entre outros; portanto, as enzimas utilizadas como aditivos no processamento nas dietas devem ser resistentes ao calor, estáveis e capazes de preservar sua atividade no sistema digestivo do animal (Velázquez-De Lucio *et al.*, 2021). O objetivo da adição de enzimas na alimentação animal é melhorar a eficiência alimentar, o desempenho animal e conseqüentemente reduzir o custo da alimentação (Bedford, 2018).

As enzimas são geralmente classificadas de acordo com o substrato sobre o qual atuam; comercialmente, na nutrição animal, são divididos em três categorias de acordo com sua finalidade, aqueles direcionados aos carboidratos (fibras e amido), proteínas e fitatos (Ojha *et al.*, 2019). As celulasas atuam nos polissacarídeos da celulose e quebram a fibra e a alfa-amilase atua no amido e melhora sua digestibilidade, enquanto a beta-glucanase atua nos polissacarídeos não amiláceos (PNA) e decompõe a fibra. As proteases atuam na proteína e

melhoram sua digestibilidade. As fitases atuam no fitato e liberam o fósforo do fitato, aumentando sua digestibilidade. (Imran *et al.*, 2016).

As carboidrases incluem amilase, B-glucanases e B-xilanases, celulase e pectinase que catalisam a redução no peso de carboidratos poliméricos, que são amplamente utilizados na indústria alimentícia. Diferentes tipos de carboidrases apresentam diferentes funções, enquanto mais de 80% da enzima global de carboidratos do mercado é composto por duas enzimas principais, xilanase e β -glucanase (Zhenget *et al.*, 2020).

Embora os animais tenham enzimas endógenas envolvidas na digestão (Ojha *et al.*, 2019), os peixes não possuem enzimas que degradam PNA, como β -glucanases e β -xilanases que permitem a digestão das longas cadeias de polissacarídeos presentes em ingredientes à base de plantas, ricos em PNA (Mass *et al.*, 2020). A suplementação enzimática tem sido utilizada como alternativa para aumentar o uso de ingredientes vegetais nas dietas para animais aquáticos (Signoret *et al.*, 2016), aumentando a biodisponibilidade de nutrientes e minerais, além de ajudar a eliminar alguns fatores antinutricionais (Velázquez-De Lucio *et al.*, 2021), Tabela 2.

Tabela 2: Estudos de diferentes autores realizados nos últimos anos com a adição de enzimas exógenas em dietas à base de ingredientes de origem vegetal sobre a digestibilidade de nutrientes, desempenho e saúde em várias espécies de peixes.

Espécie	Fase de vida	Fonte vegetal	Enzima	Resultados	Autores (ano)
Pregado (<i>Scophthalmus maximus</i>)	Juvenil	Grãos de destilaria secos com solúveis	Xilanase e glucanase	Melhorou o coeficiente de digestibilidade aparente de proteínas, lipídios e aumentou a atividade das enzimas digestivas.	Diógenes <i>etal.</i> (2018)
Tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Alevino	Farinha de girassol	Xilanase	Melhorou o desempenho, enzimas digestivas, digestibilidade de nutrientes, morfometria histológica de fígado e intestino.	Hassaanet <i>al.</i> (2020)
Tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Juvenil	Farelo de soja	Xilanase e glucanase	Otimizou a digestibilidade, aumentou a energia digestível e reteve os teores de nitrogênio.	Brito <i>et al.</i> (2021)
Tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Juvenil	Grãos secos de destilaria de trigo	Fitase e xilanase	As enzimas melhoraram a digestibilidade de todos os nutrientes e o desempenho dos peixes.	Maas <i>etal.</i> (2021)
Tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Juvenil	Farelo de soja	Xilanase e glucanase	As enzimas melhoraram a digestibilidade de todos os nutrientes.	Nakamura <i>etal.</i> (2022)
Esturjão siberiano (<i>Acipenser baerii</i>)	Juvenil	Farelo de soja	Mistura enzimática	Maior utilização de alimentos, digestibilidade de nutrientes e estado de saúde do animal.	Shekarabi <i>et al.</i> (2022)
Tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Juvenil	Polpa cítrica	Xilanase e glucanase	A suplementação das enzimas pode ajudar no desempenho e saúde dos animais.	Tawfiket <i>al.</i> (2022)

niloticus)

As xilanases são glicosidases responsáveis, principalmente, pela hidrólise das ligações β -1,4 presentes no xilano vegetal, que são componentes da hemicelulose. A hemicelulose é formada por vários polímeros, principalmente de xilano. Esses polímeros são formados por resíduos de açúcares e a sua degradação completa necessita da ação de um complexo de enzimas microbianas específicas para atuar em diferentes ligações, sendo a xilanase a enzima principal na despolimerização do xilano (Coughlan e Hazlewood, 1993). A produção comercial das xilanases se concentra, principalmente nos fungos *Trichoderma sp.* e *Aspergillus spp.* (Kulkarni e AbhayShendye, 1999).

As glucanases atuam hidrolisando, principalmente os β -glucanos em polímeros menores, diminuindo a viscosidade da digesta, permitindo a ação das enzimas endógenas e a fermentação dos carboidratos pela microbiota, aumentando a digestibilidade dos nutrientes (Choct, 1997; Cossonet *al.*, 1999). Comercialmente, as glucanases são obtidas a partir de microrganismos geneticamente modificados, incluindo *Aspergillus spp.*, *Bacillus sp.* e *Trichoderma sp.* (Yin *et al.*, 2000). O uso de β -glucanase aumenta a digestibilidade das proteínas, lipídeos e amido ligados à parede celular das células (Chesson, 1993).

Há desafios de aplicar enzimas exógenas em dietas para peixes, já que sua adição dependerá da espécie, do tipo de enzima e a fonte dos ingredientes da dieta (Hassaanet *al.*, 2019). Além disso, pesquisas são necessárias para confirmar como as enzimas exógenas (especialmente as carboidrases) modulam a microbiota intestinal e se essas modulações contribuem para melhorar o desempenho do hospedeiro (Diógenes *et al.*, 2018). É necessária investigação sobre o efeito das enzimas na disponibilidade de aminoácidos, modos de ação enzimáticos específicos, incluindo interações com enzimas endógenas durante a digestão, os efeitos das enzimas nos substratos alvo, a consistência e previsibilidade dos efeitos das doses de enzimas e os efeitos da qualidade dos ingredientes na previsibilidade da resposta (Maas *et al.*, 2021). Para sua aplicação, deve-se garantir que o biocatalisador seja capaz de resistir à extrusão e granulação do processamento das dietas, bem como a alterações no trato gastrointestinal (Zhenget *al.*, 2020).

1.3 Relação dos grãos secos de destilaria com solúveis de milho com a atividade das enzimas digestivas em animais aquáticos

Enzimas digestivas podem ajudar a compreender a utilização de DDGS como fonte alternativa de proteína em dietas para animais aquáticos (Ray *et al.*, 2022). Alterações na atividade das enzimas digestivas afetam a absorção e digestão do alimento em animais aquáticos (Lemieux *et al.*, 1999).

As enzimas digestivas estão linearmente correlacionadas com o desempenho e saúde dos animais. Em estudos com a atividade das enzimas digestivas, Magalhães *et al.*, (2015), não observaram diferença significativa nas atividades das enzimas digestivas em robalo (*Dicentrarchus labrax*) e em corvina (*Argyrosomus regius*) quando o DDGS de milho foi incluído nas dietas. No entanto, Oliveira *et al.*, (2021) observaram que juvenis de pacu (*Piaractus mesopotâmico*) alimentados com níveis crescentes de DDGS de milho (0, 100, 200, 300 e 400 g/kg) substituindo o farelo de soja e farinha de milho nas dietas por 100 dias, não tiveram diferença significativa da atividade da protease total entre as porções do intestino para todos os tratamentos, exceto para os peixes alimentados com 300g/kg de DDGS na dieta que apresentaram maior atividade da protease total no intestino anterior do que no médio, o que era esperado pelos os autores, uma vez que as enzimas digestivas são produzidas pelo pâncreas, liberadas na primeira porção do intestino do peixe e, portanto diminuem ao longo do trato intestinal. Também notaram que as atividades de lipase, amilase, quimotripsina e tripsina, diminuíram à medida que o nível de DDGS na dieta aumentou. Embora as atividades de tripsina e quimotripsina sejam responsáveis pela atividade de protease total, ela também inclui outras atividades de proteases alcalinas, como carboxipeptidases e di- e tri-peptidases.

O efeito dos grãos secos de destilaria sobre a atividade das enzimas digestivas pode ser dependente da fonte do ingrediente ou da tecnologia de processamento (Magalhães *et al.*, 2015). Além disso, o efeito negativo do DDGS sobre a atividade das enzimas digestivas pode estar relacionado a presença de PNA. O aumento da viscosidade da digesta e do teor de água no intestino, como resultado do aumento da ingestão de PNA solúvel, reduzirá a atividade das enzimas digestivas, reduzindo seu contato com o substrato, prejudicando o transporte de nutrientes e secreções digestivas, reduzindo a digestibilidade (Pedersen *et al.*, 2014). O efeito negativo da PNA no processo digestivo e na digestibilidade dos ingredientes da dieta tem sido relatado por variedade de espécies de peixes, como salmão do Atlântico *Salmonsalar* (Refstie *et al.*, 1999), bagre africano *Clarias gariepinus* (Leenhouders *et al.*, 2007), truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss* (Glencross *et al.*, 2012, Welker *et al.*, 2014) e tilápia-do-Nilo *Oreochromis niloticus* (Haidar *et al.*, 2016; Brito *et al.*, 2021).

1.4 Efeito dos polissacarídeos não amiláceos (PNA) na atividade das enzimas digestivas em tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)

A atividade enzimática digestiva é indicador importante que pode efetivamente refletir a capacidade dos peixes de digerir e absorver nutrientes (Jianget *et al.*, 2022). A melhora da atividade das enzimas digestivas ajuda a melhorar a digestão e absorção dos nutrientes da

dieta pelos peixes (Deng *et al.*, 2021). A pepsina completa a hidrólise inicial e parcial das proteínas no estômago, seguida pela ação combinada de tripsina e quimotripsina no intestino para completar a quebra do hidrolisado de pepsina (Lo e Weng, 2006). Entre eles, a tripsina decompõe 50-60% da proteína na dieta (Galgani *et al.*, 1984).

Atualmente, fontes de proteína vegetal tornaram-se a principal fonte alternativa para substituir a farinha de peixe por sua ampla disponibilidade, baixo preço e curta cadeia de conversão alimentar (Arriaga-Hernández *et al.*, 2021). Porém, baixa palatabilidade, presença de fatores antinutricionais, desequilíbrio de aminoácidos, falta de alguns elementos minerais e baixa digestibilidade limitam a utilização eficiente de fontes de proteínas derivadas de plantas na alimentação aquática (Hodare *et al.*, 2020).

Os polissacarídeos não amiláceos (PNA) são os principais componentes das paredes celulares das plantas, referidos como fibras alimentares (Knudsen, 2001). São compostos de múltiplos monossacarídeos e ácido glucurônico ligados por ligações glicosídicas específicas, classificados em celulose (polissacarídeo complexo), hemicelulose (dividida em arabinosilanos, β -glucanos e mananos) e pectina (unidades de ácido D-galacturônicos) (Sinha *et al.*, 2011). Além disso, os PNA são classificados de acordo com a solubilidade em solúveis (PNAs) (como pectina, mananos, arabinosilana e β -glucana) e celulose insolúvel (PNAi) (Zhang e Wang, 2012), Figura 1.

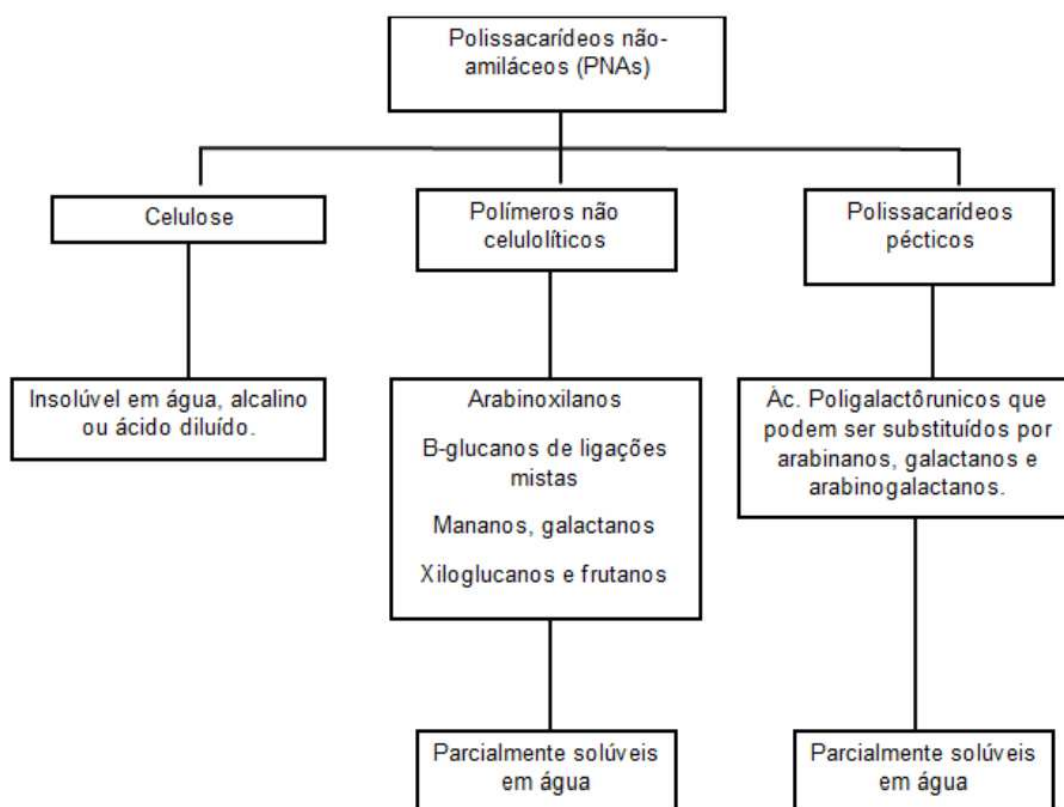


Figura 1: Classificação dos Polissacarídeos não amiláceos (PNA) (adaptado de Lorena Salim de Sousa, 2017).

Geralmente, os ingredientes vegetais contêm mistura de PNAs e PNAi em proporção que varia de acordo com o tipo e estágio de maturidade dos grãos, portanto, a quantidade e o tipo de PNA diferem entre os ingredientes vegetais (Jianget *al.*, 2022). PNAs são considerados carboidratos não digeríveis no intestino de peixes pela falta de enzimas que degradam PNAs, como celulase, xilanase e β -glucanase (Sinhaet *al.*, 2011). Recentemente, estudos mostraram que os PNAs nas dietas têm efeito considerável sobre os peixes, sendo os efeitos positivos ou negativos produzidos de acordo com o tipo e a quantidade (Deng *et al.*, 2021, Jiang *et al.*, 2022).

A digestibilidade e utilização dos nutrientes depende, principalmente da atividade das enzimas digestivas intestinais nos peixes. Os PNAs são viscosos e aderem às enzimas digestivas aumentando a viscosidade do quimo, diminuindo as atividades das enzimas digestivas (Liu *etal.*, 2022). Essa viscosidade diminui a taxa de difusão de substratos e enzimas digestivas e impede suas interações na superfície da mucosa intestinal, levando ao comprometimento da digestão e da absorção de nutrientes. Além disso, viscosidadedigesta interfere na microflora intestinal e nas funções fisiológicas do intestino (Yang *et al.*, 2019).

Jiang *et al.* (2022) observaram que PNAs afetam negativamente o desempenho e a saúde da tilápia, e a suplementação com PNAi pode melhorar os efeitos negativos produzidos pelos PNAs. Os efeitos negativos dos PNAs podem ser, principalmente pela presença de arabinosilanos e mananos, não β -glucano e pectina. Portanto, pode-se considerar que as alterações nas atividades das enzimas digestivas causadas por diferentes PNAs na dieta podem estar relacionadas às propriedades físicas e componentes.

1.5 Relação dos parâmetros bioquímicos do plasma sanguíneo com o estado nutricional e imunológico dos animais aquáticos alimentados com dietas contendo DDGS

O estado nutricional e o bem-estar dos animais aquáticos podem ser avaliados através dos parâmetros bioquímicos no plasma sanguíneo (Allam *et al.*, 2020). A composição bioquímica do plasma sanguíneo depende da espécie, hábito alimentar, sexo, idade, estado nutricional e circunstâncias ambientais ao qual estão inseridos (Sándor *et al.*, 2021). A substituição da farinha de peixe por fonte de proteína alternativa, como o DDGS de milho, pode afetar o metabolismo e a saúde, se adicionados nas dietas em quantidades que não atendam às exigências nutricionais do animal.

Por isso, é essencial verificar o estado de saúde dos peixes e camarões após terem sido alimentados com fonte alternativa de proteína (Ray *et al.*, 2022). Indicadores de estresse e índices metabólicos são encontrados, principalmente na hemolinfa dos camarões e sangue dos peixes (de Jesús Becerra-Dorame *et al.*, 2014). Dentre os parâmetros bioquímicos, proteínas totais (PT), glicose (GLI), triglicerídeos (TGC), colesterol (CT), fosfatase alcalina (ALP), alanina transaminase (ALT) e dentre as atividades antioxidantes, incluindo capacidade antioxidante total (CAT) e superóxido dismutase (SOD), desempenham papel essencial e ajudam a compreender o sistema imunológico dos peixes e camarões (Sun *et al.*, 2015). Um aumento nos metabólitos séricos, incluindo ALP, ajuda a melhorar o sistema imunológico de animais aquáticos (Gyan *et al.*, 2020). Também é importante para avaliar o nível de fosfato, que é atribuído ao fósforo digestível disponível presente no DDGS em comparação com outros ingredientes vegetais (Révész *et al.*, 2020).

Alguns dos constituintes contidos no DDGS incluem células de levedura (Böttger e Sudekum, 2018). Existem aproximadamente 3,9% de células de levedura na biomassa de DDGS; no entanto, o teor de proteína da levedura representa até 5,3% da proteína total do DDGS (Ingledew, 1999). Alguns dos componentes nutricionais encontrados na levedura

que ajudar a melhorar o sistema imunológico de animais aquáticos incluem proteínas, β -glucanos e complexo vitamínico B (Oliva-Teles, 2012).

Parâmetros bioquímicos e atividades antioxidantes no plasma sanguíneo, incluindo ALP e SOD, aumentam nos animais aquáticos quando alimentados com dietas contendo β -glucanas, leveduras entre outros, e esses constituintes estão presentes no DDGS (Oliva-Teles, 2012). No entanto, a composição nutricional do DDGS é dependente do grão utilizado em sua produção. Por exemplo, o conteúdo de β -glucano encontrado no DDGS de trigo (1,76%) é aproximadamente três vezes maior do que o DDGS de milho (0,57%). As funções de β -glucano encontradas em levedura na forma purificada, ou como subproduto de levedura, ou levedura viva, podem estimular as respostas imunes e aumentar a resistência a doenças em animais (Ray *et al.*, 2022).

É necessário estudos sobre os efeitos do DDGS nos sistemas de saúde de peixes e camarões. Isso ajudará os nutricionistas a compreender os impactos do DDGS na saúde dos peixes e a beneficiar os aquicultores para conhecer a quantidade ideal de DDGS que pode ser incluída na alimentação para melhorar o desempenho e a saúde dos animais. O DDGS de milho em dietas para peixes teve efeitos significativos na saúde dos peixes, incluindo a imunoglobulina sérica total e títulos de anticorpos em bagres de canal *Ictalurus punctatus* (Limet *et al.*, 2009). O estudo anterior observou ainda maior resistência a doença quando os peixes alimentados com DDGS de milho foram infectados com *Edwardsiella ictaluri* comparados com os peixes alimentados com a dieta controle (Limet *et al.*, 2009). Este resultado mostra que o DDGS tem efeito positivo na saúde dos peixes e também pode aumentar a resistência a doenças quando incluídos em dietas para peixes.

Outros autores propuseram que o aumento da resistência à doença no bagre do canal (*Ictalurus punctatus*), pode ser por causa da levedura de cerveja e β -glucana e nucleotídeos encontrados em DDGS (Limet *et al.*, 2009). Diógenes *et al.* (2018) relataram que juvenis de pregados (*Scophthalmus maximus*), alimentados com diferentes níveis de DDGS nas dietas, não tiveram diferenças significativas em parâmetros bioquímicos no plasma sanguíneo para proteínas totais, triglicerídeos, albumina, glicogênio e glicose. O mesmo foi observado por Li *et al.*, (2011), quando bagres de canal (*Ictalurus punctatus*), foram alimentados com dietas contendo vários níveis de DDGS de trigo e que a taxa de sobrevivência não foi afetada mesmo quando os peixes foram desafiados com *Streptococcus iniae*. Os autores também perceberam que 30% do DDGS de trigo incluído na dieta de tilápias sem suplementação de lisina poderia ajudar o sistema imunológico dos peixes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Allam, BelalWagih et al. Impact of substitution of fish meal by high protein distillers dried grains on growth performance, plasma protein and economic benefit of striped catfish (*Pangasianodonhypophthalmus*). *Aquaculture*, v. 517, p. 734792, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734792>

Arriaga-Hernández, D., Hernández, C., Martínez-Montaña, E., Ibarra-Castro, L., Lizárraga-Velázquez, E., Leyva-López, N., and Chávez-Sánchez, M. C. (2021). Fish meal replacement by soybean products in aquaculture feeds for white snook, *Centropomusviridis*: Effect on growth, diet digestibility, and digestive capacity. *Aquaculture*, 530, 735823. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735823>

Bedford, M. R. (2018). The evolution and application of enzymes in the animal feed industry: the role of data interpretation. *British Poultry Science*, 59(5), 486-493. <https://doi.org/10.1080/00071668.2018.1484074>

Böttger, C., and Südekum, K. H. (2018). protein value of distillers dried grains with solubles (DDGS) in animal nutrition as affected by the ethanol production process. *Animal feed science and technology*, 244, 11-17. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.07.018>

Brito, J. M., Wernick, B., da Cruz, T. P., Furuya, L. B., Miranda, J. A. G., Rudnik, A. R. and Furuya, W. M. (2021). Top-spraying xylanase and β -glucanase improves digestible energy content and optimizes protein and amino acids digestibility in high-fiber diet fed to growing Nile tilapia. *Animal Feed Science and Technology*, 278, 114991. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.114991>

Buenavista, Rañia Marie E.; Siliveru, Kaliramesh; Zheng, Yi. Utilization of distiller's dried grains with solubles: A review. *Journal of Agriculture and Food Research*, v. 5, p. 100195, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100195>

Castillo, S., Gatlin, D.M., 2015. Dietary supplementation of exogenous carbohydrase enzymes in fish nutrition: A review. *Aquaculture* 435, 286–292. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.10.011>

Choct, M., 1997. Feed non-starch polysaccharides: Chemical structures and nutritional significance. *Feed milling international* 13–26.

Clementson, C., Ileleji, K. E., and Strohshine, R. L. (2009). Particle segregation within a pile of bulk Distillers Dried Grains with Solubles (DDGS) and variability of nutrient content. *Cereal chemistry*, 86(3), 267-273. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-86-3-0267>

Cosson, T., Vendrell, A. m. p., Teresa, B. g., Reñé, D., Taillade, P., Brufau, J., 1999. Enzymatic assays for xylanase and β -glucanase feed enzymes. *Animal Feed Science and Technology* 77, 345–353.

Coughlan, M.P., Hazlewood, G., 1993. Beta-1,4-D-xylan-degrading enzyme systems: biochemistry, molecular biology and applications. *Biotechnology and Applied Biochemistry* 17, 259–289.

Coyle, S.D., Mengel, G.J., Tidwell, J.H., Webster, C.D., 2004. Evaluation of growth, feed utilization, and economics of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus x Oreochromis aureus*, fed diets containing different protein sources in combination with distillers dried grains with solubles. *Aquac. Res.* 35, 365–370.

de Sousa, L. S. (2017). Efeito da fonte de fibra e uso de xilanase sobre desempenho, qualidade de ovos e biometria dos órgãos gastrointestinais de poedeiras leves.

de Jesus Becerra-Dorame, M., Martinez-Cordova, L. R., Martínez-Porchas, M., Hernández-López, J., López-Elías, J. A., and Mendoza-Cano, F. (2014). Effect of using autotrophic and heterotrophic microbial-based-systems for the pre-grown of *Litopenaeus vannamei*, on the production performance and selected haemolymph parameters. *Aquac. Res.* 45(5), 944-948. <https://doi:10.1111/are.12033>

Deng, J., Zhang, X., Sun, Y., Mi, H., and Zhang, L. (2021). Effects of different types of non-starch polysaccharides on growth, digestive enzyme activity, intestinal barrier function and antioxidant activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Reports*, 21, 100864. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100864>

Diógenes, A. F., Castro, C., Carvalho, M., Magalhães, R., Estevão-Rodrigues, T. T., Serra, C. R., ... and Peres, H. (2018). Exogenous enzymes supplementation enhances diet digestibility and digestive function and affects intestinal microbiota of turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles fed distillers' dried grains with solubles (DDGS) based diets. *Aquaculture*, 486, 42-50. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.12.013>

FAO. 2022. FAO publications catalogue 2022 – October. Rome. <https://doi.org/10.4060/CC2323en>

Galgani, F. G., Benyamin, Y., and Ceccaldi, H. J. (1984). Identification of digestive proteinases of *Penaeus kerathurus* (Forskål): a comparison with *Penaeus japonicus* Bate. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 78(2), 355-361. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(84\)90043-9](https://doi.org/10.1016/0305-0491(84)90043-9)

Glencross, B., Rutherford, N., and Bourne, N. (2012). The influence of various starch and non-starch polysaccharides on the digestibility of diets fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 356, 141-146. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.05.023>

Gyan, W. R., Yang, Q., Tan, B., Jan, S. S., Jiang, L., Chi, S., ... and Shuang, Z. (2020). Effects of antimicrobial peptides on growth, feed utilization, serum biochemical indices and disease resistance of juvenile shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, 51(3), 1222-1231. <https://doi.org/10.1111/are.14473>

Hassaan, M. S., Mohammady, E. Y., Soaudy, M. R., and Abdel Rahman, A. A. (2019). Exogenous xylanase improves growth, protein digestibility and digestive enzymes activities in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fed different ratios of fish meal to sunflower meal. *Aquaculture Nutrition*, 25(4), 841-853. <https://doi.org/10.1111/anu.12903>

Hodar, A. R., Vasava, R. J., Mahavadiya, D. R., and Joshi, N. H. (2020). Fish meal and fish oil replacement for aqua feed formulation by using alternative sources: A review. *J. Exp. Zool. India*, 23(1), 13-21.

Imran, M., Nazar, M., Saif, M., Khan, M. A., Sanaullah, D., Vardan, M., and Javed, O. (2016). Role of enzymes in animal nutrition: a review. *PSM Vet Res*, 1(2), 38-45. <https://doi.org/10.1111/anu.12903>

Ingledeu, W. M. (1999). Yeast-could you base a business on this bug. In *Under the microscope—focal points for the new millennium—biotechnology in the feed industry. Proceedings of Alltech's 15th Annual Symposium*. Nottingham University Press, Nottingham, UK (pp. 27-47).

Jiang, W., Zhang, Y., Yuan, M., Liu, Y., Deng, J., and Tan, B. (2022). Effects of different types of non-starch polysaccharides on growth, digestive enzyme activity, intestinal barrier function and antioxidant activity of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Reports*, 25, 101198. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101198>

Jones, M. K., Ferrel, J. E., Castro, F. L. S., and Pacheco, W. J. (2022). The effects of various levels of distillers dried grains with solubles (DDGS) and a dacitic (rhyolitic) tuff breccia on pellet production rate and durability. *Journal of Applied Poultry Research*, 31(2), 100250. <https://doi.org/10.1016/j.japr.2022.100250>

Knudsen, K. B. (2001). The nutritional significance of “dietary fibre” analysis. *Animal feed science and technology*, 90(1-2), 3-20. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(01\)00193-6](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(01)00193-6)

Kulkarni, N., Abhay Shendye, M.R., 1999. Molecular and biotechnological aspects of xylanases. *FEMS Microbiology Reviews* 23, 411–456.

Leenhouders, J. I., ter Veld, M., Verreth, J. A., and Schrama, J. W. (2007). Digesta characteristics and performance of African catfish (*Clarias gariepinus*) fed cereal grains that differ in viscosity. *Aquaculture*, 264(1-4), 330-341. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.01.003>

Lemos, D., Lawrence, A.L., Siccardi, A.J., 2009. Prediction of apparent protein digestibility of ingredients and diets by in vitro pH-stat degree of protein hydrolysis with K.R.B.

Li, M.H., Oberle, D.F., Lucas, P.M., 2011. Evaluation of corn distillers dried grains with solubles and brewers yeast in diets for channel catfish *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). *Aquac. Res.* 42, 1424–1430. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02734.x>.

Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., and Klesius, P. H. (2009). Growth response and resistance to *Edwardsiella ictaluri* of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, fed diets containing distiller's dried grains with solubles. *Journal of the World Aquaculture Society*, 40(2), 182-193. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2009.00241.x>

Liu, KeShun. Chemical composition of distillers grains, a review. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 59, n. 5, p. 1508-1526, 2011. <https://doi.org/10.1021/jf103512z>

Liu, Y., Deng, J.M., Tan, B.P., Xie S.W., Zhang, W. (2022). Effects of soluble and insoluble non-starch polysaccharides on growth performance, digestive enzyme activity, antioxidant capacity, and intestinal flora of juvenile genetic of improvement of farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) *Front. Mar. Sci.*, 9, Article 872577, <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.872577>

Lo, M. J., and Weng, C. F. (2006). Developmental regulation of gastric pepsin and pancreatic serine protease in larvae of the euryhaline teleost, *Oreochromis mossambicus*. *Aquaculture*, 261(4), 1403-1412. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.09.016>

Lovell, R. T. (1980). Nutritional value of solid by-products from ethanol production from corn. Auburn Technical Assistance Center, Auburn University, Auburn, Alabama, USA.

Maas, R. M., Verdegem, M. C., Debnath, S., Marchal, L., and Schrama, J. W. (2021). Effect of enzymes (phytase and xylanase), probiotics (*B. amyloliquefaciens*) and their combination on growth performance and nutrient utilisation in Nile tilapia. *Aquaculture*, 533, 736226. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736226>

Maas, R. M., Verdegem, M. C., Wiegertjes, G. F., and Schrama, J. W. (2020). Carbohydrate utilisation by tilapia: a meta-analytical approach. *Reviews in Aquaculture*, 12(3), 1851-1866.

<https://doi.org/10.1111/raq.12413>

Magalhães, R., Coutinho, F., Pousão-Ferreira, P., Aires, T., Oliva-Teles, A., Peres, H., 2015. Corn distiller's dried grains with solubles: apparent digestibility and digestive enzymes activities in European seabass (*Dicentrarchus labrax*) and meagre (*Argyrosomus regius*). *Aquaculture* 443, 90–97. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.03.016>

Malvandi, A., Coleman, D. N., Loor, J. J., and Feng, H. (2022). A novel sub-pilot-scale direct-contact ultrasonic dehydration technology for sustainable production of distillers dried grains (DDG). *Ultrasonics Sonochemistry*, 85, 105982.

<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.105982>

Nakamura, J. S. T., de Macêdo, É. S., da Cruz, T. P., Panaczewicz, P. A. P., Urbich, A. V., Wernick, B. and Furuya, W. M. (2022). Top-sprayed mixture of phytase, xylanase and β -glucanase enhances energy and nutrient matrix in all-vegetable diets for Nile tilapia. *Aquaculture Research*, 53(7), 2851-2864. <https://doi.org/10.1111/are.15800>

Ojha, B. K., Singh, P. K., and Shrivastava, N. (2019). Enzymes in the animal feed industry. In *Enzymes in food biotechnology* (pp. 93-109). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813280-7.00007-4>

Oliva-Teles, A. (2012). Nutrition and health of aquaculture fish. *Journal of fish diseases*, 35(2), 83-108. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2011.01333.x>

Oliva-Teles, A.; Enes, P.; Peres, H. (2015) Replacing fishmeal and fish oil in industrial aquafeeds for carnivorous fish. *Feed and feeding practices in aquaculture*, p. 203-233. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100506-4.00008-8>

Oliveira, et al. *Animal Feed Science and Technology* 262 (2020) 1143939 species-specific enzymes for juvenile Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 295, 89–98. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.06.011>.

Oliveira, K. R., Segura, J. G., Oliveira, B. A., Medeiros, A. C. L., Zimba, R. D., and Viegas, E. M. (2020). Distillers' dried grains with soluble in diets for Pacu, *Piaractusmesopotamicus* juveniles: Growth performance, feed utilization, economic viability, and phosphorus release. *Animal Feed Science and Technology*, 262, 114393. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114393>

Oliveira, K. R. B., Peres, H., Oliva-Teles, A., Marconi, J. N., Paulino, R. R., Diógenes, A. F., and Viegas, E. M. M. (2021). Maize distillers dried grains with solubles alter dietary digestibility and improve intestine health of pacu, *Piaractusmesopotamicus* juveniles. *British Journal of Nutrition*, 125(12), 1331-1343. <https://doi.org/10.1017/S0007114520003645>

Overland, M., Krogdahl, Å, Shurson, G., Skrede, A., Denstadli, V., 2013. Evaluation of distiller's dried grains with solubles (DDGS) and high protein distiller's dried grains (HPDDG) in diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 416-417, 201–208. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.09.016>.

Pedersen, M. B., Dalsgaard, S., Knudsen, K. B., Yu, S., and Lærke, H. N. (2014). Compositional profile and variation of distillers dried grains with solubles from various origins with focus on non-starch polysaccharides. *Animal Feed Science and Technology*, 197, 130-141. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.07.011>

Ravindran, V. (2013). Feed enzymes: The science, practice, and metabolic realities. *Journal of Applied Poultry Research*, 22(3), 628-636.

Ray, Gyan Watson et al. A Review on the Use of Distillers Dried Grains with Solubles (DDGS) in Aquaculture Feeds. *Annals of Animal Science*, v. 22, n. 1, p. 21-42, 2022. <https://doi.org/10.2478/aoas-2021-0041>

Ray, Gyan Watson et al. Effects of replacing fishmeal with dietary soybean protein concentrate (SPC) on growth, serum biochemical indices, and antioxidative functions for juvenile shrimp *Litopenaeusvannamei*. *Aquaculture*, v. 516, p. 734630, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734630>

Révész, N., Kumar, S., Bogevik, A. S., Fazekas, G., Jeney, Z., Hegyi, Á., and Sándor, Z. J. (2020). Effect of temperature on digestibility, growth performance and nutrient utilization of corn distiller's dried grains with soluble (DDGS) in *Common carp* juveniles. *Aquaculture Research*, 51(2), 828-835. <https://doi.org/10.1111/are.14432>

Refstie, S., Svihus, B., Shearer, K. D., and Storebakken, T. (1999). Nutrient digestibility in *Atlantic salmon* and broiler chickens related to viscosity and non-starch polysaccharide content in different soyabean products. *Animal Feed Science and Technology*, 79(4), 331-345. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(99\)00026-7](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(99)00026-7)

Rodrigues, S. R., Dalmoro, V., and dos Santos, J. H. (2020). An evaluation of *Acacia mearnsii* tannin as an aluminum corrosion inhibitor in acid, alkaline, and neutral media. *Materials and Corrosion*, 71(7), 1160-1174. <https://doi.org/10.1002/maco.201911407>

Sándor, Z. J., Révész, N., Varga, D., Tóth, F., Ardó, L., and Gyalog, G. (2021). Nutritional and economic benefits of using DDGS (distiller'dried grains soluble) as feed ingredient in common carp semi-intensive pond culture. *Aquaculture Reports*, 21, 100819. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100653>

Shekarabi, S. P. H., Ghodrati, M., Dawood, M. A., Masouleh, A. S., and Roudbaraki, A. F. (2022). The multi-enzymes and probiotics mixture improves the growth performance, digestibility, intestinal health, and immune response of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). *Annals of Animal Science*. <https://orcid.org/0000-0002-6407-4004>

Signor, A., Lewandowski, V., Silva, R. A. D., Fries, E. M., and Schuller, J. M. (2016). Effect of phytase on digestibility of corn, sorghum and wheat bran by silver catfish (*Rhamdiavoulezzi*). *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 38, 355-359. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v38i4.32054>

Sinha, A. K., Kumar, V., Makkar, H. P., De Boeck, G., and Becker, K. (2011). Non-starch polysaccharides and their role in fish nutrition—A review. *Food Chemistry*, 127(4), 1409-1426. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.042>

Suehs, Blaine A.; Gatlin, Delbert M. Evaluation of a Commercial High-Protein Distiller's Dried Grain with Solubles (HP-DDGS) Product in the Diet of Juvenile Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Nutrition*, v. 2022, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/1648747>

Sun, C. B., Wang, G., and Chan, S. F. (2015). Effects of artificial infection of *Litopenaeus vannamei* by *Micrococcus lysodeikticus* and WSSV on the activity of immunity related enzymes. *Fish and shellfish immunology*, 46(2), 778-786. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.06.029>

Suprayudi, M.A., Yaniharto, D., Priyoutomo, N., Kurnianto, A., Ekasari, J., Jusadi, D., Haga, Y., 2015. Evaluation of practical diets containing high levels of corn distillers dried grains with soluble on red tilapia floating net cage production performance. *Pak. J. Nutr.* 14, 708–711.

Tawfik, W., Nassef, E., Bakr, A., Hegazi, E., Ismail, T. A., Abdelazim, A. M., ... and Sharoba, A. M. (2022). Orange pulp in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diets: Growth performance, biochemical parameters and gene expression for growth and fat metabolism. *Aquaculture Reports*, 22, 100970. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100970>

Velázquez-De Lucio, B. S., Hernández-Domínguez, E. M., Villa-García, M., Díaz-Godínez, G., Mandujano-González, V., Mendoza-Mendoza, B., and Álvarez-Cervantes, J. (2021). Exogenous enzymes as zootechnical additives in animal feed: a review. *Catalysts*, 11(7), 851. <https://doi.org/10.3390/catal11070851>

Webster, C.D., Rawles, S.D., Koch, J.F., Thompson, K.R., Kobayashi, Y., Gannam, A.L., Twibell, R.G., Hyde, N.M., 2016. Bio-Ag reutilization of distiller's dried grains with solubles (DDGS) as a substrate for black soldier fly larvae, *Hermetia illucens*, along with poultry by-product meal and soybean meal, as total replacement of fish meal in diets for Nile tilapia. *Aquac. Nutr.* 22, 976–988. <https://doi.org/10.1111/anu.12316>

Welker, T.L., Lim, C., Barrows, F.T., Liu, K., 2014. Use of distiller's dried grains with solubles (DDGS) in rainbow trout feeds. *Anim. Feed Sci. Tech.* 195, 47–57. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.05.011>

Yang, P., Hu, H., Li, Y., Ai, Q., Zhang, W., Zhang, Y., and Mai, K. (2019). Effect of dietary xylan on immune response, tight junction protein expression and bacterial community in the intestine of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture*, 512, 734361. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734361>

Yang, Z. et al. 2021. Determination, comparison, and prediction of digestible energy, metabolizable energy, and standardized ileal digestibility of amino acids in novel maize co-products and conventional distillers dried grains with solubles for swine. *Animal Feed Science and Technology*, v. 282, p. 115149 <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.115149>

Yin, Y.L., McEvoy, J.D.G., Schulze, H., Hennig, U., Souffrant, W.B., McCracken, K.J., 2000. Apparent digestibility (ileal and overall) of nutrients and endogenous nitrogen losses in growing pigs fed wheat (var. Soissons) or its by-products without or with xylanase supplementation. *Livestock Production Science* 62, 119–132. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(99\)00129-3](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(99)00129-3)

Zhang, Y.K. and Wang Y.Y. (2012). Advances in the study of soybean non-starch polysaccharides North. *Chin. Aquac.*, 3 pp. 39-42, <https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-2419.2012.03.021>

Zheng, C. C., Wu, J. W., Jin, Z. H., Ye, Z. F., Yang, S., Sun, Y. Q., and Fei, H. (2020). Exogenous enzymes as functional additives in finfish aquaculture. *Aquaculture Nutrition*, 26(2), 213-224. <https://doi.org/10.1111/anu.12995>

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

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

3.2 Específicos

- Avaliar o desempenho produtivo e composição corporal de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas vegetais contendo farelo de soja e grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) de milho suplementadas ou não com o complexo enzimático xilanase e β -glucanases;
- Avaliar as respostas dos parâmetros bioquímicos no plasma sanguíneo de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas vegetais contendo farelo de soja e grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) de milho suplementadas ou não com o complexo enzimático xilanase e β -glucanases;
- Avaliar às atividades das enzimas digestivas endógenas: protease, amilase e lipase de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas vegetais contendo farelo de soja e grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) de milho suplementadas ou não com o complexo enzimático XB;
- Determinar os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, energia bruta, proteína bruta, extrato etéreo e cinzas de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas vegetais contendo farelo de soja e grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) de milho suplementadas ou não com o complexo enzimático xilanase e β -glucanases.

CAPÍTULO II – ARTIGO CIENTÍFICO

Artigo redigido conforme as normas de publicação da Aquaculture

1 **Melhorando o desempenho produtivo e digestibilidade de juvenis de**
2 **tilápia-do-Nilo através da suplementação de xilanase mais β -glucanase**
3 **sobre dietas com grãos secos de destilaria com solúveis de milho**

4

5

Resumo

6 Este estudo teve como objetivo determinar o efeito da suplementação com xilanase e β -
7 glucanase (XB) sobre o desempenho zootécnico, parâmetros sanguíneos, atividade de
8 enzimas digestivas e coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) em juvenis de
9 tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus* alimentados com grãos secos de destilaria com
10 solúveis (DDGS) de dietas contendo milho. Foi utilizado um planejamento fatorial 2x2,
11 com dois níveis de suplementação de DDGS, dieta sem DDGS (controle) ou com 185 g
12 kg^{-1} de DDGS de milho, não suplementada ou suplementada com 0,2 g kg^{-1} XB. Cada
13 dieta foi testada usando quatro réplicas de 12 peixes cada. Os peixes ($n= 192$; $7,49 \pm$
14 $0,07$ g) foram alimentados à mão seis vezes ao dia até aparente saciedade durante oito
15 semanas. Os peixes alimentados com dietas contendo DDGS apresentaram maior ganho
16 de peso, eficiência de retenção de energia, CDA dos lipídios totais e atividade das
17 enzimas digestiva amilase e lipase em relação aos alimentados com a dieta controle.
18 Peixes alimentados com dietas com adição de XB apresentaram maior eficiência
19 alimentar (+12,7%), eficiência de retenção de energia (+12,5%), lipídios totais corporal
20 (+6,5%), colesterol plasmático (+5,7%), atividade da enzima lipase (+18,0%) e CDA
21 dos lipídios (+8,8%) em relação aos alimentados com dietas não suplementadas com
22 XB. XB em dietas com DDGS promoveu aumento dos teores de energia digestível (ED)
23 e proteína digestível (PD) em 2,1 MJ kg^{-1} de dieta e 13,5 g kg^{-1} de dieta,
24 respectivamente, em relação aos valores encontrados em peixes alimentados com dietas
25 sem DDGS e sem XB. Notavelmente, XB diminuiu a viscosidade fecal (-30,3%) em

26 peixes alimentados com dieta com DDGS. A análise de componentes principais (PCA)
27 identificou que a viscosidade foi correlacionada negativamente a atividade das enzimas
28 digestivas protease e amilase, enquanto a atividade da lipase foi correlacionada
29 positivamente com a eficiência alimentar, enquanto a atividade da protease foi
30 correlacionada positivamente com o ganho de peso dos peixes. Concluiu-
31 se que XB p reduz a viscosidade e conseqüentemente aumenta a digestibilidade de
32 nutrientes, promovendo melhoria no desempenho produtivo de juvenis de tilápia-do-
33 Nilo.

34

35 **Palavras -chave:** energia digestível, coproduto etanol, carboidrase exógena,
36 polissacarídeos não amiláceos, digestibilidade de nutrientes, *Oreochromis niloticus*.

37 **Abreviaturas:**

38 CDA, coeficientes de digestibilidade aparente; DDGS, grãos secos de destilaria com
39 solúveis; DE, energia digestível; DP, proteína digestível; PNA, polissacarídeos não
40 amiláceos; PCA, análise de componentes principais; XB, xilanase mais β -glucanase.

41

42 **1. Introdução**

43 Uma expansão no uso de cereais, leguminosas e coprodutos está apoiando a
44 sustentabilidade a longo prazo da indústria da aquicultura (Chatvijitkulet *et al.*, 2016;
45 Jannathulla *et al.*, 2019). À medida que a indústria do etanol continua a se expandir, os
46 grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) do milho emergiram como matéria-
47 prima competitiva reduzida para rações em rações aquáticas (Taconet *et al.*, 2022).
48 Notavelmente, os grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) de milho, um
49 coproduto não fermentável da indústria do etanol, é um ingrediente alimentar promissor
50 na aquicultura, pois contém altas concentrações de nutrientes essenciais, exceto o amido
51 (Jaworski *et al.*, 2015). No entanto, a inclusão de DDGS na alimentação aquática é
52 limitada por vários fatores antinutricionais, particularmente os componentes da fibra
53 dietética na parede celular (Ray *et al.*, 2022). Notavelmente, o milho DDGS contém 3 a
54 3,5 vezes mais polissacarídeos não amiláceos (PNA) na fração de fibra do que o grão de
55 milho (NuezOrtín e Yu, 2009), composto principalmente de arabinoxilano e beta-
56 glucanos (KE Bach Knudsen, 1997; Englyst, 1989). Estudos anteriores mostraram
57 consistentemente que PNA em grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) de milho
58 prejudicam significativamente a digestão e a absorção de nutrientes em tilápia-do-Nilo,
59 *Oreochromis niloticus* (Haidar *et al.*, 2016; Sinha *et al.*, 2011).

60 Verificou-se que altos níveis de PNA aumentam a viscosidade do quimo e diminuem
61 a atividade das enzimas digestivas em peixes (Kabire *et al.*, 2020; Magalhães *et al.*, 2016;
62 Tu-Tran *et al.*, 2020), bem como aumentam a fração não digerida em peixes (Jascha I.
63 Leenhouwers *et al.*, 2007; J I Leenhouwers *et al.*, 2007; Refstie *et al.*, 1999). No entanto,
64 o uso de carboidratos pode mitigar esses efeitos adversos e reduzir o impacto de
65 alimentos ricos em fibras na alimentação aquática (Castillo and Gatlin, 2015; Zheng *et al.*,
66 *et al.*, 2020). Sabe-se que nenhuma pesquisa estudou os efeitos combinados de XB no

67 desempenho produtivo, atividade de enzimas digestivas, digestibilidade e respostas
68 bioquímicas em tilápia-do-Nilo alimentadas com dietas contendo DDGS.

69 Enzimas de carbohidrase exógenas desempenham papel crucial no aumento do valor
70 nutricional de rações aquáticas ricas em PNA (Ghosh *et al.*, 2019). A combinação de
71 xilanase e β -glucanase (XB) demonstrou efetivamente quebrar os componentes da
72 parede celular da planta em rações ricas em PNA, reduzindo seu peso molecular e
73 aumentando a energia e a digestibilidade dos nutrientes na tilápia-do-Nilo (Dalsgaard *et*
74 *al.*, 2012; Hassaan *et al.*, 2019; Kamalam *et al.*, 2017). Estudos recentes documentaram
75 os efeitos positivos da xilanase exógena (Hassaan *et al.*, 2019; Maas *et al.*, 2020, 2018;
76 Wallace *et al.*, 2016) e da combinação de XB em dietas ricas em trigo e farelo de soja em
77 tilápia-do-Nilo (Brito *et al.*, 2021; Maas *et al.*, 2021; Tachibana *et al.*, 2010). Pesquisas
78 anteriores também identificaram melhorias na morfologia dos peixes devido à xilanase
79 na carpa Jian, *Cyprinus carpio* var. Jian (Jiang *et al.*, 2014), e xilanase (A. A. Adeoye *et*
80 *al.*, 2016; A. A. Adeoye *et al.*, 2016) e uma mistura de XB em tilápia-do-Nilo alimentadas
81 com dietas à base de farelo de trigo e soja (Brito *et al.*, 2021). No entanto, os efeitos do
82 XB líquido em dietas contendo DDGS na histologia intestinal em tilápia-do-
83 Nilopermanecem pouco compreendidos

84 Melhorar os benefícios econômicos e o fornecimento preciso de nutrientes é crucial
85 na indústria da tilápia. Portanto, a suplementação de carboidratos exógenos, como
86 mistura de xilanase e beta-glucanase (XB), pode ser uma estratégia bem-sucedida para
87 aliviar os efeitos adversos da PNA em dietas contendo DDGS fornecidas à tilápia-do-
88 Nilo. No entanto, o mecanismo subjacente dos efeitos do XB na viscosidade da digesta
89 e seu impacto na digestibilidade e no desempenho produtivo não são totalmente
90 compreendidos. Neste estudo serão investigados os efeitos da mistura de xilanase
91 exógena e beta-glucanase (XB) no desempenho produtivo, parâmetros bioquímicos

92 plasmáticos, atividade de enzimas digestivas e digestibilidade em juvenis de tilápia-do-
93 Nilo alimentados com dietas contendo DDGS. A hipótese é que a suplementação de XB
94 aumentará o valor nutritivo das dietas contendo DDGS e melhorará o desempenho
95 produtivo dos peixes. Essas descobertas fornecerão informações valiosas para a
96 indústria de tilápia na otimização de formulações de rações e na melhoria da eficiência
97 da produção de tilápia.

98 **2. Material e métodos**

99 *2.1 Declaração de Ética*

100 O experimento foi conduzido no Laboratório de Animais Silvestres e Aquicultura da
101 Universidade Estadual de Ponta Grossa (Ponta Grossa, PR, Brasil). O protocolo do
102 experimento foi aprovado pela Comissão de Cuidados e Uso de Animais da
103 Universidade Estadual de Ponta Grossa (Alvará número 132808/2019). Os peixes foram
104 anestesiados com MS-222 (Sigma-Aldrich) a 200 mg L⁻¹ de água, seguindo o método
105 padrão (Smith et al., 1999). Os procedimentos de eutanásia foram realizados de acordo
106 com o método de duas etapas descrito pela American Veterinary Medical
107 Association (AVMA, 2020) usando a primeira etapa com MS-222 a 800 mg L⁻¹ de água e a
108 segunda etapa com percussão perfurante.

109 *2.2 Desenho experimental e tratamentos*

110 O total de 192 tilápia-do-Nilo masculinizadas com 7 semanas de idade foram
111 distribuídas aleatoriamente em quatro tratamentos, cada um com quatro repetições (12
112 peixes por repetição) em um planejamento fatorial 2x2. O delineamento incluiu dois
113 níveis de inclusão de DDGS na dieta: sem (controle) ou com (185 g kg⁻¹ dieta), não
114 suplementado (-XB) ou suplementado (+XB) com 0,2 g kg⁻¹ de dieta misturada XB.

115 2.3 Dietas experimentais

116 A formulação da dieta envolveu a análise dos valores da composição dos alimentos e
117 sua confirmação após os processos de extrusão e secagem. O nível de inclusão de
118 DDGS (187,5 g kg⁻¹dieta) foi determinado com base no valor médio para otimizar o
119 desempenho produtivo (200 g kg⁻¹dieta) e eficiência alimentar (170 g kg⁻¹dieta) de
120 tilápia-do-Nilo(Schaeffer et al., 2010), considerando também o nível mínimo de amido
121 de 280 g kg⁻¹para otimizar a fluabilidade do pellet (Kannadhasan *et al.*, 2011), e
122 garantindo dietas isoenergéticas e isoproteicas para atender às exigências dietéticas da
123 tilápia-do-Nilo(NRC, 2011), resultando em 185 g kg⁻¹de DDGS na dieta. Os macro e
124 micro ingredientes da ração foram misturados e moídos em moinho centrífugo (Viera
125 MC 680B, Tatuí, SP, Brasil) com peneira de furos de 0,8 mm de diâmetro. A extrusão
126 foi realizada em extrusora de rosca simples (Exteec EX30, Ribeirão Preto, SP, Brasil)
127 com furo na matriz de 2,5 mm de diâmetro, três “facas” a 40 rotações/min e temperatura
128 final da matriz de 92°C, produzindo pellets de 3 a 4 mm de diâmetro.

129 Todas as dietas foram secas em estufa de ventilação forçada (HexisHX00, Jundiaí,
130 SP, Brasil) a 55°C por 24 horas. Posteriormente, 0,2 g da preparação XB (Natugrain®
131 TS L, contendo 5.600 TXU g⁻¹ de endo-1,4-β-xilanase e 2.500 TGU g⁻¹ de 1,4-β-
132 glucanase; Basf, Ludwigshafen amRhein , Alemanha) foi diluído em 298,8 mL de água
133 deionizada e pulverizado sobre cada quilograma de dieta para fornecer 1.120 kg⁻¹de
134 dieta de endo-1,4-β-xilanase e 500 TGU kg⁻¹de dieta de 1,4-β -glucanase. Em seguida,
135 as rações foram secas em estufa de circulação forçada de ar (HexisHX00, Jundiaí, SP,
136 Brasil) a 55°C por 2 horas para obtenção de igual teor de umidade de 7%. O mesmo
137 procedimento foi realizado em dietas não suplementadas com XB, mas sem incluir XB
138 na água deionizada.

139 A análise laboratorial confirmou que a dieta controle e a dieta contendo DDGS com
140 XB apresentaram níveis enzimáticos de 1122 TXU/kg de 1,4- β -xilanase e 512 TGU/kg
141 de 1,4- β -glucanase e 1126 TXU/kg de 1,4- β -xilanase e 511 TGU/kg de 1,4- β -glucanase,
142 respectivamente. A dose selecionada da preparação enzimática exógena foi estabelecida
143 com base em valores previamente publicados em nosso laboratório para tilápia-do-
144 Nilo(Brito *et al.*, 2021). O conteúdo total de PNA, arabinosilano e β -glucanos das dietas
145 foi estimado usando valores previamente determinados a partir de ingredientes da
146 ração(Bach Knudsen, 2014; Pedersen *et al.*, 2014)s apresentados na Tabela 1.

147 *2.4 Peixes e condições experimentais*

148 Juvenis machos de tilápia-do-Nilo(cepa GIFT, n = 1000; peso corporal de $3,0 \pm 0,15$
149 g) foram obtidos de uma fazenda comercial local de tilápia (S3 Fish Farm, Registro, SP,
150 Brasil). Esses peixes foram induzidos a serem exclusivamente machos por choque de
151 temperatura durante o estágio larval-fingerling. Os peixes foram inicialmente
152 aclimatados por três semanas em tanque circular (500 L) com temperatura e oxigênio
153 dissolvido fixados em 28°C e $6,5 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente. Após a aclimação, os
154 peixes foram alimentados manualmente com ração comercial extrusada (Supra, 1,0 mm
155 \emptyset ; Alisul Alimentos, Maringá, PR, Brasil) contendo 460 g kg^{-1} de proteína bruta 12
156 vezes ao dia até aparente saciedade. Finalmente, uma amostra de peixes (n = 192; $7,49 \pm$
157 $0,07 \text{ g}$; média \pm DP) foi pesada e distribuída aleatoriamente em aquários plásticos de
158 16-70 L com densidade de $200 \text{ peixes m}^{-3}$ (12 peixes por aquário). Estes aquários
159 foram equipados com sistema de aquicultura de recirculação ($1,2 \text{ L mi}^{-1} \text{ n}$ por aquário),
160 incluindo um decantador para remover sólidos, um filtro mecânico com bio-bolas,
161 aquecedor (3000 W) e um sistema central de desinfecção por luz ultravioleta (55°C).

162 O sistema de aeração consistiu de um soprador centrífugo de 0,5 HP (Suplesca,
163 Toledo, PR, Brasil) acoplado a um tubo de silicone com uma pedra porosa em cada

164 unidade experimental. Cada aquário foi sifonado diariamente às 07h45 e 17h30 para
165 renovar 20% do volume de água para remover minerais e outros metabólitos dos peixes.
166 A temperatura foi fixada em $28 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ e o oxigênio dissolvido foi mantido em $6,2 \pm$
167 $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ durante todo o experimento. Os dados de temperatura individual do aquário
168 e oxigênio dissolvido foram monitorados diariamente usando um medidor de qualidade
169 de água multiparâmetro YSI (YSI Incorporated, Ohio, EUA). O fotoperíodo natural de
170 laboratório foi de 12:12.

171 A qualidade da água durante todo o estudo foi monitorada semanalmente e foi: pH
172 (6,5 a 6,8), amônia total e nitrito ($0,05$ a $0,08 \text{ mg L}^{-1}$), nitrato (60 a 100 mg L^{-1}) e
173 alcalinidade (80 a 100 mg/EU). O parâmetro de pH foi determinado por um medidor de
174 pH digital TEC-2, Piracicaba, SP, Brasil). O pH e a alcalinidade da água foram
175 corrigidos diariamente com ácido ortofosfórico (Sygma Aldrich, São Paulo, SP, Brasil)
176 e/ou carbonato de cálcio (Sygma Aldrich, São Paulo, SP, Brasil). Por fim, análises de
177 amônia, nitrito e nitrato foram realizadas com kits comerciais (Alfakit, Florianópolis,
178 SC, Brasil).

179 *2.5 Coleta de amostras*

180 Após a aclimação, e antes do ensaio experimental, 30 peixes foram sacrificados e
181 amostrados aleatoriamente para análise inicial da composição corporal total. Ao final da
182 alimentação, os peixes foram mantidos em jejum por 24 horas, anestesiados, contados e
183 pesados. Posteriormente, cinco peixes de cada aquário foram amostrados aleatoriamente
184 e eutanasiados para análise da composição centesimal de todo o corpo. As amostras de
185 pescado foram imediatamente moídas em um moedor de carne, secas em estufa
186 ventilada a 55°C (Tecnal, TE-394/1-MP, Piracicaba, SP, Brasil) por 24 horas e
187 armazenadas a -20°C até o laboratório análise. Adicionalmente, três peixes de cada

188 unidade experimental foram coletados aleatoriamente e anestesiados para análise de
189 parâmetros sanguíneos.

190 As amostras de sangue foram coletadas reunindo alíquotas de 2 mL de uma veia
191 caudal usando uma seringa de 1 mL e agulha (0,45 x 13 mm) para análise bioquímica.
192 As amostras de sangue foram centrifugadas ($3500 \times g$, 10 min, 4°C), e o plasma foi
193 pipetado e armazenado a -80°C até a análise. Os mesmos peixes foram usados para
194 análise de parâmetros sanguíneos para determinar o índice hepatossomático, gordura
195 visceral, comprimento relativo do intestino e atividade de enzimas digestivas. Após a
196 remoção do fígado e da gordura visceral em gelo, isolou-se todo o intestino e mediu-se
197 o comprimento do intestino. O intestino foi então cortado longitudinalmente, lavado
198 com solução salina padrão para remover o conteúdo intestinal remanescente e
199 armazenado a -80°C até a determinação da atividade das enzimas digestivas.

200 2.6 Composição química

201 A análise dos ingredientes das rações, dietas e fezes foi realizada para matéria seca,
202 proteína bruta e matéria mineral (AOAC, 2007). A análise de lipídios brutos seguiu o
203 método gravimétrico usando clorofórmio/metanol (Folchet *al.*, 1957). A análise da fibra
204 bruta seguiu o método padrão (AOAC, 1990). A análise da matéria seca foi determinada
205 pela secagem em estufa de todas as amostras a 105°C durante a noite. A análise da
206 proteína bruta ($\text{N} \times 6,25$) foi determinada em aparelho micro Kjeldahl (Tecnal, MA-
207 036, Piracicaba, SP, Brasil). A análise da fibra bruta foi realizada por digestão com
208 solução de ácido sulfúrico, seguida de solução de hidróxido de sódio, e completada pela
209 combustão total da matéria orgânica a 600°C por 4 horas.

210 O teor de matéria mineral foi determinado pela queima de uma amostra em mufla a
211 550°C por 6 horas (Tecnal, 2000B, Belo Horizonte, MG, Brasil). A energia bruta das
212 dietas e fezes foi determinada usando um calorímetro de bomba adiabática (Parr6400;

213 ParrInstruments Co., Moline, IL, EUA), usando ácido benzoico como padrão de
214 calibração. Os ensaios de atividade enzimática dietética foram analisados nas dietas
215 extrusadas coletadas e enviadas ao laboratório para análise (CBO, Valinhos, SP, Brasil).

216 A atividade da xilanase (endo 1,4-xilanase) foi determinada usando xilana de espelta
217 de aveia a 1% em tampão de acetato de sódio 0,05 M com pH 5,3 como substrato. Em
218 seguida, 1 mL da diluição da enzima foi incubado com 1 mL da solução de substrato a
219 50°C por 60 minutos. A análise dos açúcares redutores foi realizada adicionando 3 mL
220 do reagente ácido 3,5-dinitrosalicílico, fervendo por 5 minutos e medindo
221 imediatamente a absorvância a 540 nm (Inborr et al., 1993). A atividade da β -glucanase
222 dietética (endo-1,4-glucanase) foi obtida pela adição de 1 mL de tampão PC a 0,75 g de
223 cevada. O sobrenadante foi então recuperado para quantificar a atividade da β -glucanase
224 usando um kit de ensaio comercial de β -glucanase (Megazyme, Irlanda), seguindo o
225 protocolo do fabricante. A atividade da unidade endoxilanase (TXU) foi especificada
226 como a quantidade de enzima que liberou 5 μ mol de açúcar redutor, medido como um
227 equivalente de xilase, por minuto de uma solução contendo 1 g de arabinoxilana por 100
228 mL a pH 3,5 e 40°C (Bavaresco et al., 2020).

229 2.7 Variáveis de desempenho

230 O desempenho produtivo foi avaliado da seguinte forma: Ganho de peso corporal, %
231 = [(peso final (g) – peso inicial (g))/(peso inicial (g))] \times 100 ; Consumo relativo de
232 ração, % do peso corporal por dia (PC dia⁻¹) = [consumo de ração seca (g)/peso médio
233 do peixe (g)/dias alimentados] \times 100 ; Razão de eficiência alimentar = ganho de peso
234 (g)/ração seca consumida (g); Eficiência de retenção de energia (%) = [retenção de
235 energia corporal (MJ)/ingestão de energia (MJ)] \times 100; Eficiência de retenção de
236 proteína (%) = [retenção de proteína corporal (g)/ingestão de proteína (g)] \times 100;

237 Comprimento relativo do intestino = comprimento total do intestino (cm)/comprimento
238 total do corpo (cm); Índice hepatossomático (%) = [peso do fígado (g)/peso corporal
239 (g)] × 100; Razão de gordura visceral (%) = [peso de gordura visceral (g)/peso de
240 gordura corporal (g)] × 100; Sobrevivência (%) = (número final de peixes/número
241 inicial de peixes) x 100.

242 2.8 Parâmetros bioquímicos no plasma sanguíneo

243 Os parâmetros sanguíneos foram avaliados por espectrometria com analisador
244 bioquímico semiautomático (BIO-2000 IL, Barueri, SP, Brasil) e kits comerciais
245 (BIOTÉCNICA®, Varginha, MG, Brasil) para determinação do teor de proteína total
246 (Cat. 90.019.00), triglicerídeos (Cat. 90.022.00), colesterol total (Cat. 90.021.00) e
247 glicose (Cat. 90.017.00). Da mesma forma, a atividade das enzimas alanina
248 transaminase (Cat. 90.013.00) e aspartato aminotransferase (Cat. 90.014.00) foram
249 determinadas usando os mesmos kits comerciais.

250

251 2.9 Atividade das enzimas digestivas

252 A atividade das enzimas digestivas de α -amilase, protease alcalina e lipase foi
253 avaliada usando métodos previamente estabelecidos (Imaniet *al.*, 2017). A atividade
254 da protease alcalina foi analisada usando Azocaseína (2%) em Tris-HCl, pH = 7,5
255 como substrato. A atividade enzimática foi expressa como 1 μ mol de n-nitrofenol
256 liberado por mg de proteína por minuto. A atividade específica da lipase foi avaliada
257 usando nitrofenilmiristato como substrato. Cada ensaio (0,5 mL) continha p-
258 nitrofenilmiristato 0,53 mM, 2-metoxi etanol 0,25 mM, colato de sódio 5 mM e Tris-
259 HCl 0,25 M (pH = 9,0). Após o tempo de incubação de 15 min a 30°C, a reação foi
260 finalizada com a adição de 0,7 mL de acetona/n-heptano (5:2, v/v). Após agitação
261 vigorosa, a amostra foi centrifugada a 6080g por 2 min, e a densidade óptica da

262 solução aquosa foi registrada a 405 nm. A atividade enzimática foi expressa como 1
263 μmol de n-nitrofenol liberado por mg de proteína por minuto.

264 A atividade da α -amilase foi determinada por método previamente estabelecido,
265 utilizando amido como substrato (Bernfeld, 1955). Resumidamente, o extrato bruto da
266 enzima foi incubado com solução de amido (1% p/v) em tampão fosfato de sódio 0,02
267 M contendo NaCl 0,006 M (pH = 6,9) por 4 min a 25°C. Em seguida, 0,5 mL de
268 solução de ácido dinitrosalicílico (DNS) (1% p/v) foi adicionado ao coquetel de
269 reação, fervido por 5 min e resfriado à temperatura ambiente. A densidade óptica foi
270 medida após a adição de 5 mL de água destilada à mistura final, e a atividade
271 específica da α -amilase foi expressa como μmol de maltose produzida por mg de
272 proteína por minuto a 25°C.

273

274 *2.10 Coleta e análises de amostras para digestibilidade*

275 Os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da energia bruta e dos nutrientes
276 foram medidos utilizando o óxido crômico (Cr_2O_3) como marcador inerte externo
277 (Guimarães *et al.*, 2008). Após um ensaio de alimentação de 1 mês, as fezes foram
278 coletadas diariamente de cada aquário pela manhã (06h) até o último dia antes do final
279 do ensaio experimental. A coleta foi realizada por meio de sifão manual da matéria fecal
280 e coagem em rede com malha de 1 mm, utilizando uma única lanterna portátil para
281 evitar a movimentação excessiva dos peixes. As fezes foram então centrifugadas a 3.500
282 g por 10 minutos em temperatura ambiente, a água sobrenadante foi descartada e o
283 sedimento sólido foi seco em estufa ventilada a 55°C por 24 horas. As fezes secas foram
284 moídas até um pó fino (0,5 mm de diâmetro) usando um moinho Willye de laboratório
285 (Tecnal R-TE 648, Piracicaba, SP, Brasil) e armazenadas a 5°C até análise laboratorial.

286 Os CDAs foram calculados pela seguinte expressão: $CDA = 1 - [(Cd/Cf) \times$
287 $(Nf/Nd)]$, em que CDA é o coeficiente de digestibilidade aparente; Cd é a concentração
288 de óxido de cromo na dieta; Cf é a concentração de óxido de cromo nas fezes ($g\ kg^{-1}$ de
289 matéria seca); Nf é a concentração de nutriente ou energia nas fezes ($g\ kg^{-1}$ ou $MJ\ kg^{-1}$
290 MS); Nd é a concentração de nutriente ou energia na dieta ($g\ kg^{-1}$ ou $MJ\ kg^{-1}MS$ de
291 matéria seca). (Forster, 1999; NRC, 2011). $eCDA = 1 - [(Cd/Cf) \times (Nf/Nd)$, eCDA é o
292 coeficiente de digestibilidade aparente; Cd é a concentração de óxido de cromo na dieta;
293 Cf é a concentração de óxido de cromo nas fezes ($g\ kg^{-1}$ de matéria seca); Nf é a
294 concentração de nutriente ou energia nas fezes ($g\ kg^{-1}$ ou $MJ/kg\ MS$); Nd é a
295 concentração de nutriente ou energia na dieta ($g\ kg^{-1}$ ou $MJ\ kg^{-1}MS$ de matéria seca). Os
296 teores de energia digestível DE (DE) e proteína digestível (DP) da dieta foram
297 calculados como o produto dos CDAs de energia bruta e proteína bruta das dietas.

298

299 *2.11 Análise de viscosidade fecal*

300 A análise de viscosidade seguiu um método previamente estabelecido com pequenas
301 modificações (Jascha I. Leenhouwers *et al.*, 2007). O procedimento consistiu em
302 misturar 1 g de amostras de fezes moídas com 2 mL de água destilada, incubar a $28^{\circ}C$
303 por 30 min e medir a viscosidade do sobrenadante após centrifugação por 10 min a
304 10.000 g. É importante observar que o viscosímetro foi ajustado para $28^{\circ}C$ para refletir
305 com precisão a temperatura corporal da tilápia-do-Nilo.

306 A viscosidade fecal foi determinada usando um Sistema de Expansão Reométrica
307 Avançado (Brookfield Digital Viscometer, Modelo DV-II Versão 2.0,
308 BrookfieldEngineeringLaboratories Inc., Stoughton, MA, EUA) com um Reômetro
309 controlado por tensão a uma taxa de cisalhamento de 2,25 a $750\ s^{-1}$. Em seguida, uma
310 amostra de 1 mL do sobrenadante da digesta foi usada no viscosímetro, e as medições

311 de fluxo de cisalhamento permanente foram feitas usando uma geometria cilíndrica
312 concêntrica e um rotor DIN cônico com diâmetro de 30 mm. A viscosidade absoluta foi
313 expressa em centipoise (cP) usando a taxa de cisalhamento de 750 s^{-1} . Os dados foram
314 plotados como log (taxa de cisalhamento) versus log (viscosidade absoluta) para dar
315 uma linha reta, esta linha foi extrapolada para 750 s^{-1} quando a viscosidade mensurável
316 não incluiu 750 s^{-1} (Steenfeldt, 2001).

317 *2.12 Análise estatística*

318 Todos os dados foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Kolmogorov-
319 Smirnov e homogeneidade pelo teste de Levene. Uma ANOVA de duas vias (arranjo
320 fatorial) foi usada para analisar os dados, incluindo os principais efeitos da inclusão de
321 fonte de proteína e suplementação de xilanase-beta-glucanase (XB) e sua interação. As
322 médias foram comparadas usando o teste de comparações múltiplas de Tukey para
323 efeitos interativos que diferiram significativamente e o teste *t* para os dados de efeito
324 principal, com DDGS e a ausência de XB como grupos de controle. Os dados de
325 mortalidade de peixes foram transformados em valores de arco-seno antes da análise
326 estatística. Os resultados são apresentados como a média \pm erro padrão agrupado da
327 média (SEM), e as diferenças significativas foram determinadas em $P < 0,050$. A
328 análise multivariada foi empregada para conduzir a análise de componentes principais
329 (PCA), e o gráfico de carregamento foi utilizado para verificar a correlação entre as
330 variáveis individuais dos dois primeiros autovalores (PC 1 e 2). A análise dos dados foi
331 realizada usando o software estatístico Minitab versão 19 (Minitab, Inc., StateCollege,
332 PA, EUA).

333

334

335

336

337

338

339

340

341

342

343 **3. Resultados**

344 *3.1. Desempenho produtivo*

345 A Tabela 2 apresenta os resultados do desempenho zootécnico de juvenis de tilápia-
346 do-Niloalimentados com as dietas experimentais. As interações entre DDGS e XB
347 foram significativas para consumo de ração e índice hepatossomático, com peixes
348 alimentados com a dieta sem DDGS e com XB exibindo maior consumo relativo de
349 ração e menor índice hepatossomático em comparação com aqueles alimentados com
350 outras dietas ($P < 0,05$). Com base no efeito principal, DDGS promoveu maior peso
351 corporal final (+14,0%), ganho de peso corporal (+15,7%) e comprimento relativo do
352 intestino (+10,7%), mas reduziu a eficiência de retenção de energia (-14,6 %) ($P <$
353 $0,05$). No entanto, a taxa de eficiência alimentar e a eficiência de retenção de proteína
354 não foram afetadas pela inclusão de DDGS ($P > 0,05$). Com base no efeito principal do
355 XB, maior peso corporal final (+9,8%), taxa de eficiência alimentar (+12,9%),
356 eficiência de retenção de energia (+13,7%), eficiência de retenção de proteína (+13,1%)
357 e comprimento relativo do intestino (+6,7%) foram observados em peixes alimentados
358 com a dieta com XB em comparação com aqueles sem suplementação de XB ($P < 0,05$).

359 No entanto, o peso corporal final e o peso corporal não foram afetados pela
360 suplementação de XB ($P = 0,118$). A proporção de gordura visceral não foi afetada
361 pelos tratamentos dietéticos ($P > 0,05$). Nenhuma mortalidade de peixes foi registrada
362 durante o experimento de alimentação.

363 *3.2 Composição corporal*

364 A composição analisada de todo o corpo é apresentada na Tabela 3. Não foram
365 observadas interações significativas entre DDGS e XB para a composição de todo o
366 corpo ($P > 0,05$). Com relação ao efeito principal do DDGS, os peixes alimentados com
367 a dieta controle apresentaram maior teor de proteína bruta de corpo inteiro em
368 comparação com aqueles alimentados com a dieta contendo DDGS ($P = 0,006$). No
369 entanto, os teores de matéria mineral e lipídios brutos do corpo inteiro não foram
370 afetados pela principal fonte de proteína ($P > 0,05$). Em termos do efeito principal de
371 XB, os peixes alimentados com dietas contendo XB apresentaram maiores teores de
372 lipídios brutos e matéria mineral em comparação com aqueles alimentados com dietas
373 sem suplementação de XB ($P < 0,05$). No entanto, o teor de proteína bruta de corpo
374 inteiro não foi afetado pela inclusão de XB ($P = 0,726$). Os tratamentos dietéticos não
375 afetaram o teor de umidade corporal total dos peixes ($P > 0,05$).

376 *3.3 Parâmetros bioquímicos do plasma sanguíneo*

377 Os efeitos dos tratamentos dietéticos sobre os parâmetros sanguíneos são
378 apresentados na Tabela 4. Nenhuma interação entre DDGS e XB foi observada para
379 todos os parâmetros analisados ($P > 0,05$). Para o efeito principal, a inclusão de DDGS
380 não afetou as variáveis analisadas ($P > 0,05$). Em relação ao efeito principal de XB, os
381 peixes alimentados com dietas suplementadas com XB demonstraram níveis

382 plasmáticos de glicose e colesterol mais altos do que aqueles alimentados com suas
383 contrapartes não suplementadas ($P = 0,026$). Por outro lado, a proteína total plasmática,
384 o conteúdo de triglicerídeos e a atividade das enzimas fosfatase alcalina e alanina
385 aminotransferase não foram afetados pelos tratamentos dietéticos ($P > 0,05$).

386 *3.4 Atividade das enzimas digestivas*

387 A atividade das enzimas digestivas de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com as
388 dietas experimentais é apresentada na Tabela 5. Não houve interações significativas
389 entre a fonte de proteína e XB para a atividade das enzimas digestivas protease e lipase
390 ($P > 0,05$). Para o efeito principal do DDGS, não houve efeitos da inclusão do DDGS na
391 atividade das enzimas digestivas protease e lipase ($P > 0,05$). No entanto, os peixes
392 alimentados com dietas suplementadas com XB apresentaram maior atividade das
393 enzimas protease (+53,2%) e lipase (+18,0%) do que aqueles alimentados com suas
394 contrapartes não suplementadas ($P < 0,05$). A atividade das enzimas amilase não foi
395 afetada pelos tratamentos dietéticos ($P > 0,05$).

396 *3.5 Digestibilidade, energia digestível da dieta e conteúdo de proteína digestível*

397 Conforme mostrado na **Tabela 6**, foram observados efeitos de interação
398 significativos entre a fonte de proteína e a suplementação de XB para oCDA de todos os
399 parâmetros analisados ($P < 0,05$), exceto para lipídios brutos ($P = 0,419$). Um efeito de
400 interação revelou que os peixes oferecidos uma dieta contendo DDGS sem XB
401 revelaram menor CDA de energia bruta, amido, proteína bruta e matéria mineral do que
402 aqueles alimentados com outras dietas ($P < 0,05$). Além disso, independentemente da
403 inclusão de DDGS, XB promoveu maior CDA de GE do que alimentado com sua
404 contraparte não suplementada. Para o efeito principal, o CDA de lipídios brutos foi

405 menor em peixes que receberam dietas sem DDGS do que aqueles alimentados com
406 dieta controle ($P = 0,024$), enquanto seu CDA foi notavelmente maior em peixes
407 alimentados com dietas suplementadas com XB em contraste com aqueles alimentados
408 com dieta sem Suplementação XB ($P < 0,001$). Houve interação entre DDGS e XB, e
409 peixes alimentados com dieta contendo DDGS apresentaram maior teor de DE do que
410 aqueles alimentados com outras dietas, enquanto peixes alimentados com dieta com
411 DDGS sem XB apresentaram menor DE do que aqueles alimentados com outras dietas
412 ($P < 0,05$). Curiosamente, XB em dietas adicionadas de DDGS promoveu conteúdo de
413 DP semelhante em dietas de peixes alimentados com dieta controle sem XB, enquanto a
414 suplementação de XB em dieta contendo DDGS aumentou o conteúdo de DP em 13,51
415 g kg^{-1} na dieta em relação ao observado na dieta com DDGS sem suplementação de
416 XB (**Figura 1**).

417

418 *3.6 Viscosidade fecal*

419 Houve a interação entre DDGS e XB e os peixes alimentados com dieta adicionada
420 de DDGS apresentaram fezes com maior viscosidade do que aqueles alimentados com
421 outras dietas ($P < 0,05$). Além disso, a viscosidade fecal foi reduzida em 0,34 cP e 0,61
422 cP em peixes alimentados com dieta controle e dieta com DDGS, respectivamente, em
423 relação à contraparte não suplementada com XB (**Figura 2**).

424 A análise PC de ganho de peso corporal, taxa de eficiência alimentar, atividade de
425 enzimas digestivas e viscosidade fecal é mostrada como gráfico de carregamento
426 (**Figura 3**). O gráfico revelou dois agrupamentos: um primeiro agrupamento incluiu
427 ganho de peso corporal, taxa de eficiência alimentar e atividade das enzimas digestivas
428 amilase, protease e lipase que foi afetado pelo PC 1, e o segundo agrupamento incluiu a
429 viscosidade fecal que foi afetada pelo PC 2. Variáveis dentro do primeiro cluster foram

430 positivamente correlacionados. Os dois clusters foram correlacionados negativamente e
431 o ângulo entre os dois clusters excedeu 90° para eficiência alimentar, atividade das
432 enzimas protease e amilase e ganho de peso corporal. Notavelmente, a taxa de eficiência
433 alimentar foi relacionada positivamente com a atividade da enzima lipase, enquanto o
434 ganho de peso corporal foi relacionado positivamente com a atividade das enzimas
435 protease e amilase.

436

437

438

439 **4. Discussão**

440 Neste estudo, a inclusão de DDGS na dieta levou ao aumento no ganho de peso
441 corporal dos peixes. Além disso, verificou-se que o DDGS aumentou significativamente
442 o consumo de ração de juvenis de tilápia-do-Nilo. Os achados indicam que o DDGS
443 pode aumentar o ganho de peso aumentando a palatabilidade das dietas, em vez de
444 favorecer a digestão e absorção de nutrientes, conforme evidenciado pela atividade
445 semelhante de enzimas digestivas, digestibilidade de nutrientes e eficiência alimentar
446 em peixes alimentados com dietas sem suplemento de DDGS. Está bem estabelecido
447 que a inclusão de DDGS aumenta a palatabilidade e, conseqüentemente, o consumo de
448 ração em tilápia-do-Nilo alimentadas com dietas à base de vegetais (Limet *al.*, 2007).
449 Enquanto isso, trabalhos anteriores indicaram que o DDGS de milho contém
450 destiladores de alta palatabilidade para peixes como o peixe-gato do canal,
451 *Ictalurus punctatus* (Robinson e Li, 2008). Por outro lado, foi relatado que o DDGS não
452 influenciou o consumo de ração em tilápia-do-Nilo (Shelby *et al.*, 2008; Tran-Ngoc *et al.*,
453 2019). Uma possível razão é que o processo de produção de etanol DDGS de milho

454 pode afetar os níveis de destilação úmida que permanece após a destilação do etanol
455 (Kim *et al.*, 2008). No entanto, o efeito do DDGS de milho na palatabilidade da dieta e
456 subsequente consumo de ração na tilápia-do-Nilo permanece amplamente desconhecido.

457 Este estudo identificou que o XB melhorou o ganho de peso corporal e a eficiência
458 alimentar, enquanto reduziu a viscosidade fecal dos peixes. O mecanismo pelo qual o
459 XB melhora a digestibilidade dos nutrientes é atribuído principalmente à eficácia na
460 redução da viscosidade da digesta (Dalsgaard *et al.*, 2016). Em apoio a esta hipótese
461 envolvendo a mesma preparação exógena de carboidratos aqui utilizada, um estudo
462 inicial conduzido no laboratório Fish Nutrition, atestou a eficácia da XB na redução da
463 viscosidade da dieta em dieta à base de farelo de trigo e soja fornecida à tilápia-do-
464 Nilo (Brito *et al.*, 2021). A maior atividade de amilase, protease e lipase seguida por
465 aumento de CDA de energia bruta, proteína bruta e relação de lipídios brutos corrobora
466 a hipótese de que a suplementação de XB atenua os efeitos antinutricionais de rações
467 aquáticas à base de plantas no presente estudo. Portanto, estes resultados podem
468 explicar o aumento da eficiência de retenção de energia e proteína alinhada com o
469 aumento da energia digestível da dieta e dos teores de proteína digestível em peixes
470 alimentados com dietas contendo XB aqui. Consistentemente, estudo anterior relatou
471 que a tilápia-do-Nilo alimentada com dietas suplementadas com XB exibiu maior
472 atividade de protease digestiva e principalmente da enzima lipase (Hassaan *et al.*, 2019),
473 de acordo com a pesquisa anterior em corvina amarela, *Larimichthys crocea* alimentada
474 com dieta suplementada com xilanase (Luo *et al.*, 2020).

475 Neste estudo, peixes alimentados com dietas contendo XB exibiram maior atividade
476 da enzima lipase digestiva e subsequentemente maior CDA de lipídios brutos do que
477 aqueles alimentados com dietas não suplementadas com XB, de acordo com o estudo
478 anterior em truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss* (Dalsgaard *et al.*, 2012), robalo japonês,

479 *Lateolabrax japonicus* (Huang *et al.*, 2020), e tilápia-do-Nilo (Hassaan *et al.*,
480 2019) alimentadas com dietas à base de plantas com suplementação de XB. Um estudo
481 recente indicou que o PNA aumentou a perda fecal de ácidos biliares e, portanto,
482 diminuiu a digestibilidade dos lipídios brutos em truta arco-íris (Staessen *et al.*, 2020).
483 Embora o XB exógeno possa prevenir a perda de bile fecal, o mecanismo subjacente
484 não é totalmente compreendido na tilápia-do-Nilo.

485 Neste estudo, o CDA de minerais foi maior em peixes alimentados com dietas
486 suplementadas com XB do que naqueles alimentados com dietas não suplementadas
487 com XB. Este resultado é consistente com os obtidos em mori,
488 *Cirrhinus mrigala* alimentados à base de plantas suplementados com xilanases
489 (Nadeem *et al.*, 2022). Estudos anteriores atestam a hipótese de que o PNA pode
490 diminuir a utilização de minerais no salmão do Atlântico, *Salmo salar* (Kraugerud *et al.*,
491 2007), bagre listrado, *Pangasionodon hypophthalmus* (Tu-Tran *et al.*, 2020) e tilápia-do-
492 Nilo (Brito *et al.*, 2021). Os mecanismos pelos quais XB melhora o CDA de minerais
493 foram atribuídos à capacidade de degradar PNA insolúvel e liberar os minerais ligados
494 (Persson *et al.*, 1991). Notavelmente, aproximadamente 40% do cálcio e 30% do
495 fósforo nos cereais estão associados à parede celular (Frølich and Asp, 1985). Por
496 exemplo, foi demonstrado que a truta arco-íris (Dalsgaard *et al.*, 2012) e o robalo
497 europeu, *Dicentrarchus labrax* (Magalhães *et al.*, 2018) e tilápias suplementadas com XB
498 exibiram incremento na utilização de fósforo. Coletivamente, esses achados podem
499 justificar o aumento do CDA de minerais, resultando em maior conteúdo mineral
500 corporal total em peixes alimentados com dietas suplementadas com XB neste estudo.

501 No geral, este resultado se alinha com a questão relativa à competição entre rações e
502 produção de peixes seguindo as demandas por rações vegetais (Tacon *et al.*, 2022).
503 Portanto, este estudo atestou a hipótese de que o DDGS poderia ser aplicável na

504 produção de rações aquáticas em escala industrial(Ray *et al.*, 2022). Além disso, os
505 resultados do presente estudo confirmam o potencial da xilanase exógena (XB) para
506 aumentar o valor nutritivo de dietas à base de plantas contendo milho DDGS para
507 fornecimento preciso de nutrientes em rações de tilápia. Em última análise, o uso de XB
508 exógeno pode representar uma abordagem industrial para neutralizar os efeitos adversos
509 dos alimentos ricos em PNA, melhorando os benefícios econômicos por meio de
510 princípios sustentáveis de cultivo de tilápia.

511

512

513

514 **Agradecimentos**

515 Os autores agradecem à BASF Inc (Ludwigshafen, Alemanha), pela doação
516 dasenzimas exógenas utilizadas no presente estudo, e ao Dr. Giovani Sampaio
517 Gonçalves (APTA, São José do Rio Preto, SP, Brasil), pelo processamento das dietas
518 experimentais.

519

520 **Referências**

521

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

527 Adeoye, A A, Yomla, R., Jaramillo-Torres, A., Rodiles, A., Merri, D.L., Davies, S.J.,
528 Merrifield, D.L., Davies, S.J., 2016. Combined effects of exogenous enzymes and
529 probiotic on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth, intestinal morphology

- 530 and microbiome. *Aquaculture* 463, 61–70.
531 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.05.028>
- 532 AOAC, 2007. *Official Methods of Analysis*, 18th ed. Association of Official Analytical
533 Chemists, Gaithersburg, MA
- 534 AOAC, 1990. *Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of*
535 *Analysis*. AOAC, Washington, DC.
- 536 AVMA, 2020. *AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition*,
537 2020.0.1. ed. American Veterinary Medical Association, Schaumburg, IL.
- 538 Bach Knudsen, K.E., 2014. Fiber and nonstarch polysaccharide content and variation in
539 common crops used in broiler diets. *Poult Sci* 93, 2380–2393. <https://doi.org/2014>
540 *Poultry Science* 93 :2380–2393 <http://dx.doi.org/10.3382/ps.2014-03902>
- 541 Bavaresco, C., Krabbe, E., Gopinger, E., Sandi, A.J., Martinez, F.N., Wernik, B., Roll,
542 V.F.B., 2020. Hybrid phytase and carbohydrases in corn and soybean meal-based
543 diets for broiler chickens: Performance and production costs. *Rev Bras CiencAvic*
544 22, 1–8. <https://doi.org/10.1590/1806-9061-2019-1178>
- 545 Bernfeld, P., 1955. Amylases, α and β , in: Colowich, S.P.K.N.O. (Ed.), *Methods in*
546 *Enzymology*. Academic Press, Inc., New York, pp. 149–158.
- 547 Brito, J.M., Wernick, B., da Cruz, T., Furuya, L.B., Miranda, J.A.G., Rudnik, A.R.,
548 Furuya, V.R.B., Furuya, W.M., 2021. Top-spraying xylanase and β -glucanase
549 improves digestible energy content and optimizes protein and amino acids
550 digestibility in high-fiber diet fed to growing Nile tilapia. *Anim Feed Sci Technol*
551 278, 114991. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.114991>
- 552 Castillo, S., Gatlin, D.M., 2015. Dietary supplementation of exogenous carbohydrase
553 enzymes in fish nutrition: A review. *Aquaculture* 435, 286–292.
554 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.10.011>
- 555 Chatvijitkul, S., Davis, D.A., Lim, C.E., 2016. Lipid extracted distillers dried grains
556 with solubles (LE-DDGS) as a partial replacement for soybean meal in hybrid
557 tilapia (*Oreochromis niloticus* \times *O. aureus*) diets. *Aquaculture* 459, 131–136.
558 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.03.023>
- 559 Dalsgaard, J., Bach Knudsen, K.E., Verlhac, V., Ekmann, K.S., Pedersen, P.B., 2016.
560 Supplementing enzymes to extruded, soybean-based diet improves breakdown of
561 non-starch polysaccharides in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *AquacNutr*
562 22, 419–426. <https://doi.org/10.1111/anu.12258>
- 563 Dalsgaard, J., Verlhac, V., Hjermitsev, N.H., Ekmann, K.S., Fischer, M., Klausen, M.,
564 Pedersen, P.B., 2012. Effects of exogenous enzymes on apparent nutrient
565 digestibility in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets with high inclusion
566 of plant-based protein. *Anim Feed Sci Technol* 171, 181–191.
567 <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.10.005>

- 568 Folch, J., Lees, M., Stanley, G.H.S., 1957. A simple method for the isolation and
569 purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem* 226, 497–509.
570 [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)64849-5](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)64849-5)
- 571 Forster, I., 1999. A note on the method of calculating digestibility coefficients of
572 nutrients provided by single ingredients to feeds for aquatic animals. *AquacNutr*
573 5, 143–145.
- 574 Frølich, W., Asp, N.-G., 1985. Minerals and Phytate in the Analysis of Dietary Fiber
575 from Cereals. III. *Cereal Chem* 62, 238–242.
- 576 Ghosh, K., Ray, A.K., Ringø, E., 2019. Applications of plant ingredients for tropical
577 and subtropical freshwater finfish: possibilities and challenges. *Rev Aquac* 11,
578 793–815. <https://doi.org/10.1111/raq.12258>
- 579 Guimarães, I.G., Pezzato, L.E., Barros, M.M., 2008. Amino acid availability and protein
580 digestibility of several protein sources for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*.
581 *AquacNutr* 14, 396–404.
- 582 Haidar, M.N., Petie, M., Heinsbroek, L.T.N., Verreth, J.A.J., Schrama, J.W., 2016. The
583 effect of type of carbohydrate (starch vs. nonstarch polysaccharides) on nutrients
584 digestibility, energy retention and maintenance requirements in Nile tilapia.
585 *Aquaculture* 463, 241–247. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.05.036>
- 586 Hassaan, M.S., Mohammady, E.Y., Soaudy, M.R., Abdel Rahman, A.A.S., 2019.
587 Exogenous xylanase improves growth, protein digestibility and digestive enzymes
588 activities in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fed different ratios of fish meal to
589 sunflower meal. *AquacNutr* 25, 841–853. <https://doi.org/10.1111/anu.12903>
- 590 Huang, Z., Li, Z., Xu, A., Zheng, D., Ye, Y., Wang, Z., 2020. Effects of exogenous
591 multienzyme complex supplementation in diets on growth performance, digestive
592 enzyme activity and non-specific immunity of the Japanese seabass, *Lateolabrax*
593 *japonicus*. *AquacNutr* 26, 306–315. <https://doi.org/10.1111/anu.12991>
- 594 Inborr, J., Schmitz, M., Ahrens, F., 1993. Effect of adding fibre and starch degrading
595 enzymes to a barley/wheat based diet on performance and nutrient digestibility in
596 different segments of the small intestine of early weaned pigs. *Anim Feed Sci*
597 *Technol* 44, 113–127. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(93\)90042-I](https://doi.org/10.1016/0377-8401(93)90042-I)
- 598 Jannathulla, R., Rajaram, V., Kalanjiam, R., Ambasankar, K., Muralidhar, M., Dayal,
599 J.S., 2019. Fishmeal availability in the scenarios of climate change: Inevitability
600 of fishmeal replacement in aquafeeds and approaches for the utilization of plant
601 protein sources. *Aquac Res* 50, 3493–3506. <https://doi.org/10.1111/are.14324>
- 602 Jaworski, N.W., Laerke, H.N., Bach Knudsen, K.E., Stein, H.H., 2015. Carbohydrate
603 composition and in vitro digestibility of dry matter and nonstarch polysaccharides
604 in corn, sorghum, and wheat and coproducts from these grains. *Journal of Animal*
605 *Nutrition* 93, 1103–1113. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/anu.13038>

- 606 Jiang, T.T., Feng, L., Liu, Y., Jiang, W.D., Jiang, J., Li, S.H., Tang, L., Kuang, S.Y.,
607 Zhou, X.Q., 2014. Effect of exogenous xylanase supplementation in plant protein-
608 enriched diets on growth performance, intestinal enzyme activities and microflora
609 of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *AquacNutr* 20, 632–645.
610 <https://doi.org/10.1111/anu.12125>
- 611 Kabir, K.A., Verdegem, M.C.J., Verreth, J.A.J., Phillips, M.J., Schrama, J.W., 2020.
612 Dietary non-starch polysaccharides influenced natural food web and fish
613 production in semi-intensive pond culture of Nile tilapia. *Aquaculture* 528,
614 735506. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735506>
- 615 Kamalam, B.S., Medale, F., Panserat, S., 2017. Utilisation of dietary carbohydrates in
616 farmed fishes: New insights on influencing factors, biological limitations and
617 future strategies. *Aquaculture* 467, 3–27.
618 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.02.007>
- 619 Kannadhasan, S., Muthukumarappan, K., Rosentrater, K.A., 2011. Effect of Starch
620 Sources and Protein Content on Extruded Aquaculture Feed Containing DDGS.
621 *Food Bioproc Tech* 4, 282–294. <https://doi.org/10.1007/s11947-008-0177-4>
- 622 Kim, Y., Mosier, N.S., Hendrickson, R., Ezeji, T., Blaschek, H., Dien, B., Cotta, M.,
623 Dale, B., Ladisch, M.R., 2008. Composition of corn dry-grind ethanol by-
624 products: DDGS, wet cake, and thin stillage. *Bioresour Technol* 99, 5165–5176.
625 <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.09.028>
- 626 Kraugerud, O.F., Penn, M., Storebakken, T., Refstie, S., Krogdahl, Å., Svihus, B., 2007.
627 Nutrient digestibilities and gut function in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets
628 with cellulose or non-starch polysaccharides from soy. *Aquaculture* 273, 96–107.
629 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.09.013>
- 630 Leenhouders, J I, Ortega, R.C., Verreth, J.A.J., Schrama, J.W., 2007. Digesta
631 characteristics in relation to nutrient digestibility and mineral absorption in Nile
632 tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fed cereal grains of increasing viscosity.
633 *Aquaculture* 273, 556–565. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.10.044>
- 634 Leenhouders, Jascha I., ter Veld, M., Verreth, J.A.J., Schrama, J.W., 2007. Digesta
635 characteristics and performance of African catfish (*Clarias gariepinus*) fed cereal
636 grains that differ in viscosity. *Aquaculture* 264, 330–341.
637 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.01.003>
- 638 Lim, C., Garcia, J.C., Yildirim-Aksoy, M., Klesius, P.H., Shoemaker, C.A., Evans, J.J.,
639 2007. Growth Response and Resistance to *Streptococcus iniae* of Nile Tilapia,
640 *Oreochromis niloticus*, Fed Diets Containing Distiller's Dried Grains with
641 Solubles. *J World Aquac Soc* 38, 231–237. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2007.00093.x>
- 643 Luo, J., Li, Y., Jin, M., Zhu, T., Li, C., Zhou, Q., 2020. Effects of dietary exogenous
644 xylanase supplementation on growth performance, intestinal health, and
645 carbohydrate metabolism of juvenile large yellow croaker, *Larimichthys crocea*.

- 646 Fish PhysiolBiochem 46, 1093–1110. <https://doi.org/10.1007/s10695-020-00774->
647 [z](https://doi.org/10.1007/s10695-020-00774-z)
- 648 Maas, R.M., Verdegem, M.C.J., Lee, C.N., Schrama, J.W., 2021. Effects and
649 interactions between phytase, xylanase and β -glucanase on growth performance
650 and nutrient digestibility in Nile tilapia. Anim Feed Sci Technol 271, 114767.
651 <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114767>
- 652 Maas, R.M., Verdegem, M.C.J., Stevens, T.L., Schrama, J.W., 2020. Effect of
653 exogenous enzymes (phytase and xylanase) supplementation on nutrient
654 digestibility and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed
655 different quality diets. Aquaculture 529, 735723.
656 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735723>
- 657 Maas, R.M.M., Verdegem, M.C.J., Dersjant-Li, Y., Schrama, J.W., 2018. The effect of
658 phytase, xylanase and their combination on growth performance and nutrient
659 utilization in Nile tilapia. Aquaculture 487, 7–14.
660 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.12.040>
- 661 Magalhães, R., Díaz-Rosales, P., Diógenes, A.F., Enes, P., Oliva-Teles, A., Peres, H.,
662 2018. Improved digestibility of plant ingredient-based diets for European seabass
663 (*Dicentrarchus labrax*) with exogenous enzyme supplementation. AquacNutr 24,
664 1287–1295. <https://doi.org/10.1111/anu.12666>
- 665 Magalhães, R., Lopes, T., Martins, N., Díaz-Rosales, P., Couto, A., Pousão-Ferreira, P.,
666 Oliva-Teles, A., Peres, H., 2016. Carbohydrases supplementation increased
667 nutrient utilization in white seabream (*Diplodus sargus*) juveniles fed high
668 soybean meal diets. Aquaculture 463, 43–50.
669 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.05.019>
- 670 Nadeem, H., Shah, S.Z.H., Fatima, M., Maryam, Shahzad, M.M., 2022. Effects of
671 exogenous xylanase supplementation in plant-based diets on growth performance,
672 nutrient digestibility and digestive enzyme activities of juvenile mori
673 (*Cirrhinus mrigala*). Anim Feed Sci Technol 291, 115391.
674 <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2022.115391>
- 675 NRC, 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. National Academy Press,
676 Washington.
- 677 Pedersen, M.B., Dalsgaard, S., Bach Knudsen, K.E., Yu, S., Lærke, H.N., 2014.
678 Compositional profile and variation of Distillers Dried Grains with Solubles from
679 various origins with focus on non-starch polysaccharides. Anim Feed Sci Technol
680 197, 130–141. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.07.011>
- 681 Persson, H., Nyman, M., Liljeberg, H., Önning, G., Frølich, W., 1991. Binding of
682 mineral elements by dietary fibre components in cereals—In vitro (III). Food
683 Chem 40, 169–183. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(91\)90100-3](https://doi.org/10.1016/0308-8146(91)90100-3)
- 684 Ray, G.W., Li, X., He, S., Lin, H., Yang, Q., Tan, B., Dong, X., Chi, S., Liu, H., Zhang,
685 S., 2022. A Review on the Use of Distillers Dried Grains with Solubles (DDGS)

- 686 in Aquaculture Feeds. *Annals of Animal Science* 22, 21–42.
687 <https://doi.org/10.2478/aoas-2021-0041>
- 688 Refstie, S., Svihus, B., Shearer, K.D., Storebakken, T., 1999. Nutrient digestibility in
689 Atlantic salmon and broiler chickens related to viscosity and non-starch
690 polysaccharide content in different soyabean products. *Anim Feed Sci Technol*
691 79, 331–345. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(99\)00026-7](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(99)00026-7)
- 692 Robinson, E.H., Li, M.H., 2008. Replacement of Soybean Meal in Channel Catfish,
693 *Ictalurus punctatus*, Diets with Cottonseed Meal and Distiller's Dried Grains with
694 Solubles. *J World Aquac Soc* 39, 521–527. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2008.00190.x>
- 696 Schaeffer, T.W., Brown, M.L., Rosentrater, K.A., Muthukumarappan, K., 2010.
697 Utilization of diets containing graded levels of ethanol production co-products by
698 Nile tilapia. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 94. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2010.01020.x>
- 700 Shelby, R.A., Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Klesius, P.H., 2008. Effect of distillers dried
701 grains with solubles-incorporated diets on growth, immune function and disease
702 resistance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquac Res* 39, 1351–1353.
703 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02000.x>
- 704 Sinha, A.K., Kumar, V., Makkar, H.P.S., de Boeck, G., Becker, K., 2011. Non-starch
705 polysaccharides and their role in fish nutrition - A review. *Food Chem* 127, 1409–
706 1426. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.042>
- 707 Smith, D.A., Smith, S.A., Holladay, S.D., 1999. Effect of previous exposure to tricaine
708 methanesulfonate on time to anesthesia in hybrid tilapias. *J Aquat Anim Health* 11,
709 183–186. [https://doi.org/10.1577/1548-8667\(1999\)011<0183:EOPETT>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8667(1999)011<0183:EOPETT>2.0.CO;2)
- 710 Staessen, T.W.O., Verdegem, M.C.J., Koletsi, P., Schrama, J.W., 2020. The effect of
711 dietary protein source (fishmeal vs. plant protein) and non-starch polysaccharide
712 level on fat digestibility and faecal bile acid loss in rainbow trout (*Oncorhynchus*
713 *mykiss*). *Aquac Res* 51, 1170–1181. <https://doi.org/10.1111/are.14467>
- 714 Steinfeldt, S., 2001. The dietary effect of different wheat cultivars for broiler chickens.
715 *Br Poult Sci* 42, 595–609. <https://doi.org/10.1080/00071660120088416>
- 716 Tachibana, L., Pinto, L.G.Q., Gonçalves, G.S., Pezzato, L.E., 2010. Xylanase and beta-
717 glucanase on nutrient apparent digestibility of triticale by Nile tilapia. *Arq Bras*
718 *Med Vet Zootec* 62, 445–452. <https://doi.org/10.1590/s0102-09352010000200026>
- 719 Tacon, A.G.J., Metian, M., McNevin, A.A., 2022. Future Feeds: Suggested Guidelines
720 for Sustainable Development. *Reviews in Fisheries Science and Aquaculture*.
721 <https://doi.org/10.1080/23308249.2021.1898539>
- 722 Tran-Ngoc, K.T., Haidar, M.N., Roem, A.J., Sendão, J., Verreth, J.A.J., Schrama, J.W.,
723 2019. Effects of feed ingredients on nutrient digestibility, nitrogen/energy balance

- 724 and morphology changes in the intestine of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*).
725 Aquac Res 50, 2577–2590. <https://doi.org/10.1111/are.14214>
- 726 Tu-Tran, L.C., Nguyen, T.C., Verreth, J.A.J., Schrama, J.W., 2020. Doses response of
727 dietary viscosity on digestibility and faecal characteristics of striped catfish
728 (*Pangasionodon hypophthalmus*). Aquac Res 51, 595–604.
729 <https://doi.org/10.1111/are.14406>
- 730 Wallace, J.L., Murray, F.J., Little, D.C., 2016. Effects of β -xylanase and 6-phytase on
731 digestibility, trace mineral utilisation and growth in juvenile red tilapia,
732 *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) x *O. mossambicus* (Peters, 1852), fed
733 declining fishmeal diets. Journal of Applied Ichthyology 32, 471–479.
734 <https://doi.org/10.1111/jai.13055>
- 735 Zheng, C.C., Wu, J.W., Jin, Z.H., Ye, Z.F., Yang, S., Sun, Y.Q., Fei, H., 2020.
736 Exogenous enzymes as functional additives in finfish aquaculture. Aquac Nutr.
737 <https://doi.org/10.1111/anu.12995>
- 738
- 739

Tabela 1: Ingredientes e composição analisada das dietas experimentais.

Ingredientes (g kg ⁻¹ com base nas dietas)	ID das dietas ¹			
	Controle	Controle+XB	DDGS	DDGS+XB
Farelo de soja ²	470,0	470,0	326,5	326,5
Farinha de trigo ²	328,3	328,3	281,1	281,1
Farelo de trigo ²	150,0	150,0	150,0	150,0
DDGS de Milho ³	0,0	0,0	187,5	187,5
Fosfatobicálcico ⁴	27,0	27,0	27,0	27,0
Óleo de soja ⁵	10,0	10,0	10,0	10,0
Cloreto de sódio ⁶	3,5	3,5	3,5	3,5
DL-metionina ⁷	2,8	2,8	3,1	3,1
L-lisina ⁸	1,4	1,4	4,8	4,8
L-triptofano ⁸	0,0	0,0	0,7	0,7
Antifúngico ⁹	1,0	1,0	1	1,0
Mistura de minerais e vitaminas ¹⁰	5,0	5,0	5,0	5,0
Óxido de cromo (Marcador) ⁷	1,0	1,0	1,0	1,0
Mistura de xilanase e β - glucanase ¹¹	0,0	0,2	0,0	0,2
Composição (Base na matéria seca)				
Matéria seca	937,2	937,9	932,5	932,0
Amido	300,2	300,4	280,8	280,3
Energia bruta (MJ kg ⁻¹)	17,3	17,3	18,7	18,6
Proteína bruta	319,9	319,8	318,2	318,4
Extrato etéreo	31,4	31,3	41,4	41,1
Fibra bruta	38,4	37,8	51,4	51,9
Matéria mineral	8,0	8,1	8,2	8,0
Fósforo total	9,0	9,2	8,9	8,9
Endo 1,4- β -xilanase (TXU kg ⁻¹)	ND ¹²	1130	ND	1130
Endo 1,4 β -glucanase (TGU kg ⁻¹)	ND ¹²	510	ND	514
Polissacarídeos não amiláceos ¹³	190,4	190,4	215,3	215,3
Arabinosilanos ¹³	79,0	79,0	99,5	99,5
β -glucanos ¹³	6,9	6,9	6,4	6,4

¹ Dieta sem (Controle) ou com grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) de milho não suplementados (-) ou suplementados (+) com 0,2 g kg⁻¹ de dieta de mistura de xilanase e β

- glucanase (XB), continham 1130 TXU kg⁻¹ de dieta de 1,4-β-xilanase e 515 TGU kg⁻¹ de dieta de β-glucanase analisados.

^{xz}Em caso de interações significativas (P < 0,05) entre os efeitos principais: Diferentes letras maiúsculas sobrescritas indicam diferenças significativas (P < 0,05) entre os tratamentos pelo teste de Tukey.

² Alisul Alimentos (Maringá, PR, Brasil).

³ Inpasa, Sinop, MT, Brasil.

⁴ Sarfos, Itumbiara, Goiás, GO, Brasil.

⁵ Cocamar, Maringá, PR, Brasil.

⁶ Jasmim, Curitiba, PR, SP, Brasil.

⁷ Sygma-Aldrich Brasil Ltda, 99,5%, São Paulo, SP, Brasil.

⁸ Divisão de Nutrição Animal da Ajinomoto, São Paulo, SP, Brasil.

⁹ Propionato de cálcio (ProfinaTM CP, Perstorp, São Paulo, SP, Brasil).

¹⁰ Mistura personalizada de vitaminas e minerais fornecida por kg de dieta: Vitamina A (acetato de retinol), 6.000 UI; vitamina D₃, (colecalfiferol), 1.000 UI; vitamina E (acetato de DL-α-tocoferol), 60 mg; vitamina K₃ (Na-bisulfato de menadiona), 12 mg; vitamina B₁(tiamina HCl), 24 mg; vitamina B₂(riboflavina), 24 mg; vitamina B₆(piridoxina HCl), 20 mg; vitamina B₁₂ (cianocobalamina), 0,05 mg; ácido fólico, 6 mg; D-pantotenato de cálcio, 60 mg; ácido ascórbico (polifosfato de ascorbilo), 240 mg; d-biotina, 0,24 mg; cloreto de colina, 325 mg; niacina, 120 mg; sulfato ferroso (FeSO₄ .H₂O.7H₂O), 50 mg; sulfato de cobre (CuSO₄.7H₂O), 3mg; sulfato de manganês (MnSO₄.H₂O), 20mg; sulfato de zinco (ZnSO₄ .7H₂O), 30 mg; iodeto de potássio (KI), 0,4 mg, sulfato de cobalto (CoSO₄.4H₂O), 0,25 mg; selenito de sódio (Na₂ SeO₃), 0,1 mg. ²Antifúngico, Mold Zap Aquativa®, composição: dipropionato de amônio, ácido acético, ácido sórbico e ácido benzoico (Alltech Agroindustrial Ltda, São Paulo, Brasil).

¹¹ Mistura líquida de endo-1,4-β-xilanase (5.805 TXU g⁻¹) e endo-1,4-β-glucanase (2.633,9 TGU g⁻¹) (Natugrain® TS, BASF, Corporation, Ludwigshafen, Alemanha).

¹² Não detectado.

¹³ Estimado a partir da composição dos ingredientes das dietas (Bach Knudsen, 2014; Pedersen et al., 2014).

Tabela 2: Desempenho produtivo de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas experimentais.¹

Tratamentos ³	PI	PF	GP	CAR	EA	ERE	TEP	CRI	HSI	IVS
Controle	7.43	56,95	666,26	3,05 ^Y	0,83	34.14	42,42	6,78	3,48 ^X	0,36
Controle +XB	7.52	62.10	726,19	2,90 ^Y	0,89	37,56	45,54	7.07	3,17 ^Y	0,42
DDGS	7.52	64,47	757,59	3,53 ^Z	0,74	28.19	37.29	7.34	3.02 ^Z	0,50
DDGS+XB	7.47	71.22	853.10	3,03 ^Y	0,88	33.16	44,65	7.63	3,41 ^X	0,61
EPM ³	0,016	1.811	24.247	0,060	0,021	1.025	0,149	1.154	0,070	0,042
<i>Efeito principal</i>										
Dietas										
Controle	7.47	59,53 ^B	696,23 ^B	2,98 ^b	0,86	35,85 ^B	43,98	6.76 ^B	3.32	0,39
DDGS	7,50	67,84 ^A	805,34 ^A	3.28 ^a	0,81	30,63 ^A	40,97	7,48 ^A	3.21	0,56
XB										
–	7.48	60,71	711,92	3.29 ^a	0,79 ^a	31.11 ^b	39,86 ^b	6.89 ^b	3.25	0,43
+	7,50	66,66	769,65	2,97 ^b	0,89 ^b	35,36 ^a	45.09 ^a	7.35 ^a	3.29	0,51
<i>P - Valor</i>										
Dietas	0,528	0,032	0,037	<0,001	0,234	0,008	0,191	0,002	0,441	0,085
XB	0,575	0,108	0,118	<0,001	0,029	0,025	0,033	0,024	0,763	0,369
DDGS × XB	0,083	0,819	0,702	0,014	0,447	0,633	0,994	0,349	0,027	0,815

Nota: PI, peso corporal inicial (g); PF, peso corporal final (g); GP, ganho de peso corporal (%); CAR, consumo alimentar relativo (% de ganho de peso corporal dia⁻¹); EA, índice de eficiência alimentar; ERE, eficiência de retenção de energia (%); TEP, eficiência de retenção de proteína (%); CRI, comprimento relativo do intestino; HSI, índice hepatossomático (%); IVS, taxa de gordura visceral (%).

¹ Os valores são médias de quatro tanques replicadas com 12 peixes.

² Dieta sem (Controle) ou com grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS)de milionão suplementados (-) ou suplementados (+) com 0,2 g kg kg⁻¹ de dieta de mistura de xilanase e β -glucanase (XB), continham 1130 TXU kg⁻¹ de 1,4- β -xilanase e 515 TGU kg⁻¹ de β -glucanase analisados nas dietas.

^{xz} Em caso de interações significativas ($P < 0,05$) entre os efeitos principais: Diferentes letras maiúsculas sobrescritas indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos pelo teste de Tukey.

^{A,B} Em caso de interações não significativas ($P > 0,05$) entre os efeitos principais: Letras maiúsculas sobrescritas diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) para grãos secos de destilaria com solúveis de milho pelo teste *-t*.

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

Tabela 3: Composição corporal de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas experimentais.¹

Tratamentos ²	UM	PB	EE	MM
Controle	725.43	156.27	58.42	34.09
Controle+XB	720.71	155.78	64.12	35.07
DDGS	733.75	145.70	62.88	32.09
DDGS+XB	727.87	148.14	65.09	35.86
EPM ³	2.239	1.526	0.878	0.537
<i>Efeito Principal</i>				
Dietas				
Controle	723.07	156.02 ^A	61.27	34.58
DDGS	730.81	146.92 ^B	63.99	33.80
XB				
-	729.59	150.98	60.65 ^b	33.09 ^b
+	724.29	151.96	64.60 ^a	35.28 ^a
<i>P-Valor</i>				
Dietas	0.140	0.006	0.120	0.223
XB	0.300	0.726	0.032	0.016
DDGS × XB	0.907	0.599	0.304	0.089

Nota: UM, umidade (g/kg); PB, proteína bruta (g/kg); EE, extrato etéreo (g/kg); MM, matéria mineral (g/kg).

¹ Os valores são médias de quatro tanques replicados com 12 peixes.

² Dietas sem (Controle) ou com grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) de milho não suplementadas (-) ou suplementadas (+) com 0,2 g kg⁻¹ do complexo enzimático xilanase e β-glucanase (XB), continham 1130 TXU kg⁻¹ de 1,4-β-xilanase e 515 TGU kg⁻¹ de β-glucanase analisados nas dietas.

³ EPM, erro padrão da média.

^{a, b} Em caso de interações não significativas ($P > 0,05$) entre os efeitos principais: Letras minúsculas sobrescritas diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) para suplementação enzimática pelo teste - *t*.

Tabela 4: Parâmetros sanguíneos de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas experimentais.¹

Tratamentos ²	PT	GLI	TGC	COL	ALP	ALT
Controle-XB	2.63	47.61	191.95	75.61	20.73	21.69
Controle+XB	2.49	51.16	190.14	79.85	16.44	24.88
DDGS-XB	2.41	45.22	193.33	76.47	18.66	23.00
DDGS+XB	2.45	50.00	195.53	79.62	16.29	24.88
EPM ³		8.417	0.857	1.019	2.269	
<i>Efeito Principal</i>						
DDGS						
Controle	2.57	49.71	190.08	78.36	18.58	21.98
DDGS	2.43	47.61	194.43	78.04	17.47	23.94
XB						
-XB	2.50	46.41 ^b	192.64	76.04 ^b	19.69	22.35
+XB	2.47	50.91 ^a	191.87	80.37 ^a	16.36	23.57
<i>P-Valor</i>						
DDDGS	0.239	0.137	0.840	0.854	0.642	0.733
XB	0.804	0.005	0.971	0.026	0.177	0.832
DDGS × XB	0.257	0.834	0.890	0.501	0.685	0.909

Nota: PT, proteína total (mg mL⁻¹); GLI, glicose (mg dL⁻¹); TGC, triglicerídeos (mg dL⁻¹); COL, colesterol (mg dL⁻¹); ALP, fosfatase alcalina (UI dL⁻¹); ALT, alanina aminotransferase (UI dL⁻¹).

¹ Os valores são médias de quatro tanques replicados com 12 peixes.

² Dietas sem (Controle) ou com grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) de milho não suplementadas (-) ou suplementadas (+) com 0,2 g kg⁻¹ do complexo enzimático xilanase e β-glucanase (XB), continham 1130 TXU kg⁻¹ de 1,4-β-xilanase e 515 TGU kg⁻¹ de β-glucanase analisados nas dietas.

³ EPM, erro padrão da média.

^{a, b} Em caso de interações não significativas ($P > 0,05$) entre os efeitos principais: Letras minúsculas sobrescritas diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) para suplementação enzimática pelo teste - *t*.

Tabela 5: Atividade de enzimas digestivas (Unidade de atividade por miligrama de proteína) de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas experimentais.¹

Tratamentos ²	Amilase	Protease	Lipase
Controle-XB	8.32	1.01	2.94
Controle+XB	8.71	1.31	3.26
DDGS-XB	8.99	1.20	2.74
DDGS+XB	9.41	1.90	3.22
EPM ³	0.223	0.126	0.101
<i>Efeito Principal</i>			
DDGS			
Controle	8.59	1.26	3.21
DDGS	9.20	1.55	2.98
XB			
-	8.66	1.11 ^b	2.84 ^b
+	9.13	1.70 ^a	3.35 ^a
<i>P-Valor</i>			
DDDGS	0.196	0.175	0.159
XB	0.309	0.012	0.007
DDGS × XB	0.914	0.593	0.870

Nota: Amilase e lipase como unidade por miligrama de tecido; Protease como microgramas de tirosina por minuto por grama de tecido.

¹ Os valores são médias de quatro tanques replicados com 12 peixes.

² Dietas sem (Controle) ou com grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) de milho não suplementadas (-) ou suplementadas (+) com 0,2 g kg⁻¹ do complexo enzimático xilanase e β-glucanase (XB), continham 1130 TXU kg⁻¹ de 1,4-β-xilanase e 515 TGU kg⁻¹ de β-glucanase analisados nas dietas.

³ EPM, erro padrão da média.

^{a,b} Em caso de interações não significativas ($P > 0,05$) entre os efeitos principais: Letras minúsculas sobrescritas diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) para suplementação enzimática pelo teste - *t*.

Tabela 6: Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA; %) de energia e nutrientes de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com as dietas experimentais.¹

Tratamentos ²	EB	AD	PB	EE	MM
Controle-XB	82.38 ^Y	97.98 ^X	93.53 ^Y	83.46	62.55 ^Y
Controle+XB	84.63 ^X	98.03 ^X	94.24 ^Y	91.51	66.16 ^{XY}
DDGS-XB	70.15 ^Z	95.73 ^Z	89.58 ^Z	86.18	54.52 ^Z
DDGS+XB	81.43 ^Y	97.14 ^Y	93.76 ^Y	93.14	69.70 ^X
EPM ³	2.410	0.355	1.121	1.716	2.161
<i>Efeito Principal</i>					
DDGS					
Controle	83.50	98.01	93.89	87.49 ^B	64.36
DDGS	75.79	96.44	91.67	89.66 ^A	62.11
XB					
-XB	76.26	96.86	91.56	84.82 ^b	58.53
+XB	83.03	97.59	94.00	92.32 ^a	67.93
<i>P-valor</i>					
DDD	<0.001	<0.001	0.001	0.024	0.084
XB	<0.001	0.006	<0.001	<0.001	0.001
DDGS × XB	<0.001	0.008	0.001	0.419	0.004

Nota: EB, energia bruta; AD, amido, PB, proteína bruta; EE, extrato etéreo, MM, matéria mineral.

¹ Os valores são médias de quatro tanques replicados com 12 peixes.

² Dietas sem (Controle) ou com grãos secos de destilaria com solúveis (DDGS) de milho não suplementadas (-) ou suplementadas (+) com 0,2 g kg⁻¹ do complexo enzimático xilanase e β-glucanase (XB), continham 1130 TXU kg⁻¹ de 1,4-β-xilanase e 515 TGU kg⁻¹ de β-glucanase analisados nas dietas.

³ EPM, erro padrão da média.

^{A, B} Em caso de interações não significativas (P > 0,05) entre os efeitos principais: diferentes letras maiúsculas sobrescritas indicam diferenças significativas (P < 0,05) para grãos secos de destilaria com solúveis de milho pelo teste - t.

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

^{x-z} Em caso de interações significativas ($P < 0,05$) entre os efeitos principais: Diferentes letras maiúsculas sobrescritas indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos pelo teste de Tukey.

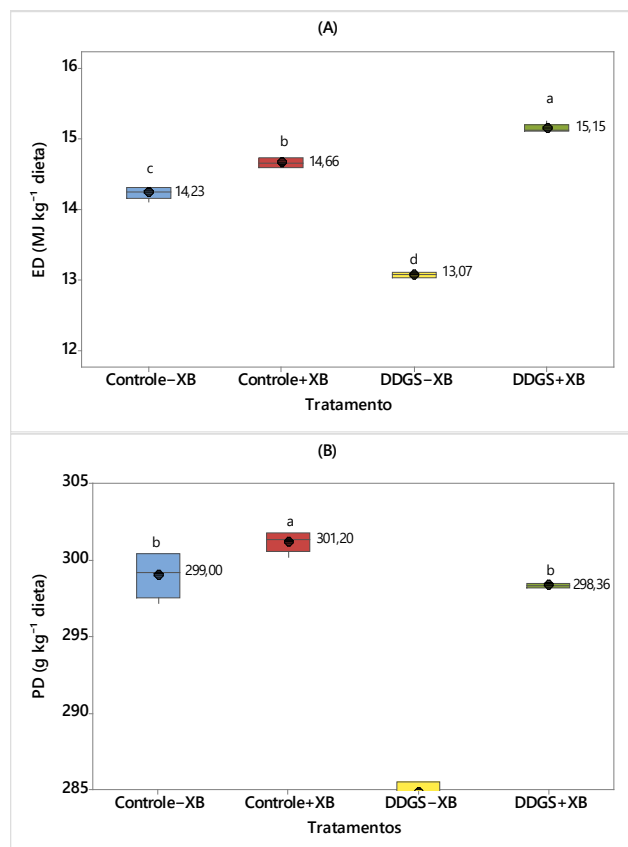


Figura 2: Imagens com *boxplots* dos principais efeitos de interação das dietas sem (Controle) ou com grãos de destilaria com solúveis (DDGS) de milho, não suplementados (-XB) ou suplementados (+XB) com 0,2 g kg⁻¹ de xilanase mais β - glucanase (B) para fornecer 1120 TXU kg⁻¹ de 1,4-β-xilanase e 500 TGU kg⁻¹ de β-glucanase nas dietas, nos teores de energia digestível (ED; A) e proteína digestível (PD; B) em dietas à base de vegetais fornecidas a juvenis de tilápia-do-Nilo por oito semanas. Pontos pretos e números no lado direito dos *boxplots* mostram os valores médios de quatro réplicas; os *boxplots* mostram os quartis inferior, mediano e superior. Diferenças significativas (P < 0,05) entre as dietas são demonstradas por letras diferentes. Os dados foram analisados por ANOVA de uma via e teste HSD de Tukey.

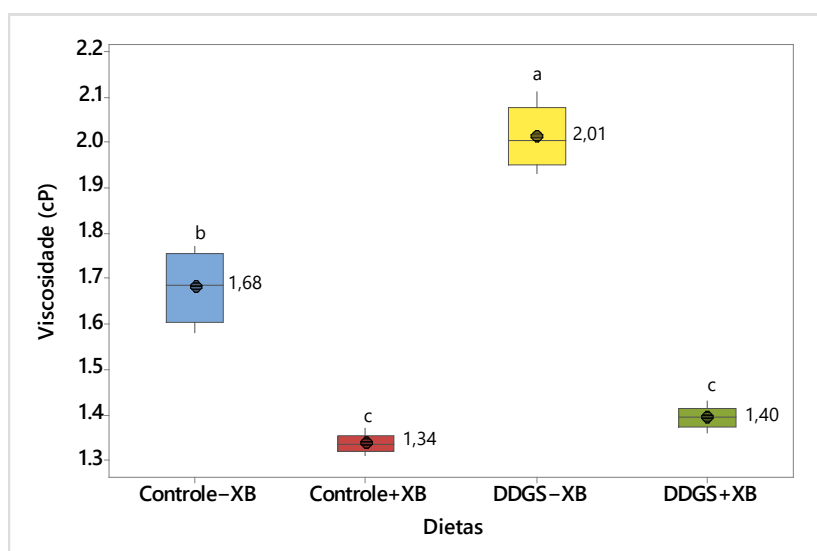


Figura 3: Imagem com *boxplots* dos efeitos de interação das dietas sem (Controle) ou com grãos de destilaria com solúveis (DDGS) de milho não suplementados (XB-) ou suplementados (XB+) com $0,2 \text{ g kg}^{-1}$ de xilanase mais β -glucanase para fornecer 1120 TXU kg^{-1} de 1,4- β -xilanase e 500 TGU kg^{-1} de β -glucanase de dietas, na viscosidade fecal de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas à base de vegetais por oito semanas. Pontos pretos e números no lado direito dos *boxplots* mostram os valores médios de quatro réplicas; os *boxplots* mostram os quartis inferior, mediano e superior. Diferenças significativas ($P < 0,05$) entre as dietas são demonstradas por letras diferentes. Os dados foram analisados por ANOVA de uma via e teste HSD de Tukey.

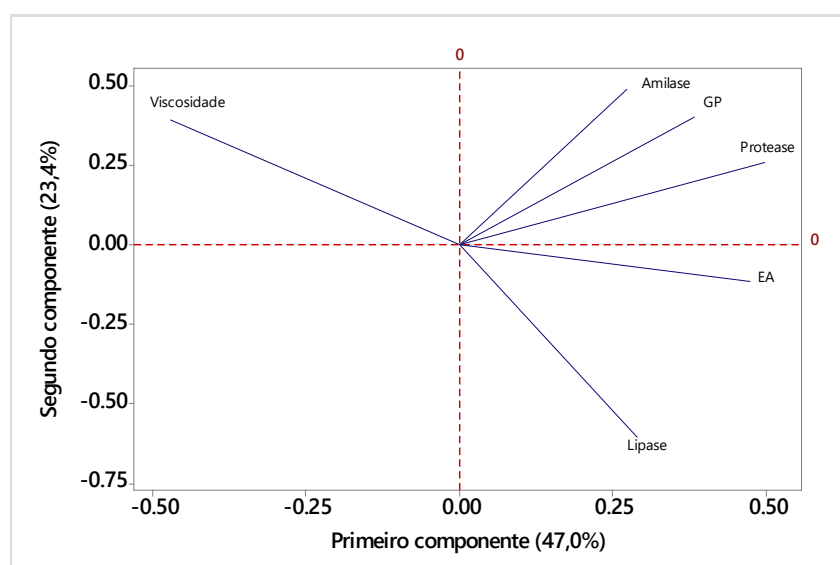


Figura 4: Gráfico de carregamento da análise de componentes principais (CP) mostrando correlações entre ganho de peso corporal (GP), índice de eficiência alimentar (EA), atividade das enzimas digestivas amilase, protease e lipase, e viscosidade fecal dos dois primeiros autovalores (PC1 e PC2) de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com dieta sem (Controle) ou com grãos de destilaria com solúveis (DDGS) de milho não suplementados ou suplementados com xilanase mais β -glucanase a $0,2 \text{ g kg}^{-1}$ dieta (B) para fornecer 1120 TXU kg^{-1} de $1,4\text{-}\beta$ -xilanase e 500 TGU kg^{-1} dieta de β -glucanase por oito semanas.