

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PRODUÇÃO ANIMAL
SUB-ÁREA: PISCICULTURA/ NUTRIÇÃO DE PEIXES

Éverton Augusto Kowalski

**FIBRAS FUNCIONAIS DE LINHAÇA COMO PRÓ-NUTRIENTE PARA
TILÁPIA DO NILO**

Santa Maria, RS, Brasil
2021

Éverton Augusto Kowalski

**FIBRAS FUNCIONAIS DE LINHAÇA COMO PRÓ-NUTRIENTE PARA
TILÁPIA DO NILO**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Zootecnia.**

Orientadora: Prof^a Dr^a Leila Picolli da Silva

Coorientadora: Prof^a Dr^a Taida Juliana Adorian

Santa Maria, RS, Brasil
2021

Kowalski, Éverton Augusto
FIBRAS FUNCIONAIS DE LINHAÇA COMO PRÓ-NUTRIENTE PARA
TILÁPIA DO NILO / Éverton Augusto Kowalski.- 2021.
46 p.; 30 cm

Orientadora: Leila Picolli da Silva
Coorientadora: Taida Juliana Adorian
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Zootecnia, RS, 2021

1. Nutrição de peixes 2. Prebiótico 3. Tilápia 4.
Linhaça I. da Silva, Leila Picolli II. Adorian, Taida
Juliana III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

© 2021

Todos os direitos autorais reservados a Éverton Augusto Kowalski. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

Endereço: Avenida Roraima, n. 1000, Bairro Camobi, Santa Maria, RS. CEP: 97105-900


Fone (55) 984243849; E-mail: evertonzootecnia@outlook.com

Éverton Augusto Kowalski

**FIBRAS FUNCIONAIS DE LINHAÇA COMO PRÓ-NUTRIENTE PARA
TILÁPIA DO NILO**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Zootecnia**.

Aprovado em 22 de outubro de 2021:



Leila Picolli da Silva, Dr^a (UFSM) - Videoconferência
(Presidente/Orientadora)



Alexandra Pretto, Dr^a (UNIPAMPA) - Videoconferência



Fernanda Rodrigues Goulart Ferrigolo, Dr^a (UNIPAMPA) - Videoconferência

Santa Maria, RS, Brasil
2021

DEDICATÓRIA

À minha mãe Maristela que és o principal motivo dos meus estudos, minha inspiração e exemplo de professora, ao meu pai Marcio que trabalhou até gastar os ossos e sangrar a carne, para que eu pudesse me dedicar inteiramente a minha formação. À minha irmã Bárbara que economizou todo dinheiro que conseguiu para que nada me faltasse, a vovó Nena pelas incontáveis horas de conversa que acalmaram minha alma nos momentos difíceis. E por último, as minhas cadelas Suu e Milonga, por me cuidar incansavelmente com todo amor durante minha vida.

AGRADECIMENTOS

- À minha orientadora Dra. Leila Picolli da Silva, pelos ensinamentos, cobranças e confiança depositada em mim no período de mestrado.

- À minha coorientadora Dra. Taida Juliana Adorian, pela disponibilidade, paciência, compreensão e todo conhecimento repassado.

- Ao técnico de laboratório e amigo Msc. Silvino Sasso Robalo por todo conhecimento compartilhado e amizade desenvolvida.

- Ao mestrando e amigo Gregorio Cargnin, por estar sempre disponível e ter as melhores soluções para os problemas e sua companheira Bibiana.

- À graduanda Ana Maria, por não medir esforços na realização de todas atividades ao longo do tempo.

- Ao colegiado do PPGZ, por todos ensinamentos relativos a organização de um curso de pós-graduação.

- Ao secretário do PPGZ, Marcos, pela dedicação ao seu trabalho e disponibilidade.

- A banca examinadora pela disponibilidade e contribuições a dissertação.

- À professora Dra. Tatiana Emanuelli e doutoranda Dariane Trivisiol da Silva, pela realização da técnica de AGCC.

- Aos amigos e companheiros de mestrado Sharine, Juan e Luiza, por toda ajuda.

- Ao professor Msc. Paulo Duran dos Santos Molina, por ser meu mentor na área de piscicultura.

- Ao professor Dr. José Luiz Ferraz Aires, por toda cobrança, ajuda e reconhecimento durante minha formação.

- Ao zootecnista Dr. Lucas Braido Pereira, pela iniciação na pesquisa, acreditando em minhas ideias e pela grande amizade.

- Ao professor Dr. Maurício Rebelo Martins, grande filósofo, que transformou e continua a transformar minha visão de mundo e pela amizade verdadeira.

- Aos meus amigos, Vinicius Mello Pereira, Paulo Eduardo Molina, Dario Cabreira Netto, Lucas Xavier Cabeda, Meime Manzoni e Tatu Manzoni pela presença em minha vida.

- Ao Conselho Nacional de desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de pesquisa.

- A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), pelo apoio ao projeto.

Minha gratidão.

RESUMO

FIBRAS FUNCIONAIS DE LINHAÇA COMO PRÓ-NUTRIENTE PARA TILÁPIA DO NILO

AUTOR: Éverton Augusto Kowalski
ORIENTADORA: Leila Picolli da Silva
COORIENTADORA: Taida Juliana Adorian

Os efeitos da inclusão de níveis crescentes da combinação das frações solúvel e insolúvel, na proporção 1:4 de fibras funcionais de linhaça foram avaliados em dietas para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), sobre parâmetros de eficiência de desempenho, composição corporal e deposição de nutrientes, rendimento corporal e índices digestivos, enzimas digestivas, parâmetros plasmáticos, metabólitos hepáticos e produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Para isso, o pró-nutriente de fibras de linhaça foi adicionado em cinco níveis crescentes (00, 20, 40, 60, 80 g/kg) à dieta das tilápias ($13,33 \pm 0,13$ g), através de um ensaio biológico durante 60 dias, em um sistema de recirculação de água. Nesse período, os peixes foram alimentados até a saciedade aparente, três vezes ao dia. Ao final do período experimental, os peixes foram submetidos a jejum de 18 horas antes da coleta dos dados. O desenho experimental foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e quatro repetições (500 peixes). Os dados foram submetidos à análise de variância e às medias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os resultados indicam que o pró-nutriente de fibras funcionais de linhaça não influenciou na eficiência de desempenho dos peixes, assim como, nos índices digestivos, enzimáticos, plasmáticos e metabólitos hepáticos. Contudo, foram verificados maiores índices de gordura, matéria seca corporal e maior produção de ácidos graxos de cadeia curta pela microbiota intestinal, com a inclusão de 60 g/kg do pró-nutriente, na dieta de juvenis de tilápia. Assim como, maior deposição de gordura corporal com o nível de 20 g/kg do pró-nutriente. Em conclusão, o pró-nutriente de fibras de linhaça, possivelmente atuou na partição energética, alterando a composição corporal dos juvenis de tilápia, porém outros estudos devem ser conduzidos para entender a relação do pró-nutriente de fibras com a espécie em questão.

Palavras-chave: Desempenho. Prebiótico. Respostas metabólicas. Tilápia.

ABSTRACT

LINSEED FUNCTIONAL FIBERS AS A PRO-NUTRIENT FOR NILE TILAPIA

AUTHOR: Éverton Augusto Kowalski

ADVISOR: Leila Picolli da Silva

CO-ADVISOR: Taida Juliana Adorian

The effects of including increasing levels of a combination of soluble and insoluble fractions, in a 1:4 ratio of functional fibers of linseed were evaluated in Nile tilapia juveniles (*Oreochromis niloticus*) on performance efficiency parameters, body composition and deposition of nutrients, body yield and digestive indices, digestive enzymes, plasma parameters, hepatic metabolites and production of short-chain fatty acids (SCFA). For this, the linseed fiber pro-nutrient was added at five increasing levels (00, 20, 40, 60, 80 g/kg) to the diet of the tilapia ($13,33 \pm 0,13$ g), through a biological trial for 60 days, in a water recirculation system. During this period, the fish were fed until apparent satiety, three times a day. At the end of the experimental period, the fish were fasted for 18 hours before data collection. The experimental design was completely randomized, with five treatments and four replications (500 fish). Data were subjected to analysis of variance and means compared by Tukey test ($P < 0,05$). The results indicate that linseed functional fiber pro-nutrient did not influence the performance efficiency of fish, similarly, in the digestive, enzymatic, plasmatic and hepatic metabolites indexes. However, higher levels of fat, dry matter and higher production of short-chain fatty acids by the intestinal microbiota were verified, with inclusion 60 g/kg of the pro-nutrient in the diet of tilapia juveniles. As well as, greater deposition of body fat with the level of 20 g/kg of the pro-nutrient. In conclusion, the linseed fiber pro-nutrient possibly acted in energy partitioning, changing the body composition of tilapia juveniles, however other studies must be conducted to understand the relationship of the fiber pro-nutrient with the species in question.

Keywords: Performance. Prebiotic. Metabolic responses. Tilapia.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Vias diretas e indiretas promotoras de desempenho e saúde pelos prebióticos..... 16

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição nutricional analisada (g/kg) das fibras funcionais extraídas da linhaça	23
Tabela 2 -	Formulação dietética em matéria natural, composição nutricional analisada e propriedades físico-químicas das dietas experimentais (g/kg)	24
Tabela 3 -	Parâmetros de desempenho de juvenis de tilápias alimentados com níveis crescentes do pró-nutriente de fibra funcionais de linhaça	29
Tabela 4 -	Composição corporal (g/kg) e deposição de proteína e gordura (g) em juvenis de tilápia alimentados com níveis crescentes do pró-nutriente de fibras funcionais de linhaça	30
Tabela 5 -	Rendimento corporal (g/kg) e índices digestivos (%) de juvenis de tilápia alimentados com níveis crescentes do pró-nutriente de fibras funcionais de linhaça	30
Tabela 6 -	Atividade digestiva das enzimas quimotripsina e tripsina de juvenis de tilápias alimentados com níveis crescentes do pró-nutriente de fibras funcionais de linhaça	31
Tabela 7 -	Parâmetros plasmáticos apresentados por juvenis de tilápias alimentados com níveis crescente do pró-nutriente de fibras funcionais de linhaça	31
Tabela 8 -	Metabólitos hepáticos apresentados por juvenis de tilápias alimentados com níveis crescente do pró-nutriente de fibras funcionais de linhaça	32
Tabela 9 -	Ácidos Graxos de cadeia curta (mM/kg de digesta) medidos em juvenis de tilápias alimentados com níveis crescente do pró-nutriente de fibras funcionais de linhaça	32

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	14
2.1	OBJETIVO GERAL	14
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1	PREBIÓTICOS NA ALIMENTAÇÃO DE PEIXES	15
3.2	UTILIZAÇÃO DE PREBIÓTICOS PARA TILÁPIAS	16
3.3	FIBRAS DE LINHAÇA COMO PRÓ-NUTRIENTE	18
3.4	ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA PRODUZIDOS POR BACTÉRIAS	19
4	MATERIAL E MÉTODOS	22
4.1	OBTENÇÃO DAS FIBRAS FUNCIONAIS DE LINHAÇA E ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	22
4.2	DIETAS EXPERIMENTAIS	23
4.3	ANIMAIS E ALIMENTAÇÃO	25
4.4	QUALIDADE DE ÁGUA	25
4.5	EFICIÊNCIA DE DESEMPENHO	26
4.6	COMPOSIÇÃO CORPORAL E DEPOSIÇÃO DE NUTRIENTES	26
4.7	RENDIMENTO CORPORAL E ÍNDICES DIGESTIVOS	26
4.8	ENZIMAS DIGESTIVAS	27
4.9	PARÂMETROS PLASMÁTICOS	27
4.10	METABÓLITOS HEPÁTICOS	27
4.11	ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA (AGCC)	28
4.12	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA	28
5	RESULTADOS	29
5.1	EFICIÊNCIA DE DESEMPENHO	29
5.2	COMPOSIÇÃO CORPORAL E DEPOSIÇÃO DE NUTRIENTES	29
5.3	RENDIMENTO CORPORAL E ÍNDICES DIGESTIVOS	30
5.4	ENZIMAS DIGESTIVAS	30
5.5	PARÂMETROS PLASMÁTICOS	31
5.6	METABÓLITOS HEPÁTICOS	32
5.7	ACIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA (AGCC)	32
6.	DISCUSSÃO	33
7.	CONCLUSÃO	36
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

1 INTRODUÇÃO

A intensificação na produção mundial de alimentos, motivada pelo crescimento populacional e maior consumo, enfrenta desafios sanitários constantes, tratados rotineiramente com estratégias questionáveis quanto ao potencial de contaminação residual de produtos e meio ambiente (FAO, 2018). Na produção animal, a aquicultura demonstrou crescimento acelerado de 5,3% ao ano nas últimas duas décadas, o que reflete a intensificação de cultivo das diversas espécies de interesse mercadológico, em especial de peixes, que são responsáveis por 52% da demanda aquícola atual (FAO, 2020). Certamente, essa intensificação causa modulação no metabolismo e imunidade, como tentativa de manter a homeostase dos indivíduos por meio de mecanismos de defesa inatos e adaptativos (BALDISSEROTTO et al., 2017).

Neste cenário, a sanidade dos peixes é uma das maiores preocupações, pois surgem várias enfermidades, em grande parte de origem bacteriana, combatidas preventiva ou curativamente de forma convencional, através do uso de antibióticos (RINGØ et al., 2014; HAYGOOD; JHA, 2016). Essa prática recorrente no tempo, tem elevado a ocorrência de cepas resistentes a princípios ativos, refletindo negativamente no desempenho, aumentando a taxa de mortalidade dos animais e também não corresponde a produtos ambientalmente amigáveis e socialmente responsável (NIU et al., 2019; GUPTA et al., 2021). A busca por alimentos saudáveis tem levado alguns países a restringir e até mesmo proibir o uso de antibióticos como promotores de crescimento na aquicultura, levando ao interesse por ingredientes funcionais, que desempenham ação preventiva às doenças (LI et al., 2019).

Como alternativa aos antibióticos, o uso de pró-nutrientes como os prebióticos têm demonstrado resultados promissores na promoção da saúde dos animais (ZHU; WU, 2018; PAZ et al., 2019; DAWOOD et al., 2020). Sua principal ação é pela modulação da microbiota digestória, promovendo a proliferação seletiva de bactérias benéficas (SILVA; NÖRNBERG, 2003; FLEMMING, 2005; GUERREIRO; OLIVIA-TELES; ENES, 2017), o que acarreta em maior produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), diminuição do pH luminal e inibição do desenvolvimento de bactérias patogênicas (MATHEW; SUTTON; SCHEIDT, 1993). Além disso, os AGCC podem ser utilizados como fonte de energia direta por enterócitos e colonócitos do hospedeiro (SWANSON et al., 2002), melhorando a partição energética de produção.

Entre as fontes prebióticas, a fibra alimentar proveniente de diversas matérias primas vegetais (*in natura*, processadas ou residuais) tem demonstrado efeitos pró-nutriente equivalentes ou superiores a muitos produtos comerciais, o que abre possibilidade para uma nova gama de substâncias a serem consideradas na promoção de saúde e desempenho

zootécnico de peixes (ADORIAN et al., 2016; GOULART et al., 2017; ADORIAN et al., 2019). Entretanto, a quantidade, proporções de suas frações e características físico-químicas não estão adequadamente definidas para a vasta maioria das espécies aquícolas cultivadas, o que pode acarretar em uso errôneo nas dietas.

Levando em conta as espécies de peixes mais relevantes para o mercado, a tilápia (*Oreochromis niloticus*) é a quarta mais difundida no mundo e está presente em todos os continentes (FAO, 2020). Sua ótima capacidade adaptativa e produtiva aos sistemas de cultivo, aliada ao hábito alimentar onívoro e fitoplanctófago, asseguram sua expansão de mercado (FRACALOSSO; CYRINO, 2012). Porém, o aumento das populações cultivadas, níveis de estocagem e resistência patogênica associada a fármacos, estão levando ao aumento em seus índices de mortalidade e de custo produtivo (DONG et al., 2017; ABDEL-LATIF et al., 2020).

Considerando esta demanda, o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a inclusão de níveis de fibras funcionais da linhaça como pró-nutriente e seus efeitos sobre o desempenho produtivo e respostas metabólicas em juvenis tilápia do Nilo.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o uso de níveis crescentes de fibras funcionais de linhaça como pró-nutriente para juvenis de tilápias.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito da inclusão de níveis crescentes (00, 20, 40, 60, 80 g/kg) do pró-nutriente de fibras de linhaça, sobre o desempenho produtivo de juvenis de tilápias;
- Avaliar os efeitos da inclusão dos níveis crescentes do pró-nutriente do pró-nutriente de fibras funcionas de linhaça, sobre a atividade de enzimas digestivas, parâmetros sanguíneos e hepáticos e produção de ácidos graxos de cadeia curta bacterianos em juvenis de tilápia do Nilo.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

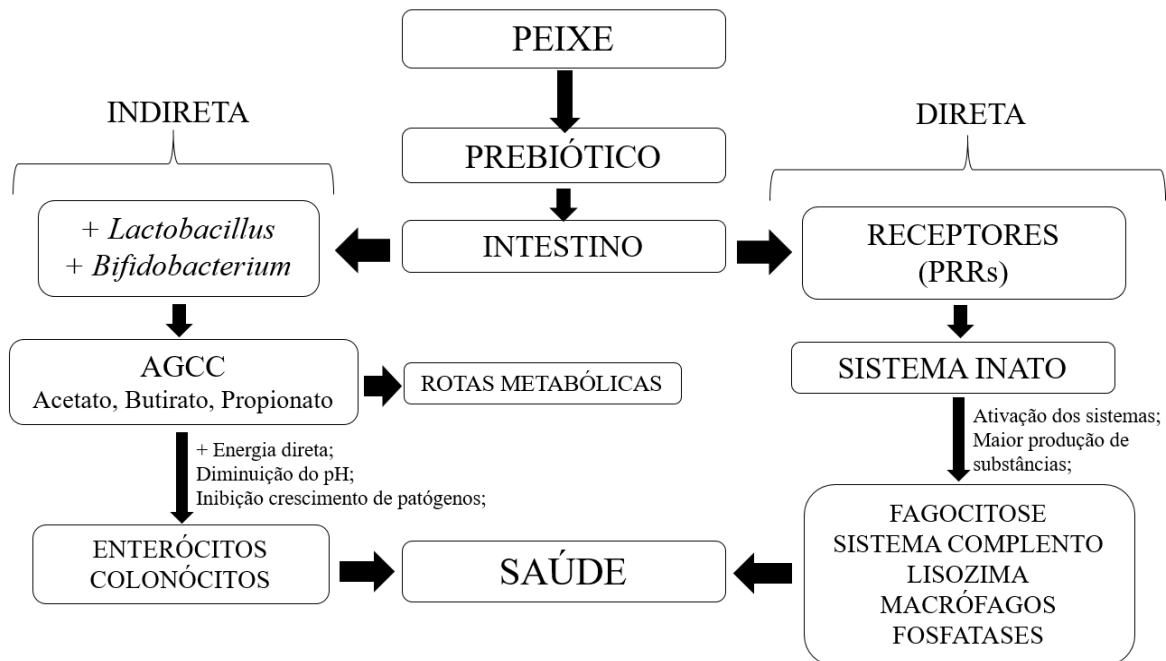
3.1 PREBIÓTICOS NA ALIMENTAÇÃO DE PEIXES

O conceito de prebiótico foi inicialmente definido por Gibson e Roberfroid (1995), correspondendo a ingredientes nutricionais não digeríveis pelas enzimas exógenas do animal e com capacidade de promover benefícios na saúde, através da seleção de bactérias benéficas no cólon, sendo conhecidos como sacarídeos funcionais. No entanto a definição foi atualizada em 2016 pela Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos (ISAPP), referindo-se a um substrato que é seletivamente utilizado por microrganismos hospedeiros, trazendo benefícios à saúde do indivíduo (GIBSON et al., 2017). Desse modo, o conceito se tornou mais abrangente, permitindo que outras fontes nutricionais (ex. ácido linoleico, ácidos graxos poliinsaturados, compostos fenólicos e fitoquímicos) fossem classificadas como prebióticos, bem como, que suas ações fossem repassadas a outras partes do corpo, além do trato gastrointestinal (FARIAS et al., 2019).

Os pró-nutrientes são substâncias que utilizadas em pequenas quantidades promovem melhorias sobre a saúde e desempenho dos animais, estando os prebióticos dentro dessa classificação (LYONS; JACQUES, 2004). Tais benefícios na alimentação de peixes (Figura 1) ocorrem de forma indireta, por aproveitamento de metabólitos microbianos pelo hospedeiro (FOOKS; FULLER; GIBSON, 1999) e ou, de maneira direta, pela ação de sacarídeos funcionais (imunossacarídeos) que ativam o sistema imune inato pela interação com receptores de reconhecimento na superfície de macrófagos, monócitos, neutrófilos e células *natural killer* (SONG et al., 2014).

A modulação indireta é proveniente da estimulação de bactérias benéficas específicas, como *Bifidobacterium spp*, *Lactobacillus spp*, *Eubacterium spp*, pela seleção alimentar promovida na biota intestinal (SILVA; NÖRNBERG, 2003; FLEMMING; FREITAS, 2005), elevando a produção de AGCC por esses organismos e podendo ser utilizados como fonte de energia por enterócitos e colonócitos do hospedeiro (SWANSON et al., 2002). Como resultado dessa produção, há diminuição do pH do trato gastrointestinal e inibição do desenvolvimento de bactérias patogênicas (MATHEW; SUTTON; SCHEIDT, 1993). Os AGCC de maior relevância produzidos no intestino dos peixes são acetato, butirato e propionato, de forma que suas proporções variam de acordo com o substrato presente (FERREIRA, 2012).

Figura 1 - Vias diretas e indiretas promotoras de desempenho e saúde pelos prebióticos



Fonte: Adaptado de Mathew, Sutton e Scheidt (1993); Swanson et al. (2002); Song et al. (2014).

As principais substâncias usadas como prebióticos na nutrição de peixes, são fontes comerciais de frutooligossacarídeos (FOS), mananoligossacarídeos (MOS), galactooligossacarídeos (GOS), beta-glucanos (β -Glucanos) e inulina, apresentando diferentes resultados, com distintos níveis de inclusão (CARBONE; FAGGIO, 2016; NAWAZ et al., 2018). Contudo, estudos têm demonstrado que a inclusão de fontes de fibra alimentar como pró-nutriente, provenientes de diversas matérias primas vegetais (*in natura*, processadas ou residuais), também promovem resultados equivalentes ou superiores a de produtos comerciais (GOULART et al., 2017; ADORIAN et al., 2019).

3.2 UTILIZAÇÃO DE PREBIÓTICOS PARA TILÁPIAS

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma importante espécie aquícola, oriunda da África, Israel e Jordânia e cultivada em todos os continentes (EMBRAPA, 2013; FAO, 2020). É um peixe de regiões tropicais, onívoro e fitoplanctófago que aceita altas densidades de estocagem, com índices produtivos favoráveis ao mercado, devendo ser criado em água com temperatura entre 25 e 31°C, resistindo a temperatura de até 10°C e oxigênio dissolvido acima de 3 mg/L. Possui ótima resposta a oferta de ração extrusadas e peletizadas, com exigência nutricional variando entre 28-42 % de proteína bruta (PB), de modo que a lisina deve compor

5,8% desse nutriente. A relação entre energia digestível e proteína bruta, deve variar entre 8,5 e 9,5 kcal/g/PB de energia digestível. Entretanto, o nível de fibra alimentar na sua dieta ainda não está totalmente definido (FRACALOSSI; CYRINO, 2012).

Pela intensificação da produção de tilápias, estudos vem sendo realizados com o uso de substâncias prebióticas em suas dietas, visando aumento nos índices produtivos, manutenção da saúde e diminuição no uso de antibióticos (RINGØ et al., 2014). Apesar disso, as diversas fontes prebióticas utilizadas têm demonstrado efeitos heterogêneos no desempenho produtivo e ativação do sistema imunológico da espécie, que varia conforme a fase de criação, nível e tempo de inclusão (RINGØ et al., 2010; SONG et al., 2014; HAYGOOD; JHA, 2016; LIU et al., 2017; NAWAZ et al., 2018;).

Conforme Dawood et al. (2020) a inclusão de 500 mg/kg de β -glucanos, na alimentação de juvenis por 60 dias, acarretou em maior taxa de crescimento e resistência alta densidade de estocagem, de modo que os níveis de hemoglobina, lisozima e atividade fagocítica foram aumentados. Em desafio com inseticida fipronil ($C_{12}H_4C_{12}F_6N_4OS$), a suplementação de 0,4 % de β -glucanos aliviou a toxicidade ocasionada pelo agente estressor, através do aumento dos níveis da imunoglobulina M (IgM) e lisozima, assim como, fortaleceu a ação antioxidante em tilápias com comprimento inicial de $11 \pm 0,05$ cm (EL-MURR et al., 2019). Os efeitos redutores de toxidade e melhoria na resposta imunológica também foram evidenciados por Abdelhamid, Elshopakey e Aziza (2020), em teste aos efeitos do organofosforado Diazinon em juvenis com peso médio inicial de 20 gramas ($C_{12}H_{21}N_2O_3PS$).

A utilização de 1,5 e 3 g/kg de MOS por 60 dias para juvenis de tilápias submetidos a desafio com *Yersinia ruckeri*, promoveu aumento na sobrevivência, conversão alimentar, altura de vilosidades intestinais, número de células calciformes, atividade da lisozima sérica (SELIM; REDA, 2015). Os efeitos prebióticos também foram observados por Tiengtam et al. (2015), para essa fase de criação com inclusão de 5 g/Kg de inulina, ocasionando aumento da atividade de lisozima e sistema complemento e conteúdo total de imunoglobulinas. Com o mesmo nível de inclusão, Ibrahem et al. (2010) observou melhorias no ganho de peso, taxa de crescimento, níveis de hematócrito e atividade da lisozima para juvenis, contudo no desafio com *Aeromonas hydrophila* o nível relativo de proteção foi inferior ao tratamento suplementado com 500 mg/Kg de vitamina C (ácido ascórbico). A suplementação de FOS de cadeia curta, para juvenis de tilápias híbridas (*O.niloticus*♀ × *Oreochromis aureus*♂) não demonstrou efeito imunostimulantes (LIU et al., 2017).

O fornecimento de 0,5% do prebiótico comercial Previda® a base de hemicelulose durante 8 semanas, não influenciou o ganho de peso médio, coeficiente de crescimento térmico,

conversão alimentar e sobrevivência, em juvenis de tilápia (ADDO et al., 2017). Nesse contexto, o prebiótico comercial GroBiotic-A® composto por levedura láctea, também não influenciou o desempenho produtivo e respostas imunológicas de juvenis de tilápia, com 2% de inclusão na dieta, porém foi observado maior sobrevivência nos peixes que receberam essa dosagem (PEREDO et al., 2015). A admissão de 1% de mel na dieta dessa espécie, acarretou em aumento do crescimento, conversão alimentar, comprimento das microvilosidades intestinais e atividade das enzimas amilase, protease e lipase (ARYATI et al., 2020).

A combinação de 0,8% de beta glucanos com 600 mg/kg de vitamina C (ácido ascórbico) na dieta de tilápias ($18,86 \pm 0,24$) durante 60 dias, não influenciou o crescimento dos peixes, mas afetou os Glóbulos vermelhos, hematócrito, volume corpuscular médio, proteína plasmática total, albumina, leucócitos, linfócitos, neutrófilos e monócitos (BARROS et al., 2015). Dessa maneira, o mesmo prebiótico suplementado com 1g/kg por 42 dias para juvenis, melhorou o ganho de peso, eficiência alimentar, entretanto a mudança da dieta após 28 dias, para a dieta controle até os 42 dias, aumentou a explosão respiratória de linfócitos, em comparação aos peixes que receberam o beta glucano continuamente (WELKER et al., 2012).

3.3 FIBRAS DE LINHAÇA COMO PRÓ-NUTRIENTE

A linhaça (*Linum usitatissimum L.*) é uma semente oleaginosa que vem sendo cultivada há cerca de 4000 anos, com origens no Oeste asiático e do mediterrâneo, e sendo produzida hoje em todo mundo. Seu grão tem aspecto alongado, achatado e com determinado brilho, possuindo coloração entre amarelo e marrom escuro (GALVÃO et al., 2008; SHIM, et al., 2014). É considerada uma planta rústica de dupla finalidade, devido a produção de fibras para indústria têxtil e grãos para consumo (SOARES, 2009; ZUK et al., 2015). A produção mundial média de grãos é de 3.353.254 toneladas anuais, onde o Canadá é o principal produtor com 486.100 toneladas (FAOSTAT, 2019). O Rio Grande do Sul é o maior produtor brasileiro de linhaça, concentrando quase 100% da produção do país (STANCK; BECKER; BOSCO, 2017)

Considerada rica em nutrientes, a composição média da linhaça é de 41-42% de gordura, 18-20% de proteína, 28% de fibra alimentar total, 7,7% de umidade, 3,4% de cinza e 500 calorias em 100 gramas (SHIM, et al., 2014). Entretanto, esses valores podem ser alterados por fatores genéticos, climáticos, geográficos e de manejo agrônômico (GOMES et al., 2012). A fibra encontrada nos grãos é composta majoritariamente por um conjunto de polissacarídeos não amiláceos e oligossacarídeos resistentes a digestão enzimática dos animais, mas fermentáveis por seletos grupos microbianos encontrados no trato digestório (MACAGNAN;

SILVA; HECKTHEUER, 2016). Cerca de 40% da fibra dos grãos de linhaça é formada pela fração solúvel, onde encontra-se cadeias altamente ramificadas e com muitos grupos hidrofílicos, conferindo maior capacidade de hidratação que a fração insolúvel, formada principalmente por celulose, hemiceluloses e lignina (MORRIS, 2001; BLOEDON; SZAPARY, 2004; SHIM et al., 2014).

De acordo com Goulart et al. (2013), a utilização do farelo de linhaça *in natura* na alimentação de jundiás, também demonstrou efeito prebiótico pela mucilagem, pois esse ingrediente possui alto nível de fibra alimentar, que é composta principalmente por fibras solúveis e insolúveis. Efeitos positivos foram verificados sobre o crescimento e parâmetros imunológicos de jundiás alimentados com dietas contendo 0,5 e 1 % de mucilagem de linhaça (GOULART et al., 2015, 2017).

Outros trabalhos constataram que a inclusão de 10% de fibra de linhaça (proporção 1:4 solúvel-insolúvel) na dieta de jundiá, refletiu em maior ganho de peso, taxa de crescimento específico, deposição de proteína e gordura, assim como, melhorias nos indicadores de imunidade, metabolismo, produção de muco, e aumento do número de células calciformes intestinais e maior resistência ao estresse induzido por hipóxia (ADORIAN et al., 2019, 2020). Para alevinos de tilápia, a mucilagem foi testada nas concentrações de 0,25 e 0,5% na dieta, contendo 18,5 % de fibra alimentar total e resultou em maior taxa de crescimento e peso final na dieta contendo 0,25%, quando comparado a um prebiótico comercial, confirmando seu efeito prebiótico mesmo em baixo nível de suplementação (MOMBACH, 2015).

Nessas pesquisas fica explícito a ação funcional das fibras de linhaça. Porém, ainda é necessário definir o nível ideal de inclusão desse pró-nutriente, assim como, os mecanismos de ativação imunológica envolvidos na promoção de saúde dos peixes.

3.4 ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA PRODUZIDOS POR BACTÉRIAS

A microbiota presente no intestino dos peixes é sensível aos compostos dietéticos, que chegam a essa porção, promovendo fermentação desses substratos e produzindo ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) (HAYGOOD; JHA, 2016). Os principais produtos da fermentação da fibra alimentar são acetato, butirato e propionato, de modo que, suas produções dependem da composição química desse substrato degradado pelas bactérias (FERREIRA, 2012). A quebra da fibra alimentar em monossacarídeos, acontece pela ação de enzimas específicas de bactérias pertencentes em especial aos filos *Bacteroidetes* e *Firmicutes* (KOH et al., 2016; LI et al., 2019).

Os principais gêneros envolvidos na produção de AGCC são *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Eubacterium* e *Bacteroides* pela (SILVA; NÖRNBERG, 2003; FLEMMING; FREITAS, 2005; FERREIRA, 2016). Nesse contexto os probióticos são uma ferramenta utilizável via dieta para elevar a produção de AGCC, de modo que em simbiose com prebióticos são relacionadas melhorias no desempenho, digestibilidade, taxa de sobrevivência, respostas imunológicas, resistência a doenças e estrutura e função do trato intestinal (TRAN et al., 2018). Os AGCC também podem ser fornecidos como suplementos alimentares, demonstrando efeitos promissores sobre o desempenho e saúde dos peixes (HOSEINIFAR; SUN; CAIPANG, 2016).

O Acetato é um dos principais produtos da fermentação da fibra, originado a partir de piruvato via acetil-CoA e via Wood-Ljungdahl, de modo que após absorvido é metabolizado pelo fígado e utilizado na biossíntese de lipídios (RÍOS-COVIÁN et al., 2016). Essa biossíntese pode ser inibida pela produção de propionato, o qual é capaz de reduzir a gordura visceral e do fígado (MORRISON; PRESTON, 2016). Para formação do propionato as vias envolvidas no processo são as do succinato, acrilato e propanodiol, atuando sobre a gliconeogênese dos peixes (KOH et al., 2016; RÍOS-COVIÁN et al., 2016). Já o butirato é obtido através do butiril-CoA o qual sofre ação das enzimas fosfotransbutirilase e butirato quinase ou pela via butiril-CoA: acetato-CoA-transferase, agindo na biossíntese lipídica (LOUIS et al., 2010).

A modulação na saúde dos peixes, oriunda do aumento na produção de AGCC ocorre pela diminuição do pH luminal, inibição do desenvolvimento de bactérias patogênicas, neutralização de enterotoxinas e podem ser utilizados como fonte de energia direta por enterócitos e colonócitos (MATHEW; SUTTON; SCHEIDT, 1993; SWANSON et al., 2002). O pH mais ácido do intestino leva bactérias patogênicas a cessarem seu desenvolvimento, tornando o ambiente mais favorável as bactérias benéficas que atuam com pH mais básico. Também é observado neutralização de enterotoxinas produzidas por coliformes e redução na formação de toxinas intestinais, na presença de *Bifidobacterium* (SISSONS, 1989; STEWART; CHESSON, 1993).

O ácido butírico pode ser utilizado como fonte de energia direta por enterócitos e colonócitos intestinais, aumentando o turnover de energia para os peixes e diminuindo o aporte da mesma via dieta (SWANSON et al., 2002; MAAS et al., 2020). Para juvenis de tilápia a inclusão de 1% de um prebiótico a base de mel, promoveu aumento nas quantidades totais de butirato e com utilização de 0,25% do prebiótico levou a maiores índices de acetato (ARYATI et al., 2020). Para a *Ctenopharyngodon idella* o fornecimento de 400 mg/kg de MOS durante 60 dias aumentou a produção de butirato e propionato (LU et al., 2020). Entretanto não foi verificada diferença nos AGCCs de juvenis tilápias alimentadas com dietas contendo 40% de

cereais incluídos a matriz nutricional (1-milho, 2-trigo, 3-cevada e 4-centeio) (LEENHOUWERS, et al., 2007).

A produção de acetato e quantidade total de AGCC foi elevada pela inclusão de amido gelatinizado (181,8 g/kg) na dieta de juvenis de tilápia durante 56 dias, porém as quantidades de butirato e propionato não foram afetadas pelo substrato utilizado (AMIRKOLAIE; VERRETH; SCHRAMA, 2006). Nesse contexto a suplementação de 150 g/kg de α -amido por 14 dias aumentou os níveis de acetato, propionato e total de AGCC para essa espécie (KIHARA; SAKATA, 1997). Para a tilápia híbrida vermelha, ($\pm 1,86g$) o fornecimento de 4% de citrato de sódio por 50 dias, reduziu a quantidade de acetato, butirato e propionato (ROMANO et al., 2016).

4. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Piscicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), em duas fases: (1) Extração das frações de fibras dos grãos de linhaça e avaliação de sua composição físico-química. (2) Realização de um ensaio biológico, com inclusão do pró-nutriente de fibras funcionas de linhaça na dieta de juvenis de tilápia do Nilo, para obtenção dos resultados expressos pelos peixes (aprovação no Comitê de Ética em Experimentação Animal da universidade, sob nº de processo 2519230720).

4.1 OBTENÇÃO DAS FIBRAS FUNCIONAIS DE LINHAÇA E ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Os grãos de linhaça foram adquiridos da empresa MaxCereal Comércio de Cereais e Rações Ltda (Giruá-RS) e processados em duas etapas sequenciais, para extração das porções de fibras que compõem dietas experimentais.

Na primeira etapa, a mucilagem (MU) da linhaça (compostos solúveis em água) foi extraída com metodologia adaptada de Goulart et al. (2013), a partir da imersão do grão inteiro em água na proporção de 20% peso/volume, em temperatura variando de 60°C a 80°C, sob agitação de 40 rpm, em misturador giratório (Prógás, modelo PRMOG-07), durante 40 minutos. Após esse tempo, a fração aquosa foi retirada e peneirada (3 mm). A operação descrita foi repetida por mais três vezes, para otimizar a extração da mucilagem, resultando em concentração final $9,85 \pm 0,37\%$ da mucilagem em água. A concentração da mucilagem foi obtida pela diferença do peso do grão *in natura* e o grão demucilado seco.

O produto da extração foi seco por atomização (Labmaq do Brasil Ltda, modelo MSD 1.0) a partir de metodologia adaptada de Santos et al. (2014) e Engel et al. (2016). As variáveis operantes seguiram regulagens de temperatura a 130°C, taxa de alimentação 1 L/H, taxa de atomização 45 L/min e taxa de fluxo de ar 1,8 m³/min e bico atomizador de 1,2mm.

Na segunda etapa foi extraída a fração de fibras insolúvel (FI) contida no grão demucilado, seguindo metodologia proposta por Goulart et al. 2013 e adaptada por Adorian et al. (2019). Inicialmente, o grão demucilado foi moído em micro moinho (MA-630; Marconi, Brasil) com partículas de 590 µm e submetido a quatro processos sequenciais de lavagem com solvente hexano na proporção de 1:2 (peso/volume), com média de 30 minutos entre lavagens para retirada da fração lipídica. No material desengordurado, a fração proteica foi extraída por dispersão em água destilada à temperatura média de 24-28°C, com uso de triturador de facas

(Metvisa, modelo LQL.06) a 3500 rpm, na proporção de 1:30 (peso/volume), (três processos sequenciais, com duração de 3min/processo). O material insolúvel resultante foi seco em estufa de circulação de ar (MA035; Marconi, Brasil) (55°C/24 h) e sequencialmente moído em micro moinho por três vezes (60 segundos a 4000 rpm) (MA-630; Marconi, Brasil).

Os produtos das duas etapas (mucilagem e fração insolúvel) foram analisados (Tabela 1) quimicamente quanto a composição de matéria seca (método nº 925.45b), cinzas (método nº 923.03), proteína bruta (método nº 960.52), fibra alimentar total, solúvel e insolúvel (método nº 991.43), conforme descrito pela AOAC (1995) e gordura segundo Bligh e Dyer (1959). Os materiais também foram analisados quanto a suas propriedades físico-químicas de capacidade de hidratação e de ligação à gordura, conforme Wang e Kinsella (1976). As porções obtidas nas etapas descritas foram usadas para compor o pró-nutriente de fibras, na proporção 1:4 MU:FI, para todos os níveis de inclusão (ADORIAN, 2018).

Tabela 1 – Composição nutricional analisada (g/kg) das fibras funcionais extraídas da linhaça

Composição analisada		
	Mucilagem	Fração Insolúvel
Matéria seca	967,30	955,40
Proteína bruta	144	271,10
Gordura	5,60	159,50
Fibra alimentar total	544,10	602,90
Fibra solúvel	518,10	45,10
Fibra insolúvel	25,80	557,8
Matéria mineral	10,03	34,2
Propriedades físico-químicas		
Capacidade de hidratação ¹	20,21	4,85
Capacidade de ligação a gordura ²	2,10	2,73

¹ Capacidade de hidratação: g água/ g amostra;

² Capacidade de ligação a gordura: g gordura/g amostra;

4.2 DIETAS EXPERIMENTAIS

Cinco dietas experimentais (Tabela 1) foram formuladas, a partir uma única matriz isonutritiva, seguindo recomendações estabelecidas para a espécie (FURUYA, 2010; FRACALOSSO; CYRINO, 2012). Os tratamentos constituíram na inclusão de níveis crescentes

das fibras funcionais de linhaça, (00, 20, 40, 60 e 80 g/kg) a base nutricional, onde o nível 00 g/kg corresponde ao grupo controle. Os ingredientes utilizados nas dietas experimentais foram moídos, peneirados (590 μ m), pesados, homogeneizados e a mistura foi peletizada em matriz de 3 mm. Após secas em estufa de recirculação de ar a 50°C por 24 horas, as dietas experimentais foram moídas a granulometria média de 3-4 mm e armazenadas a -20°C durante todo o período experimental.

As dietas experimentais foram analisadas quanto a sua composição e propriedades físico-químicas, com análise de proteína bruta (método 960.52), fibra alimentar total, solúvel e insolúvel (método 991.43) (AOAC, 1995), gordura (BLIGH e DYER, 1959), capacidade de hidratação e de ligação à gordura (WANG e KINSELLA, 1976) e capacidade de ligação ao cobre (MCBURNEY, 1983).

Tabela 2 - Formulação dietética em matéria natural, composição nutricional analisada e propriedades físico-químicas das dietas experimentais (g/kg)

INGREDIENTES (g/kg)	Tratamentos ¹				
	00	20	40	60	80
Farinha de peixe ²	415,90	415,90	411,60	403,10	396,80
Amido de milho	335,70	335,70	335,70	335,70	335,70
Concentrado de soja	43,80	43,80	43,80	43,80	43,80
Pró-nutriente de fibras de linhaça	00,00	20,90	41,80	62,60	83,50
NaCl	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Óleo de soja	26,00	24,30	24,40	26,40	27,50
Óleo de linhaça	10,80	8,10	5,40	2,70	00,00
Premix vitamínico e mineral ³	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00
BHT ⁴	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Inerte ⁵	132,70	116,20	102,20	90,60	77,60
Total	1000	1000	1000	1000	1000
Composição analisada em g/kg					
Matéria seca	947,70	945,50	951,00	949,00	957,10
Proteína bruta	314,40	317,53	315,79	318,75	317,98
Energia calculada (MJ/kg) ⁶	9,17	9,15	9,09	9,28	9,44
Gordura	73,60	71,00	70,50	74,10	79,50
Fibra alimentar total	12,60	29,70	41,60	52,70	79,86
Fibra solúvel	4,10	8,60	10,90	17,80	24,12
Fibra insolúvel	8,40	21,0	30,60	34,80	55,74
Matéria mineral	238,80	232,50	215,10	203,50	187,30

Propriedades físico-químicas					
Capacidade de hidratação ⁷	1,69	1,36	1,30	1,36	1,37
Capacidade de ligação a gordura ⁸	1,92	2,05	1,95	1,89	1,87
Capacidade de ligação ao cobre ⁹	12,64	12,65	13,68	12,73	13,13

¹ Tratamentos contendo níveis crescentes de fibras funcionais de linhaça na proporção 1:4 solúvel:insolúvel.

² Farinha de resíduos de tilápia /Toledo-Paraná/RS, Brasil.

³ Composição (kg): Ácido fólico 997.50 mg; Ácido Pantoténico 9975.00 mg; Biotina 159.60 mg; Cobalto 39.90 mg; Cobre 2800.00 mg; Etoxiquina 24.78 g; Ferro 19.62 g; Iodo 120.00 mg; Manganês 5200.00 mg; Niacina 19.95 g; Selenio 119.70 mg; Zinco 28.00 g; Vit.A 1995000 UI; Vit. B1 4987.50 mg; Vit. B12 5985,00 mg; Vit. B2 4987.50g; Vit. B6 4987.50 mg; Vit. C 70.00 g; Vit. D3 198000.05 UI; Vit. E 19950.00 UI; Vit. K 997.50 mg.

⁴ Butil hidroxi tolueno (BHT).

⁵ Areia.

⁶ Energia digestível calculada = [(proteína bruta × 5640 kcal/kg × 0.9) + (gordura × 9510 kcal/kg × 0.85) + (Carboidratos × 4110 kcal/kg × 0.50)] (Jobling, 1983).

⁷ Capacidade de hidratação: g água/g amostra.

⁸ Capacidade de ligação a gordura: g gordura/g amostra.

⁹ Capacidade de ligação ao cobre: mg Cu/ g amostra.

4.3 ANIMAIS E ALIMENTAÇÃO

Foram utilizados 500 juvenis de tilápia com peso médio inicial de $13,33 \pm 0,13$ g, sendo distribuídos aleatoriamente 25 animais em cada unidade experimental. Durante o período experimental, os animais foram alimentados até a saciedade aparente, três vezes ao dia (9:00, 12:00 e 17:00 horas) por 60 dias. O ensaio biológico foi conduzido em sistema fechado de recirculação de água, com uso de 20 tanques de polipropileno (unidades experimentais) de 290 litros de capacidade, com entrada e saída de águas independentes, uma caixa de decantação, filtro biológico de pedra britada nº 2 (19 a 29 mm), reservatório de água com capacidade de 2000 litros aquecido por uma resistência de 1000 W e motobomba de 1cv.

4.4 QUALIDADE DE ÁGUA

A temperatura da água do circuito experimental foi mantida em $25,45 \pm 1,18$ °C com auxílio de climatização artificial. Os parâmetros da qualidade da água foram medidos semanalmente com kit colorimétrico Alfakit[®], obtendo-se os seguintes valores: oxigênio dissolvido: $7,33 \pm 0,50$ mg/L; alcalinidade: 40 ± 0 mg CaCO₃/L; dureza: $33,33 \pm 10$ mg CaCO₃/L; amônia: $0,13 \pm 0,07$ mg/L; nitrito: $0,01 \pm 0,01$ mg/L e pH: $6,8 \pm 0,43$.

Para manutenção da qualidade da água as unidades experimentais foram sifonadas diariamente, antes da primeira e da última alimentação (8:00 e 15:30 horas), assim como, foram realizadas limpezas semanais dos encanamentos do circuito.

4.5 EFICIÊNCIA DE DESEMPENHO

Todos os peixes foram pesados e medidos no início e no final do período experimental, sendo previamente submetidos a jejum de 18 horas e anestesiados com Benzocaína 132 mg/L para manipulação (OKAMURA et al., 2010). Com os dados coletados, calculou-se o ganho de peso individual (g), comprimento total (cm), consumo por peixe (g), conversão alimentar aparente (CAA), fator de condição: $FC = (\text{Peso} \times 100) / (\text{Comprimento total})^3$, sobrevivência (%) e taxa de crescimento específico (%/dia): $TCE = \{[(\text{LN peso final} - \text{LN peso inicial}) / \text{dias}] \times 100\}$, onde LN: logaritmo neperiano.

Na biometria inicial, uma amostragem de 10 peixes foi coletada para análises de composição corporal, sendo determinados matéria seca, cinzas e proteína bruta (AOAC, 1995) e gordura pelo método de Bligh e Dyer (1959).

4.6 COMPOSIÇÃO CORPORAL E DEPOSIÇÃO DE NUTRIENTES

Para determinação da composição corporal do peixe inteiro (oito peixes/tratamento) foram abatidos por overdose de Benzocaína (250 mg/L) e utilizados para determinação de matéria seca, cinzas e proteína bruta (AOAC, 1995) e gordura pelo método de Bligh e Dyer (1959). A partir dos resultados, foram calculados a deposição de proteína corporal (g): $[\text{FW} \times (\% \text{ FBP}/100)] - [\text{IW} \times (\% \text{ IBP}/100)]$ e deposição de gordura corporal (g): $[\text{FW} \times (\% \text{ FBP}/100)] - [\text{IW} \times (\% \text{ IBP}/100)]$. Onde: FW = peso final; IW = peso inicial; IBP = proteína corporal inicial; FBP = proteína corporal final; IBF = gordura corporal inicial; FBF = gordura corporal final.

4.7 RENDIMENTO CORPORAL E ÍNDICES DIGESTIVOS

Oito animais por tratamento foram utilizados para determinar o índice somático digestivo (DSI): $(\text{peso trato digestivo} / \text{peso peixe inteiro}) \times 100$; índice hepatossomático (HSI): $(\text{peso fígado} / \text{peso peixe inteiro}) \times 100$; índice de gordura visceral (VFI): $(\text{peso da gordura visceral} / \text{peso total}) \times 100$; quociente intestinal (QI): $(\text{comprimento trato digestivo} / \text{comprimento total dos peixes})$; e rendimento corporal (CY): $(\text{peso peixe eviscerado com cabeça e brânquias} / \text{peso total}) \times 100$. Os intestinos destes peixes foram utilizados para determinação da atividade das enzimas digestivas e os fígados para análise de metabólitos hepáticos.

4.8 ENZIMAS DIGESTIVAS

Amostras de intestinos de oito peixes/tratamento foram coletadas para determinação da atividade das enzimas tripsina e quimotripsina. O material foi homogeneizado em turrax com uma solução tampão (10 mM de fosfato/Tris 20 mM) e centrifugado (rpm e tempo). O sobrenadante foi utilizado no ensaio como fonte de enzima (extratos) para a determinação de atividade das enzimas digestivas. Para atividade da tripsina foi utilizado TAME como substrato (toluenesulphonyl- ρ - α -L-argininemethyl cloridrato de éster). Os extratos dos intestinos foram incubados à 60°C durante dois minutos em solução tampão (2 ml de Tris/CaCl₂, pH 8,1), com atividade expressa em μ mol de TAME hidrolisado/minuto/mg de proteína.

Para a determinação da quimotripsina, o substrato utilizado foi BTEE (éster etílico de benzoil-L-tirosina), os extratos foram incubados à 60°C durante dois minutos numa solução tampão de 2 ml de Tris/CaCl₂, pH de 7,8. A atividade da quimotripsina foi expressa em μ mol de BTEE/minuto/mg de proteína. As leituras foram feitas em espectrofotômetro a absorvância de 247 e 256 nm, respectivamente, seguindo a metodologia descrita por Hummel (1959). Os extratos usados para determinação das enzimas tiveram sua proteína dosada por Bradford (1976), para expor os resultados em função da proteína presente.

4.9 PARÂMETROS PLASMÁTICOS

Os parâmetros plasmáticos foram analisados a partir da coleta de sangue de oito peixes/tratamento por punção do vaso caudal com seringas heparinizadas. As amostras foram centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos para obtenção do plasma, onde foram determinados os níveis de glicose, proteínas totais circulantes, albumina, globulina (proteínas totais - albumina = globulina), triglicérides e colesterol total utilizando kits colorimétricos comerciais (Labtest®).

4.10 METABÓLITOS HEPÁTICOS

Oito peixes por tratamento foram utilizados para determinação dos metabólitos hepáticos. As amostras de fígado (50 mg) foram aquecidas a 100°C com KOH para estimar o teor de proteína de acordo com metodologia proposta por Bradford (1976). Em uma alíquota desse extrato, foi adicionado etanol para hidrolisar e precipitar o glicogênio e, após centrifugado a 1000g por 10 min, para determinar o teor de glicogênio (PARK e JOHNSON, 1949). As

amostras de fígado (50 mg) foram homogeneizadas em ácido tricloroacético (TCA) 10 g / kg e centrifugadas (1000g, 10 min), e o sobrenadante foi utilizado para quantificação da glicose (PARK e JOHNSON, 1949).

4.11 ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA (AGCC)

Os conteúdos intestinais de quatro peixes/tratamento foram coletados para quantificação de ácidos graxos de cadeia curta, através de cromatografia gasosa, conforme metodologia adaptada de Zhao, Nyman e Jönsson (2006) e Silva et al. (2014). Para extração dos AGCC das amostras, foram pesados 2 gramas do conteúdo intestinal em tubos de ensaio, diluído em 2 mL de água Mili-Q e homogeneizadas em vortex por cerca de 3 minutos. Após o pH foi ajustado a 2-3 com HCL 5M e centrifugado por 20 minutos a 5000 rpm, coletando o sobrenadante e acrescentando ácido 2-etilbutírico, gerando uma concentração final de 1 mM (18 uL de PI 54,75 mM + 982 uL de sobrenadante) e sendo injetado no cromatógrafo.

As condições cromatográficas seguidas foram: Coluna = Nukol TM (30 m; 0,25 mm, 0,25 um), Temperatura do injetor e do detector: 250 °C, Volume de injeção: 1 uL, com split taxa 1:10, Gás carreador: nitrogênio, fluxo = 1 mL/min, Temperatura do FID: 240°C, Temperatura da porta de injeção: 200°C, Fluxo de hidrogênio: 30 mL/min, Fluxo de ar: 300 mL/min e Fluxo de nitrogênio: 20 mL/min.

Os resultados foram obtidos pela comparação das áreas apresentadas de cada ácido graxo, com os as curvas de ácido acético glacial, ácido propiônico, ácido butírico e ácido isovalérico e expressos pelo somatório dos ácidos graxos de cadeia curta em Milimolar/kg de fezes.

4.12 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições. Inicialmente, os dados foram analisados para identificação de *outliers*. Os dados foram submetidos à análise de normalidade, regressão linear, variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey. As diferenças foram consideradas significativas ao nível de $P < 0,05$. A regressão linear não foi significativa entre o modelo de previsão e as médias.

5 RESULTADOS

5.1 EFICIÊNCIA DE DESEMPENHO

O desempenho dos peixes não foi influenciado significativamente pela inclusão dos níveis do pró-nutriente de fibras funcionais de linhaça na dieta (Tabela 3), para as variáveis ganho de peso, comprimento total, fator de condição, taxa de crescimento específico, consumo, conversão alimentar e sobrevivência.

Tabela 3 - Parâmetros de desempenho de juvenis de tilápias alimentados com níveis crescentes do pró-nutriente de fibras funcionais de linhaça

	Pró-nutriente de fibras em g/kg					Estatística	
	00	20	40	60	80	EP	P-valor
Ganho de peso/peixe (g)	83,70	82,51	82,20	82,84	83,88	0,61	0,910
Comprimento total (cm)	16,81	16,86	16,79	16,73	16,75	0,04	0,896
Fator de condição	2,033	2,030	2,033	2,040	2,038	0,00	0,994
Taxa crescimento específico (%/dia)	3,22	3,22	3,21	3,22	3,23	0,01	0,997
Consumo total (g)	83,22	83,98	83,03	83,30	82,81	0,69	0,985
Conversão alimentar aparente	1,05	1,06	1,04	1,06	1,03	0,01	0,964
Sobrevivência (%)	100	100	98	100	99	0,32	0,199

Valores expressos em médias. EP: erro padrão. Letras diferentes nas mesmas linhas indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

5.2 COMPOSIÇÃO CORPORAL E DEPOSIÇÃO DE NUTRIENTES

A composição química e deposição de nutrientes foram influenciadas estatisticamente pelas dietas testadas (Tabela 4). Os peixes alimentados com dietas contendo 20 e 60 g/kg, apresentaram maior gordura corporal, assim como foi observado maior deposição de gordura nos peixes consumindo 20 g/kg do pró-nutriente de fibras funcionais. A dieta contendo 60 g/kg proporcionou maior matéria seca corporal, quando comparada aos peixes alimentados com dieta sem inclusão do pró-nutriente. Proteína bruta, cinzas e deposição de proteína, não foram influenciadas significativamente.

Tabela 4 - Composição corporal (g/kg) e deposição de proteína e gordura (g) em juvenis de tilápia alimentados com níveis crescentes do pró-nutriente de fibras funcionais de linhaça

	Pró-nutriente de fibras em g/kg					Estatística	
	00	20	40	60	80	EP	P-valor
Composição corporal (g/kg)							
Proteína bruta	137,60	144,40	140,60	145,50	134,80	0,17	0,275
Gordura	68,30 ^{ab}	75,20 ^a	63,50 ^b	78,10 ^a	68,00 ^{ab}	0,14	0,007
Matéria seca	245,80 ^b	270,90 ^{ab}	261,30 ^{ab}	281,60 ^a	260,60 ^{ab}	0,35	0,008
Cinzas	38,30	38,50	41,60	40,90	37,40	0,07	0,405
Deposição de proteína e gordura (g)							
Proteína	152,20	142,30	137,60	135,20	133,30	0,40	0,633
Gordura	71,10 ^{ab}	78,20 ^a	60,80 ^b	76,20 ^{ab}	71,90 ^{ab}	0,19	0,023

Valores expressos em médias. EP: erro padrão. Letras diferentes nas mesmas linhas indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey (P <0,05).

5.3 RENDIMENTO CORPORAL E ÍNDICES DIGESTIVOS

As dietas contendo diferentes níveis do pró-nutriente de fibras funcionais de linhaça, não influenciaram significativamente (Tabela 5) o rendimento corporal, índice hepatossomático, índice digestivo somático, quociente intestinal e índice de gordura visceral.

Tabela 5 - Rendimento corporal (g/kg) e índices digestivos (%) de juvenis de tilápia alimentados com níveis crescentes do pró-nutriente de fibras funcionais de linhaça

	Pró-nutriente de fibras em g/kg					Estatística	
	00	20	40	60	80	EP	P-valor
Rendimento corporal	867,10	873,10	871,60	871,60	876,20	0,18	0,688
Índice hepatossomático	17,40	17,00	17,00	16,90	15,40	0,05	0,785
DSI	44,60	46,30	49,80	44,60	43,40	0,12	0,514
Quociente intestinal	61,10	66,10	65,80	59,50	65,60	0,14	0,490
Índice de gordura visceral	19,30	18,70	17,20	14,90	15,10	0,14	0,845

Valores expressos em médias. EP: erro padrão. Letras diferentes nas mesmas linhas indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey (P <0,05).

5.4 ENZIMAS DIGESTIVAS

Os níveis de fibras funcionais de linhaça não afetaram significativamente a atividade das enzimas quimotripsina e tripsina nos peixes (Tabela 6).

Tabela 6 -Atividade digestiva das enzimas quimotripsina e tripsina de juvenis de tilápias alimentados com níveis crescentes do pró-nutriente de fibras funcionais de linhaça

Tratamentos g/kg	Quimotripsina	Tripsina
	$\mu\text{mol}/\text{btee}/\text{min}/\text{mg}$ proteína	$\mu\text{mol}/\text{tame}/\text{min}/\text{mg}$ proteína
00 pró-nutriente	6546,42	4,219
20 pró-nutriente	7608,98	5,214
40 pró-nutriente	8996,10	4,819
60 pró-nutriente	7240,37	4,304
80 pró-nutriente	5721,29	4,300
Erro padrão EP	667,14	0,297
P-valor	0,655	0,811

Valores expressos em médias. EP: erro padrão. Letras diferentes nas mesmas linhas indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

5.5 PARÂMETROS PLASMÁTICOS

Os parâmetros plasmáticos dos juvenis de tilápias quanto a proteínas totais, albumina, globulina, glicose, triglicerídeos, colesterol não foram influenciados pela inclusão dos níveis do pró-nutriente na dieta (Tabela 7).

Tabela 7 - Parâmetros plasmáticos apresentados por juvenis de tilápias alimentados com níveis crescente do pró-nutriente de fibras funcionais de linhaça

	Pró-nutriente de fibras em g/kg					Estatística	
	00	20	40	60	80	EP	P-valor
Proteínas totais (g/dL)	3,02	2,89	2,92	2,98	2,79	0,02	0,105
Albumina (g/dL)	1,28	1,36	1,31	1,39	1,23	0,03	0,497
Globulina (g/dL)	1,71	1,57	1,64	1,62	1,58	0,02	0,549
Glicose (mg/dL)	55,00	56,50	67,42	57,14	53,71	1,82	0,111
Triglicerídeos (mg/dL)	190,00	230,14	151,85	175,37	172,12	9,98	0,159
Colesterol (mg/dL)	103,62	103,85	104,28	104,62	101,28	1,41	0,961

Valores expressos em médias. EP: erro padrão. Letras diferentes nas mesmas linhas indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

5.6 METABÓLITOS HEPÁTICOS

Não foram verificadas diferenças estatísticas (Tabela 8) para os metabólitos hepáticos glicose, glicogênio e proteína nos níveis testados.

Tabela 8 - Metabólitos hepáticos apresentados por juvenis de tilápias alimentados com níveis crescente do pró-nutriente de fibras funcionais de linhaça

	Pró-nutriente de fibras em g/kg					Estatística	
	00	20	40	60	80	EP	P-valor
Glicose ($\mu\text{mol/g}$)	84,79	85,45	92,09	83,75	97,56	2,81	0,512
Glicogênio ($\mu\text{mol/g}$)	3,27	3,09	3,45	4,17	4,17	0,19	0,244
Proteína ($\mu\text{mol/g}$)	29,60	27,28	27,25	26,05	26,35	0,80	0,681

Valores expressos em médias. EP: erro padrão. Letras diferentes nas mesmas linhas indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

5.7 ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA

A produção de ácidos graxos de cadeia curta foi influenciada significativamente pela inclusão do pró-nutriente de fibras funcionais de linhaça (Tabela 9). Os peixes alimentados com dietas contendo 60 g/kg, apresentaram maiores índices de AGCC totais, quando comparado as demais dietas.

Tabela 9 - Ácidos Graxos de cadeia curta (mM/kg de digesta) medidos em juvenis de tilápias alimentados com níveis crescente do pró-nutriente de fibras funcionais de linhaça

Tratamentos g/kg	AGCC mM/kg de digesta
00 pró-nutriente	1,53 ^b
20 pró-nutriente	2,53 ^b
40 pró-nutriente	1,98 ^b
60 pró-nutriente	4,67 ^a
80 pró-nutriente	1,98 ^b
Erro padrão EP	0,31
P-valor	0,01

Valores expressos em médias. EP: erro padrão. Letras diferentes nas mesmas linhas indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

6. DISCUSSÃO

A inclusão do pró-nutriente de fibras funcionais de linhaça em dietas para juvenis de tilápia não promoveu melhorias no desempenho produtivo (Tabela 2). O produto é formado por fibras solúveis e insolúveis, constituídas principalmente por monossacarídeos e polissacarídeos não amiláceos e oligossacarídeos indigestível e com capacidade fermentativa a nível intestinal, o que indica seu potencial de atuar como prebiótico conforme Adorian et al. (2020), uma vez que serve como substrato para o desenvolvimento de microbiota benéfica e ocasiona efeitos indiretos sobre o desempenho dos peixes (FARIAS et al., 2019). As frações de fibras, também são constituídas de proteínas, gorduras e minerais (ADORIAN et al., 2021).

Resultados controversos são encontrados na literatura atual, ao investigar a ação prebiótica de diferentes substâncias. Enquanto estudos avaliando a inclusão de prebióticos a base de beta-glucanos, scFOS, MOS e pectinas também não impactaram no desempenho de tilápias (WHITTINGTON, LIM, KLESIUS, 2005; SOUZA et al., 2020; AMPHAN et al., 2019; LIU et al., 2017; CAVALCANTE et al., 2020; KABIR et al., 2020), efeitos positivos são relatados com a utilização de inulina, fibra de linhaça, assam, beta-glucanos e pectina (IBRAHEM et al., 2010; MOMBACH, 2015; VAN DOAN et al., 2019; EL-BOSHY et al., 2010; PILARSKI et al., 2017; DAWOOD et al., 2020; HOSEINIFAR et al., 2021). A inconsistência de resultados se deve a inúmeros fatores, como fase de desenvolvimento dos peixes, tempo de duração do ensaio biológico, sistema experimental utilizado, quantidade, substância prebiótica testada e até mesmo o nível de melhoramento genético destes animais (RINGØ et al., 2012; SONG et al., 2014; NAWAZ et al., 2018; DAWOOD et al., 2019; ZHONG et al., 2020).

Apesar não provocar alterações no desempenho dos peixes, a utilização do pró-nutriente de fibras de linhaça influenciou positivamente a composição corporal dos animais (Tabela 3). A inclusão de 20 e 60 g/kg do pró-nutriente na dieta promoveu maior teor de gordura corporal e deposição de gordura levando ao maior teor de matéria seca corporal (FAUCONNEAU et al., 1995). Tal aumento pode ter ocorrido devido ao aproveitamento direto dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) produzidos pela microbiota intestinal (Tabela 8), como fonte de energia pelos enterócitos e colonócitos, diminuindo o aporte de energia necessária via dieta e gerando estoque na forma de gordura (SWANSON et al., 2002; KOH et al., 2016; NAWAZ et al., 2018).

Esse efeito poupador causado pelos AGCC, pode ter levado a fonte lipídica de linhaça na dieta, ser acumulada como reserva de energia, mantendo sua composição rica em ácidos graxos das séries ômega, os quais são relacionados a melhorias na saúde dos animais (SCHNEIDER et al., 2015; ASELY et al., 2020; BARRIVIERA et al., 2021), assim como,

indicados para consumo humano (LEGRAND et al., 2009; SILVA; BRAZZONI; SINGER, 2013; TARIQ et al., 2017). Compreendendo que existe uma relação de igualdade entre a quantidade de gordura ofertada na ração e a verificada na composição corporal dos peixes (LUGO et al., 2003; MARTINS et al., 2009), as fontes lipídicas das dietas não influenciaram a composição corporal das tilápias.

Da mesma maneira, a ausência de diferenças nos metabólitos hepáticos (Tabela 7), glicose, triglicerídeos e colesterol plasmáticos (Tabela 6), sugere possível ação dos AGCC bacterianos. Uma maior reserva energética nos peixes em fases iniciais, sem acréscimo de energia via ração, pode ser uma alternativa que leve a maior desempenho, sem elevar o custo da alimentação dos mesmos. Além dos efeitos sobre as bactérias intestinais, o pró-nutriente pode ter melhorado a saúde dos animais, pela interação com células de defesa, de modo a melhorar as respostas inflamatórias locais (CUNNINGHAM et al., 2021). Entretanto é necessário a testagem para confirmação do efeito.

Embora verificados efeitos significativos na composição corporal dos peixes, o índice digestivo somático e quociente intestinal (Tabela 4) não foram alterados pelo pró-nutriente, demonstrando não ter ocorrido mudanças anatomo-fisiológicas do sistema digestório para adaptação à dieta (ADORIAN et al., 2020). Como as dietas experimentais eram isocalóricas, houve aproveitamento padronizado da energia entre os tratamentos testados, refletindo na ausência de diferenças no índice de gordura visceral, parâmetros plasmáticos e enzimas digestivas. A atividade das enzimas quimotripsina e tripsina não sofreu alteração (Tabela 5), o que consideramos positivo, pois os peixes não aumentaram ou diminuíram as secreções enzimáticas, para corrigir mudanças absorptivas causadas pelo pró-nutriente (MIRGHAED et al., 2018). Nesse contexto é refletida a padronização da degradação proteica das dietas e sua metabolização. Esse resultado é reforçado pela equivalência na composição corporal proteica e deposição de proteína das tilápias.

Ausência de mudanças nos parâmetros plasmáticos foram observados com a inclusão de inulina como prebiótico na dieta dos peixes (IBRAHEM et al., 2010; MOURIÑO et al., 2011; TIENGTAM et al., 2015; SOUZA et al., 2020). É sabido que uma elevada capacidade de hidratação das dietas pode levar a alterações na absorção da glicose plasmática, devido ao aumento de viscosidade do quimo, impedindo a aderência enzimática (FABEK et al., 2014; ABIRAMI et al., 2014). Porém, como os níveis das porções de fibras testados não impactaram a capacidade de hidratação das dietas, é razoável supor que a viscosidade da digesta não foi

alterada pelos tratamentos testados e, por conseguinte, não foram verificadas alterações absorptivas que alterassem os parâmetros plasmáticos mensurados no presente estudo.

Esse resultado reforça a possibilidade de que os maiores teores de gordura corporal e deposição de gordura, sejam reflexos da fermentação do pró-nutriente a nível intestinal, pois sabemos que toda microbiota intestinal é sensível a compostos dietéticos que entram no colón (MACAGNAN et al., 2016; LEEMING et al., 2019). Desse modo, bactérias produtoras de AGCC, principalmente *Bacteroidetes* e *Firmicutes* que são relacionadas a degradação de compostos fibrosos (LI et al., 2019), podem ter sido estimuladas pelo pró-nutriente. Como o metabolismo energético dos peixes não foi alterado, sugere-se que a gordura foi depositada pelo maior *turnover* de energia, visto o nível 60.00 g/kg promoveu maiores quantidade de AGCCs totais na digesta das tilápias.

Os metabólicos hepáticos de glicose, glicogênio e proteína (Tabela 7) não sofreram influência do pró-nutriente, não causando diferenças nas reservas energéticas e alteração proteica no fígado. Como consequência, não foram verificadas modificações no índice hepatossomático, o que era esperado, pelos metabólitos apresentados. A ausência de mudanças nesses índices reforça a influência verificada na composição corporal e deposição de gordura, ser oriunda da microbiota intestinal.

8. CONCLUSÃO

O pró-nutriente de fibras de linhaça não influenciou a performance produtiva dos peixes, mas possivelmente atuou na partição energética, como consequência da alteração na produção de AGCC totais, modificando a composição corporal dos juvenis de tilápia. Os resultados demonstram que outros estudos devem ser conduzidos para elucidar a relação do pró-nutriente de fibras com a espécie em questão.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELHAMID, F. M.; ELSHOPAKEY, G. E.; AZIZA, A. B. Ameliorative effects of dietary *Chlorella vulgaris* and β -glucan against diazinon-induced toxicity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 96, p. 213-222, 2020. DOI: 10.1016/j.fsi.2019.12.009.

ABDEL-LATIF, H. M. R. et al. The nature and consequences of co-infections in tilapia: A review. **Jornal of fish diseases**, v. 43, p. 651-664, 2020. DOI: 10.1111/jfd.13164.

ABIRAMI, A. et al. Measurement of functional Properties and health promoting Aspects-glucose retardation index of peel, pulp and peel fiber from citrus hystrix and citrus máxima. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 4, p. 16-26, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2014.06.001>.

ADDO, S. et al. Efeitos das cepas de *Bacillus subtilis* e o prebiótico Previda® no crescimento, parâmetros imunológicos e suscetibilidade à infecção por *Aeromonas hydrophila* em Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture Research**, v. 48, p. 4798-4810, 2017. DOI:10.1111/are.13300.

ADORIAN, T. J. et al. Effect of different dietary fiber concentrates on the metabolism and indirect immune response in silver catfish. **Animal Feed Science and Technology**, v. 215, p. 124–132, 2016. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2016.03.001.

ADORIAN, T. J. et al. Functional linseed fibres and their impacts on silver catfish (*Rhamdia quelen*) nutrition. **Aquaculture nutrition**, v. 00, p. 1-10, 2020. DOI: 10.1111/anu.13110.

ADORIAN, T. J. **Fibras funcionais da linhaça e seus impactos na nutrição de jundiás**. 2018. 151 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Santa Maria, 2018.

ADORIAN, T. J. et al. Evaluation of immune response and performance of silver catfish fed functional linseed fibres in response to hypoxia stress. **Aquaculture Research**, v. 50, p. 3060 – 3069, 2019. DOI: 10.1111/are.14266.

ADORIAN, T.J. et al. Dietary fiber in the nutrition of silver catfish: Prebiotic or antinutrient? **Animal Feed Science and Technology**, v. 101, p.167–173, 2015. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2015.07.017.

ADORIAN, T.J. et al. Fractionation of linseed and obtaining ingredients rich in protein and fibers: alternatives for animal feed. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. V. 101, p. 4863-5289, 2021. DOI: 10.1002/jsfa.11486.

AMIRKOLAIE, A. K.; VERRETH, J. A. J.; SCHRAMA, J. W. Effect of gelatinization degree and inclusion level of dietary starch on the characteristics of digesta and faeces in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* (L.)). **Aquaculture**, v. 260(1-4), p. 194–205, 2006. DOI:10.1016/j.aquaculture.2006.06.039.

AMPHAN, S. et al. Feeding-regimen of β -glucan to enhance innate immunity and disease resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* Linn, against *Aeromonas*

hydrophila and *Flavobacterium columnare*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 87, p. 120-128, 2019. DOI: 10.1016/j.fsi.2018.12.062.

AOAC. Association of official analytical chemists. **Official Methods of Analyses of the AOAC International**. 16 ed. Supplement 1998. Washington: AOAC, 1995.1018 p.

ARYATI, Y. et al. The effect of dietary honey prebiotic on microbiota diversity in the digestive tract of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and its growth performance. **Aquaculture Research**, v. 52, p 1215-1226, 2020. DOI:10.1111/are.14980

ASELY, A. M. E. et al. Overall performances of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) associated with using vegetable oil sources under suboptimal temperature. **Aquaculture Nutrition**, v. 00, p. 1-10, 2020. DOI: 10.1111/anu.13072.

BALDISSEROTTO, B. et al. **Farmacologia Aplicada à Aquicultura**. Santa Maria. Editora UFSM, 2017. 656 p.

BARRIVIERA, V. R. et al. Substitution of soybean oil with linseed oil on growth performance, fatty acid profile and texture attributes in large Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* reared under cold suboptimal temperature. **Aquaculture Research**, V. 00, P. 1–10, 2021. DOI: 10.1111/are.15381.

BARROS, M. M. et al. Immunomodulatory Effects of Dietary β -glucan and Vitamin C in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* L., Subjected to Cold-induced Stress or Bacterial Challenge. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 46(4), p. 363–380, 2015. DOI:10.1111/jwas.12202.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. Rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, p.911-917, 1959. DOI: 10.1139/o59-099.

BLOEDON, L. T.; SZAPARY, P. O. Flaxseed and cardiovascular risk. **Nutrition Reviews**, v. 62(1), p. 18-27, 2004. DOI: 10.1111/j.1753-4887.2004.tb00002.x.

BRADFORD, M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976. DOI: 10.1006/abio.1976.9999.

CARBONE, N.; FAGGIO, C. Importance of prebiotics in aquaculture as immunostimulants. Effects on immune system of *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 54, p. 172-178, 2016. DOI: 10.1016/j.fsi.2016.04.011.

CAVALCANTE, R. B. et al. Prebiotics and Synbiotics for Nile tilapia: Growth performance and protection against *Aeromonas hydrophila* infection. **Aquaculture Reports**, v. 17, p 100343, 2020. DOI: 10.1016/j.aqrep.2020.100343.

CUNNINGHAM, M. et al. Shaping the Future of Probiotics and Prebiotics. **Trends in Microbiology**, v. 29, p. 667-685, 2021. DOI: 10.1016/j.tim.2021.01.003.

DA SILVA, J., K; et al. Passion fruit (*Passiflora edulis*) peel increases colonic production of short-chain fatty acids in Wistar rats. **LWT - Food Sci Technol**, v. 59, p.1252–1257, 2014. DOI: 10.1016/j.lwt.2014.05.030.

DAWOOD, M. A.O. et al. The role of β -glucan in the growth, intestinal morphometry, and immune-related gene and heat shock protein expressions of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) under different stocking densities. **Aquaculture**, v. 523, 2020. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.735205.

DONG, H. T. et al. *Aeromonas jandaei* and *Aeromonas veronii* caused disease and mortality in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) **Jornal of fish diseases**, v. 40, p. 1395-1403, 2017. DOI: 10.1111/jfd.12617.

EL-BOSHY, M.E. et al. Immunomodulatory effect of dietary *Saccharomyces cerevisiae*, β -glucan and laminaran in mercuric chloride treated Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and experimentally infected with *Aeromonas hydrophila*. **Fish and shellfish immunology**, v. 28, n. 5-6, p. 802-808, 2010. DOI: 10.1016/j.fsi.2010.01.017.

EL-MURR, A. L. et al. Impactos da expressão imune-protetora, antioxidante e da expressão relativa de β -glucano contra a toxicidade do fipronil em tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 94, p. 427-433, 2019. DOI: 10.1016/j.fsi.2019.09.033.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Piscicultura de água doce: Multiplicando conhecimentos**. Brasília, 440 p. 2013.

ENGEL, B. et al. Tecnologias de atomização e desidratação: alternativas para a produção de farinhas a partir de vegetais. **Revista Jovens Pesquisadores**, Santa Cruz do Sul, v. 6, n. 1, p. 31-44, 2016. DOI: 10.17058/rjp.v6i1.7345.

FABEK, H. et al. The effect of in vitro digestive processes on the viscosity of dietary fibres and their influence on glucose diffusion. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 718-726, 2014. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2013.08.007.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. **GLOBEFISH Highlights – A quarterly update on world seafood markets**. Rome, 2020. DOI: 10.4060/ca7968en.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals**. Rome, 2018.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations **The State of World Fisheries and Aquaculture, Sustainability in action**. Rome 2020. DOI: 10.4060/ca9229en.

FAOSTAT, **Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Database**, 2019. Disponível em: < <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> >. Acesso em 10 de setembro de 2021.

FARIAS, D. P et al. Prebiotics: Trends in food, health and technological applications. **Trends in Food Science & Technology**. v. 93, p. 23-35, 2019. DOI: 10.1016/j.tifs.2019.09.004.

FAUCONNEAU, B. et al. Growth and meat quality relations in carp. **Aquaculture**, v. 129, p. 265-297, 1995. DOI: 10.1016/0044-8486(94)00309-C.

FERREIRA, C. L. L. Fortes. Prebióticos e Probióticos: atualização e prospecção. Rio de Janeiro: **Editora Rubio**, v. 2, p. 248, 2012.

FLEMMING, J. S.; FREITAS, R. J. S. Avaliação do efeito de prebióticos (MOS), probióticos (*Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis*) e promotor de crescimento na alimentação de frangos de corte. **Archives of Veterinary Science**. v. 10, p. 41-47, 2005. DOI: 10.5380/avs.v10i2.4412.

FOOKS, L. J.; FULLER, R.; GIBSON, G. R. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v. 9, p. 53-61, 1999. DOI: 10.1016/S0958-6946(99)00044-8.

FRACALOSSO, D.M.; CYRINO, J.E.P. **Nutriaqua**: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2012. 375p.

FURUYA, W.M. **Tabelas brasileiras para nutrição de Tilápias**. 21 ed. Toledo: GFM, p. 100, 2010.

GALVÃO, E. L. et al. Avaliação do potencial antioxidante e extração subcrítica do óleo de linhaça. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, p. 551-557, 2008. DOI: 10.1590/S0101-20612008000300008.

GIBSON, G. R. et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**. v. 14(8), p. 491, 2017. DOI:10.1038/nrgastro.2017.75.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, v. 125, p. 1401-1412, 1995. DOI: 10.1093/jn/125.6.1401.

GOMES, I. F. et al. Papel dos compostos bioativos da linhaça (*Linum usitatissimum* L.) no câncer. **Nutrição Brasil**, v. 11(1), p. 48-55, 2012.

GOULART, F. R. et al. Atividade de enzimas digestivas e parâmetros de crescimento de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com farelo de linhaça in natura e demucilada. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 6, p. 3069-3080, 2013. DOI: 10.5433/1679-0359.2013v34n6p3069.

GOULART, F.R et al. Effect of supplementation of dietary fibre concentrates on biochemical parameters, stress response, immune response and skin mucus of jundiá (*Rhamdia quelen*). **Aquaculture Nutrition**, v. 24, p. 375-382, 2017. DOI: 10.1111/anu.12568.

GOULART, F.R et al. Effects of Dietary Fibre Concentrates on growth performance and digestive enzyme activities of jundiá (*Rhamdia quelen*). **Aquaculture Nutrition**, v. 23, p. 358-366, 2015. DOI: 10.1111/anu.12400.

GOULART, F.R. et al. Effects of Dietary Fiber Concentrates on growth performance and digestive enzyme activities of jundiá (*Rhamdia quelen*). **Aquaculture Nutrition**, 23, 358-366, 2017. DOI: 10.1111/anu.12400.

GUERREIRO, I.; OLIVIA-TELES, A.; ENES, P. Prebiotics as functional ingredients: focus on Mediterranean fish aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, v. 0, p. 1-33, 2017. DOI: 10.1111/raq.12201.

GUPTA, A. et al. Immunomodulation by dietary supplements: A preventive health strategy for sustainable aquaculture of tropical freshwater fish, *Labeo rohita* (Hamilton, 1822). **Reviews in Aquaculture**, v. 13(4), p. 2364–2394, 2021. DOI: 10.1111/raq.12581.

HAYGOOD, A. M.; JHA, R. Strategies to modulate the intestinal microbiota of Tilapia (*Oreochromis sp.*) in aquaculture: a review. **Reviews in Aquaculture**, v. 10(2), p. 320–333, 2016. DOI: 10.1111/raq.12162.

HOSEINIFAR, S. H. et al. Dietary apple peel-derived pectin improved growth performance, antioxidant enzymes and immune response in common carp, *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758). **Aquaculture**, v. 535, p. 736311, 2021. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.736311.

HOSEINIFAR, S. H.; SUN, Y.-Z.; CAIPANG, C. M. Short-chain fatty acids as feed supplements for sustainable aquaculture: an updated view. **Aquaculture Research**, v. 48(4), p. 1380–1391, 2016. DOI:10.1111/are.13239.

HUMMEL, B .C. W. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin and thrombin. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, p. 1393-1399, 1959. DOI: 10.1139/o59-157.

IBRAHEM, M. D. et al. Effect of dietary supplementation of inulin and vitamin C on the growth, hematology, innate immunity, and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 29(2), p. 241–246, 2010. DOI: 10.1016/j.fsi.2010.03.004.

JOBLING, M. A short review and citric of methodology used in fish growth and nutrition studies. **Journal of Fish Biology**, v. 23, p. 685-703, 1983. DOI: 10.1111/j.1095-8649.1983.tb02946.x.

KABIR, K. A. et al. Dietary non-starch polysaccharides influenced natural food web and fish production in semi-intensive pond culture of Nile tilapia. **Aquaculture**, v. 528, p. 735506, 2020. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.735506.

KIHARA, M.; SAKATA, T. Fermentation of dietary carbohydrates to short-chain fatty acids by gut microbes and its influence on intestinal morphology of a detritivorous teleost tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, v. 118, p. 1201–1207, 1997. DOI: 10.1016/S0300-9629(97)00052-2.

KOH, A. et al. From Dietary Fiber to Host Physiology: Short-Chain Fatty Acids as Key Bacterial Metabolites. **Cell**, v. 165, p. 1332-1345, 2016. DOI: 10.1016/j.cell.2016.05.041.

LEEMING, E. R. et al. Effect of Diet on the Gut Microbiota: Rethinking Intervention Duration. **Nutrients**, v. 11, p. 2862, 2019. DOI: 10.3390/nu11122862.

LEGRAND, P. et al. The Consumption of Food Products from Linseed-Fed Animals Maintains Erythrocyte Omega-3 Fatty Acids in Obese Humans. **Lipids**, v. 45, p. 11-19, 2009. DOI: 10.1007/s11745-009-3376-5.

LEENHOUWERS, J. I. et al. Digesta characteristics in relation to nutrient digestibility and mineral absorption in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fed cereal grains of increasing viscosity. **Aquaculture**, v. 273(4), p. 556–565, 2007. DOI:10.1016/j.aquaculture.2007.10.044.

LI, Z. et al. Effects of prebiotic mixtures on growth performance, intestinal microbiota and immune response in juvenile chu's croaker, *Nibea coibor*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 89, p. 564-573, 2019. DOI: 10.1016/j.fsi.2019.04.025.

LIU, W. et al. Effects of dietary scFOS and lactobacilli on survival, growth, and disease resistance of hybrid tilapia. **Aquaculture**, v. 470, p. 50–55, 2017. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2016.12.013.

LOUIS, P. et al. Diversity of human colonic butyrate-producing bacteria revealed by analysis of the butyryl-CoA:acetate CoA-transferase gene. **Environmental Microbiology**, v. 12(2), p. 304–314, 2010. DOI:10.1111/j.1462-2920.2009.02066.x.

LU, Z. Y. et al. Mannan oligosaccharides improved growth performance and antioxidant capacity in the intestine of on-growing grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Aquaculture Reports**, v. 17, p. 100313, 2020. DOI: 10.1016/j.aqrep.2020.100313.

LUGO, M. G. Et al. Comparison of growth, fillet yield and proximate composition between Stirling Nile tilapia (wild type) (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus) and red hybrid tilapia (Florida red tilapia X Stirling red *O. niloticus*) males. **Aquaculture Research**, v. 34, p. 1023-1028, 2003. DOI: 10.1046/j.1365- 2109.2003.00904.

LYONS, T. P.; JACQUES, K. A. **Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries**. Nottingham, United Kingdom. Copyright Alltech, p. 531, 2004.

MAAS, R. M. et al. Carbohydrate utilisation by tilapia: a meta-analytical approach. **Reviews in Aquaculture**, v. 25, p. 622-632, 2020. DOI:10.1111/raq.12413.

MACAGNAN, F.T.; SILVA, L.P.; HECKTHEUER, L.H. Dietary fibre: The scientific search for an ideal definition and methodology of analysis, and its physiological importance as a carrier of bioactive compounds. **Food Research International**, 85, 144–154, 2016. DOI: 10.1016/j.foodres.2016.04.032.

MARTINS, T. R. et al. Variação da composição química corporal de tilápias (*Oreochromis niloticus*) com o crescimento **Colloquium Vitae**, v. 1(2), p. 117-122, 2009. DOI: 10.5747/cv.2009.v01.n2.v017.

MATHEW, A. G.; SUTTON, A. L.; SCHEIDT, A. B. Effect of galactan on selected microbial populations and pH and volatile fatty in the ileum of the weaning pig. **Journal of Animal Science**, v. 71, p.1503-1509, 1993. DOI: 10.2527/1993.7161503x.

MCBURNEY, M.I.; VAN SOEST, P. J.; CHASE L. E. Cation exchange capacity and buffering capacity of neutral-detergent fibres. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 34, n.9, p. 910-916, 1983. DOI: 10.1002/jsfa.2740340903.

MIRGHAED, A. T. et al. The effects singular or combined administration of fermentable fiber and probiotic on mucosal immune parameters, digestive enzyme activity, gut microbiota and growth performance of Caspian white fish (*Rutilus frisii kutum*) fingerlings. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 77, p. 194-199, 2018. DOI: 10.1016/j.fsi.2018.02.007.

MOMBACH, P. I. **Novos prebióticos na nutrição de Tilápia do Nilo**. 2015. 81p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2015.

MORRIS, D. Essential nutrients and other functional compounds in flaxseed. **Nutrition Today**, v. 36, p. 159-62, 2001. DOI: 10.1097/00017285-200105000-00012.

MORRISON, D. J.; PRESTON, T. Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. **Gut Microbes**, v. 7(3), p. 189–200. DOI:10.1080/19490976.2015.1134082.

MOURIÑO, J. L. P. Effect of dietary supplementation of inulin and W. cibaria on haemato-immunological parameters of hybrid surubim (*Pseudoplatystoma sp.*). **Aquaculture Nutrition**, v. 18, p. 73–80, 2011. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2011.00879.x.

NAWAZ, A. et al. The functionality of prebiotics as immunostimulant: Evidences from trials on terrestrial and aquatic animals. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 76, p. 272-278, 2018. DOI: 10.1016/j.fsi.2018.03.004.

NIU, G. et al. Occurrence of multiple antibiotic resistance and genotypic characterization in *Edwardsiella tarda* isolated from cage-cultured hybrid red tilapia (*Oreochromis sp.*) in the Ping River, Northern Thailand. **Aquaculture Research**, v. 00, p. 1-10, 2019. DOI: 10.1111/are.14322.

OKAMURA, D. Influência da concentração de benzocaína e do comprimento dos peixes na anestesia e na recuperação de tilápias-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39 n. 5, Viçosa, 2010. DOI: 10.1590/S1516-35982010000500005.

PARK, J. T.; JOHNSON, M. J. A submicrodetermination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, v. 181, p. 149-151, 1949.

PAZ, A. L. et al. Protective effects of the fructooligosaccharide on the growth performance, hematology, immunology indicators and survival of tambaqui (*Colossoma macropomum*, *Characiformes: Serrasalminidae*) infected by *Aeromonas hydrophila*. **Aquaculture Reports**, v. 15, p. 100222, 2019. DOI: 10.1016/j.aqrep.2019.100222.

PEREDO, A. M. et al. Evaluation of a Dairy-Yeast Prebiotic in the Diet of Juvenile Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 46(1), p. 92–101, 2015. DOI:10.1111/jwas.12170.

PILARSKI, F. et al. Different β -glucans improve the growth performance and bacterial resistance in Nile tilapia. **Fish and shellfish immunology**, v. 70, p. 25-29, 2017. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.06.059.

RINGØ, E. et al. Prebiotics in aquaculture: a review. **Aquaculture Nutrition**, v. 16, p. 117-136, 2010. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2009.00731.x.

RINGØ, E. et al. Use of Immunostimulants and Nucleotides in Aquaculture: A Review. **Journal of Marine Science: Research Development**, v. 2, p. 104, 2012. DOI: 10.4172/2155-9910.1000104.

RINGØ, E. et al. Application of vaccines and dietary supplements in aquaculture: possibilities and challenges. **Fish Biol Fisheries**, v.24, p.1005-1032, 2014. DOI: 10.1007/s11160-014-9361-y.

RÍOS-COVIÁN, D. et al. Intestinal Short Chain Fatty Acids and their Link with Diet and Human Health. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, 2016. DOI:10.3389/fmicb.2016.00185.

ROMANO, N. et al. Dietary sodium citrate improved oxidative stability in red hybrid tilapia (*Oreochromis sp.*) but reduced growth, health status, intestinal short chain fatty acids and induced liver damage. **Aquaculture**, v. 458, p. 170–176, 2016. DOI:10.1016/j.aquaculture.2016.03.014.

SANTOS, A. A. C. et al. Avaliação físico-química e comportamento higroscópico de goiaba em pó obtida por spray-dryer. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 3, p. 508-514, 2014. DOI: 10.1590/S1806-66902014000300010.

SCHNEIDER, V. V. A. et al. Effect of Dietary Replacement of Soybean Oil with Different Sources of Gamma-Linolenic Acid on Fatty Acid Composition of Nile Tilapia. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 92(2), p. 225–231, 2015. DOI: 10.1007/s11746-014-2586-z.

SELIM, K. M.; REDA, R. M. Beta-glucanas e oligossacarídeos de Mannan melhoram o crescimento e a imunidade na tilápia do Nilo. **North American Journal of Aquaculture**, v. 77, p. 22-30, 2014. DOI: 10.1080 / 15222055.2014.951812.

SHIM, Y. Y. et al. Flaxseed (*Linum usitatissimum L.*) bioactive compounds and peptide nomenclature: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 38, p.5-20, 2014. DOI: 10.1016/j.tifs.2014.03.011.

SILVA, L. P.; NORBERG, J. L. Prebióticos na nutrição de não-ruminantes. **Ciência Rural**, v. 33, n. 5, p.983-990, 2003. DOI: 10.1590/S0103-84782003000500029.

SILVA, V.; BARAZZONI, R.; SINGER, P. Biomarkers of Fish Oil Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids Intake in Humans. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 29(1), p. 63–72, 2013. DOI: 10.1177/0884533613516144.

SISSONS, J.W. Potential of probiotic organisms to prevent diarrhoea and promote digestion in farm animals - a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture.**, v.49, n.1, p.1-13, 1989.

SOARES, L. L. et al. Avaliação dos efeitos da semente de linhaça quando utilizada como fonte de proteína nas fases de crescimento e manutenção em ratos. **Revista de Nutrição**, v. 22, p. 483-491, 2009. DOI: 10.1590/S1415-52732009000400004.

SONG, S. K. et al. Prebiotics as immunostimulants in aquaculture: A review, **Fish & Shellfish Immunology**, v. 40, p. 40-48, 2014. DOI: 10.1016/j.fsi.2014.06.016.

SOUZA, F. P. et al. Effect of β -glucan in water on growth performance, blood status and intestinal microbiota in tilapia under hypoxia. **Aquaculture Reports**, v. 17, p. 100369, 2020. DOI: 10.1016/j.aqrep.2020.100369.

STANCK, L. T.; BECKER, D.; BOSCH, L. C. Crescimento e produtividade da linhaça. **Agrometeoros**, v.25, n.1, p. 249-256, 2017. DOI: 10.31062/agrom.v25i1.26285.

STEWART, C.S.; CHESSON, A. Making sense of probiotics. **Pig Veterinary Journal**, v.31, p.11-33, 1993.

SWANSON, K. S. et al. Supplemental fructooligosaccharides and mannanoligosaccharides influence immune function, ileal and total tract nutrients digestibilities, microbial populations and concentrations of protein catabolites in the large bowel of dogs. **Journal of Nutrition**, v.132, p. 980-989, 2002. DOI: 10.1093/jn/132.5.980.

TARIQ, M. R. et al. Development of healthier rabbit meat by supplementation of linseed in the feed and its impact on human blood lipid profile. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41(5), p.13194, 2016. DOI: 10.1111/jfpp.13194.

TIENGTAM, N. et al. Effects of inulin and Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) as prebiotic ingredients in the diet of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Animal Feed Science and Technology**, v. 207, p. 120–129, 2015. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2015.05.008.

TRAN, N. T. et al. Progress and perspectives of short-chain fatty acids in aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, v. 12, p. 283-298, 2018. DOI:10.1111/raq.12317.

VAN DOAN, H. et al. Effects of Assam tea extract on growth, skin mucus, serum immunity and disease resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) against *Streptococcus agalactiae*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 93, p. 428-435, 2019. DOI: 10.1016/j.fsi.2019.07.077.

WANG, J. C.; KINSELLA, J. E. Functional properties of novel proteins: alfalfa leaf proteins. **Journal Food Science**, v.41, p.286-292, 1976. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1976.tb00602.x.

WELKER, T. L. et al. Use of Diet Crossover to Determine the Effects of β -glucan Supplementation on Immunity and Growth of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 43(3), p. 335–348, 2012. DOI:10.1111/j.1749-7345.2012.00569.x.

WHITTINGTON, R.; LIM, C.; KLESZIUS, P. H. Effect of dietary β -glucan levels on the growth response and efficacy of *Streptococcus iniae* vaccine in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v. 248, p. 217-225, 2005. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2005.04.013.

ZHAO, G.; NYMAN, M.; JÖNSSON, J. A Rapid determination of short-chain fatty acids in colonic contents and faeces of humans and rats by acidified water-extraction and direct-injection gas chromatography. **Biomed Chromatogr** 20:674–682, 2016. DOI: 10.1002/bmc.580.

ZHONG, Y. et al. Optimum dietary fiber level could improve growth, plasma biochemical indexes and liver function of largemouth bass, *Micropterus salmoides*. **Aquaculture**, v. 518, p. 734661, 2020. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2019.734661.

ZHU, M.; WU, S. The growth performance and nonspecific immunity of loach *Paramisgurnus dabryanus* as affected by dietary β -1,3-glucan. **Fish and Shellfish Immunology**, v.83, p. 368-372, 2018. DOI: 10.1016/j.fsi.2018.09.049.

ZUK, M. et al. Linseed, the multipurpose plant. **Industrial Crops and Products**, v. 75, p. 165-177, 2015. DOI: 10.1016/j.indcrop.2015.05.005. DOI: 10.1016/j.indcrop.2015.05.005.