



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE – FURG
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA



**UTILIZAÇÃO DO FARELO DE ARROZ COM E SEM FERMENTAÇÃO NA
PRODUÇÃO DO ROTÍFERO *Brachionus plicatilis***

LÍDIA SOUSA MONTEIRO

FURG
Rio Grande/RS
2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DE RIO GRANDE – FURG

Programa de Pós- Graduação em Aquicultura

Dissertação de Mestrado

**UTILIZAÇÃO DO FARELO DE ARROZ COM E SEM FERMENTAÇÃO NA
PRODUÇÃO DO ROTÍFERO *Brachionus plicatilis***

LÍDIA SOUSA MONTEIRO

**Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do grau
de Mestre em Aquicultura pelo Programa
de Pós-Graduação em Aquicultura da
Universidade Federal do Rio Grande**

Orientador: Marcelo Borges Tesser

Rio Grande, RS

Fevereiro de 2020

Ficha Catalográfica

M775u Monteiro, Lidia Sousa.

Utilização do farelo de arroz com e sem fermentação na produção do rotífero *Brachionus plicatilis* / Lidia Sousa Monteiro. – 2020.

60 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Rio Grande/RS, 2020.

Orientador: Dr. Marcelo Borges Tesser.

1. *Brachionus plicatilis* 2. Crescimento Populacional 3. Nutrição 4. Farelo de Arroz 5. Fermentação em Estado Sólido I. Tesser, Marcelo Borges II. Título.

CDU 664.764:633.18

Catálogo na Fonte: Bibliotecário José Paulo dos Santos CRE 10/2344

ÍNDICE

| | |
|---|------|
| Dedicatória..... | VI |
| AGRADECIMENTOS..... | VII |
| RESUMO GERAL..... | VIII |
| GENERAL ABSTRACT..... | X |
| INTRODUÇÃO GERAL..... | 12 |
| 1. Importância do alimento vivo na alimentação e nutrição das larvas de peixes marinhos | 12 |
| 2. Rotífero..... | 13 |
| 3. Produção de rotíferos | 14 |
| 4. Produção de rotíferos com alimentos alternativos..... | 15 |
| 5. Estresse oxidativo em rotíferos..... | 15 |
| 6. Farelo de arroz | 17 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 19 |
| Objetivos | 24 |
| Objetivo geral..... | 24 |
| Objetivos específicos..... | 24 |
| CAPÍTULO I | 25 |
| UTILIZAÇÃO DO FARELO DE ARROZ COM E SEM FERMENTAÇÃO NA PRODUÇÃO DO ROTÍFERO <i>Brachionus plicatilis</i> | 25 |
| Resumo..... | 26 |
| Palavras-chave: <i>Brachionus plicatilis</i> , crescimento populacional, produção, nutrição, farelo de arroz, fermentação em estado sólido. | 26 |
| Abstract | 27 |
| 1. Introdução..... | 28 |
| 2. 2. Material e métodos..... | 30 |
| 2.1 Local | 30 |
| 2.2 2.2. Alimentos utilizados nos diferentes experimentos..... | 30 |
| 2.3. Cultivo dos rotíferos | 30 |
| 2.4. Desenho experimental | 31 |
| 2.5. Avaliação do desempenho zootécnico..... | 32 |
| 2.6. Parâmetros de qualidade de água | 32 |

| | |
|---|----|
| 2.7. Espécies reativas de oxigênio (ROS)..... | 32 |
| 2.3 2.8. Capacidade antioxidante total contra radicais peroxil..... | 33 |
| 2.9. Peroxidação lipídica..... | 33 |
| 2.10. Composição proximal das dietas..... | 33 |
| 2.11. Extração de compostos fenólicos..... | 34 |
| 2.11. Análise estatística..... | 34 |
| 3. Resultados | 34 |
| 3.1. Composição proximal das dietas..... | 34 |
| 3.2. Qualidade de água..... | 35 |
| 3.3. Parâmetros de crescimento | 37 |
| 3.4. Análises de estresse oxidativo | 50 |
| 4. Discussão | 50 |
| 5. Conclusões..... | 55 |
| 6. Referências bibliográficas | 56 |

Dedicatória

Dedico este trabalho aos meus pais, pelo apoio, amor e compreensão.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus!!!!

Em especial ao meu orientador Dr. Marcelo Borges Tesser, pela orientação, paciência e colaboração fornecida durante a produção dos experimentos e escrita dessa dissertação.

Aos órgãos CAPES e o CNPq pela bolsa durante o período de estudos.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação pelo aprendizado fornecido durante minha passagem pelo programa.

A toda equipe do Laboratório de Piscicultura Estuarina e Marinha, em especial, Dr. Lucas Maltez pela ajuda e contribuições para produção dos experimentos e as análises bioquímicas.

As equipes dos Laboratórios LANOVA e BIFOVA, por esta sempre dispostos a me auxiliar.

A equipa da Escola de Química e Alimentos (EQA), em especial Anelise Ribeiro, que sempre me ajudou nas análises dos farelos de arroz.

A toda minha família, em especial a minha mãe Paula e ao meu pai Carlos por terem sempre priorizado o meu acesso à educação e por sempre me apoiarem nas minhas escolhas.

A meu namorado Nelson por sempre me apoiar e incentivar a ir em busca dos meus sonhos, e por ser um dos maiores incentivadores dessa conquista.

Aos tantos outros amigos, que foram feitos na EMA, tantas pessoas e tantos momentos que ficarão sempre guardados.

Enfim, a todos com quem tive o prazer de conviver nesses dois últimos anos!

1 RESUMO GERAL

2 O rotífero *Brachionus plicatilis*, é utilizado como primeiro alimento para uma
3 grande variedade de espécies de peixes durante seus primeiros estágios de
4 desenvolvimento. Os rotíferos são filtradores não seletivos o que facilita a sua
5 alimentação podendo fornecer uma elevada diversidade de dietas, entre as quais,
6 microalgas, leveduras, e os alimentos inertes. Os alimentos mais comuns utilizados
7 para a alimentação dos rotíferos (microalgas e leveduras), apresentam problemas
8 associados ao custo de produção (microalgas) e as leveduras que não possuem
9 qualidade nutricional adequada. Por outro lado, o farelo de arroz e o farelo de arroz
10 fermentado apresentam grande abundância, baixo custo, grande qualidade nutricional e
11 componentes antioxidantes. Assim o objetivo do presente trabalho foi examinar a
12 utilização do farelo de arroz integral e fermentado como fonte alimentar para a
13 produção de rotíferos, *Brachionus plicatilis*. O estudo baseou-se em três experimentos,
14 onde o primeiro experimento comparou o efeito de diferentes concentrações de farelo
15 de arroz integral na taxa de crescimento do rotífero, sendo testados 4 tratamentos, com
16 três repetições cada: 1) Controle (0,7 g levedura/ $1,0 \times 10^6$ rotíferos); 2) 0,5 g farelo
17 integral/ $1,0 \times 10^6$ rotíferos); 3) 1 g farelo integral/ $1,0 \times 10^6$ rotíferos; 4) 1,5 g farelo
18 integral/ $1,0 \times 10^6$ rotíferos. O segundo experimento, comparou o efeito de diferentes
19 concentrações de farelo de arroz fermentado na taxa de crescimento do rotífero, onde
20 testaram-se 4 tratamentos, com três repetições cada: 1) Controle (0,7 g levedura/ $1,0 \times$
21 10^6 rotíferos); 2) 0,5 g farelo fermentado/ $1,0 \times 10^6$ rotíferos); 3) 1 g farelo fermentado/
22 $1,0 \times 10^6$ rotíferos; 4) 1,5 g farelo fermentado/ $1,0 \times 10^6$ rotíferos. O terceiro
23 experimento, comparou o efeito das melhores concentrações de farelo de arroz integral
24 e fermentado, bem como a substituição de parte da levedura por estes farelos na taxa
25 de crescimento populacional, qualidade de água e atividades antioxidantes dos
26 rotíferos. Foram testados 5 tratamentos, com três repetições cada: 1) Controle (0,7 g
27 levedura/ $1,0 \times 10^6$ rotíferos); 2) 1,5 g farelo integral/ $1,0 \times 10^6$ rotíferos); 3) 1,5 g
28 farelo fermentado/ $1,0 \times 10^6$ rotíferos; 4) 0,35g levedura + 0,75g farelo integral / $1,0 \times$
29 10^6 rotíferos; 5) 0,35g levedura + 0,75g farelo fermentado/ $1,0 \times 10^6$ rotíferos. Para
30 cada tratamento foram inoculados em tanques de 2L a quantidade de 400.000 rotíferos
31 ou 200 rotíferos/mL. Ao final do 3º dia de criação, os rotíferos foram lavados,
32 determinado o crescimento populacional, e iniciado o cultivo novamente. Além dos

33 parâmetros de crescimento, foram analisados os parâmetros de estresse oxidativo e
34 qualidade da água. Os dados foram analisados por meio da ANOVA. Para tanto, foram
35 previamente observados os pressupostos de normalidade e homogeneidade de
36 variâncias por meio dos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Quando a
37 ANOVA resultou significativo, as médias foram contrastadas por meio de teste de
38 Newman-Keuls. Todos os testes foram realizados no nível 5%. Os resultados dos
39 experimentos mostraram que os rotíferos dos tratamentos com 0,7g levedura, 1,5g
40 farelo fermentado, 0,35g levedura com 0,75g farelo integral e 0,35g levedura com
41 0,75g farelo fermentado obtiveram maior crescimento entre os tratamentos não
42 diferindo entre si. O farelo de arroz integral e fermentado melhoraram a qualidade
43 ambiental no cultivo, através da absorção da amônia da água. Não foi observada
44 melhoria na resposta antioxidante dos rotíferos alimentados com farelo de arroz
45 fermentado. O presente estudo demonstra que pode ser utilizado 1,5g farelo
46 fermentado e substituição de 50% de levedura pelo farelo fermentado ou integral para
47 alimentar rotíferos.

48 **Palavras-chave:** *Brachionus plicatilis*, crescimento populacional, nutrição, farelo de
49 arroz, fermentação em estado sólido.

50

51 GENERAL ABSTRACT

52 The rotifer *Brachionus plicatilis* is used as the first food for a wide variety of
53 fish species during their early stages of development. Rotifers are non-selective filters
54 that facilitate their feeding and can provide a high diversity of diets, including
55 microalgae, yeast, and inert foods. The most common foods used to feed rotifers
56 (microalgae and yeast), present problems associated with the cost of production
57 (microalgae) and yeasts that do not have adequate nutritional quality. On the other
58 hand, fermented and non-fermented whole rice bran have high abundance, low cost,
59 high nutritional quality and antioxidant components. Thus, the objective of the present
60 study was to examine the use of fermented and non-fermented whole rice bran as a
61 food source for rotifer production, *Brachionus plicatilis*. The study was based on three
62 experiments, where the first experiment compared the effect of different concentrations
63 of non-fermented whole rice bran on the rotifer growth rate, four treatments were
64 tested with three replications each: 1) Control (0.7 g yeast / $1,0 \times 10^6$ rotifers); 2) 0.5 g
65 non-fermented whole rice / $1,0 \times 10^6$ rotifers); 3) 1 g non-fermented whole rice bran /
66 $1,0 \times 10^6$ rotifers; 4) 1.5 g non-fermented whole rice bran / $1,0 \times 10^6$ rotifers. The
67 second experiment compared the effect of different concentrations of fermented whole
68 rice bran on the rotifer growth rate, where he tested 4 treatments with three replications
69 each: 1) Control (0.7 g yeast / $1,0 \times 10^6$ rotifers); 2) 0.5 g fermented whole rice bran /
70 $1,0 \times 10^6$ rotifers); 3) 1 g fermented whole rice bran / $1,0 \times 10^6$ rotifers; 4) 1.5 g
71 fermented whole rice bran / $1,0 \times 10^6$ rotifers. The third experiment compared the
72 effect of the best concentrations of fermented and non-fermented whole rice bran, as
73 well as the replacement of part of yeast by these brans on the population growth, water
74 quality and antioxidant activities of the rotifer. Five treatments were tested, with three
75 repetitions each: 1) Control (0.7 g yeast / $1,0 \times 10^6$ rotifers); 2) 1.5 g non-fermented
76 whole rice bran / $1,0 \times 10^6$ rotifers); 3) 1.5 g fermented whole rice bran / $1,0 \times 10^6$
77 rotifers; 4) 0.35g yeast + 0.75g non-fermented whole rice bran / $1,0 \times 10^6$ rotifers; 5)
78 0.35g yeast + 0.75g fermented whole rice bran / $1,0 \times 10^6$ rotifers. For each treatment
79 was inoculated in 2L tanks the amount of 400,000 rotifers or 200 rotifers / mL. At the
80 end of the 3^o day of creation, the rotifers were washed, population growth determined,
81 and cultivation started again. In addition to the growth parameters, the oxidative stress
82 and water quality parameters were analyzed. Data were analyzed using ANOVA.

83 Therefore, the assumptions of normality and homogeneity of variance were previously
84 observed using the Shapiro-Wilk and Levene tests, respectively. When ANOVA was
85 significant, the means were contrasted by the Newman-Keuls test. All tests were
86 performed at the 5% level. The results of the experiments showed that the rotifers from
87 the treatments with 0.7g yeast, 1.5g fermented whole rice bran, 0.35g yeast with 0.75g
88 non-fermented whole rice bran and 0.35g yeast with 0.75g fermented whole rice bran
89 had higher growth between treatments not differing between you. Brown and
90 fermented rice bran improved environmental quality in cultivation, through the
91 absorption of ammonia from water. No improvement was observed in the antioxidant
92 response of rotifers fed fermented rice bran. The present study demonstrates that 1.5g
93 fermented whole rice bran and substitution of 50% of yeast for fermented or non-
94 fermented whole rice bran can be used to feed rotifers.

95 **Keywords:** *Brachionus plicatilis*, population growth, production, nutrition, rice bran,
96 solid state fermentation.

97 INTRODUÇÃO GERAL

98 **1. Importância do alimento vivo na alimentação e nutrição das larvas de** 99 **peixes marinhos**

100 A produção de alimento vivo de qualidade e em quantidade, constitui um dos
101 fatores mais importantes para a produção de larvas de peixes marinhos (Kim *et al.* 2018;
102 Dhert *et al.* 2014).

103 A grande maioria das espécies de peixes marinhos produzidas em cativeiro, são
104 desovantes pelágicos que produzem larvas do tipo altricial ou seja com tamanho
105 pequeno e pouco desenvolvidas. O primeiro alimento dessas larvas é o vitelo, e
106 posteriormente passa ao alimento exógeno após a abertura da boca, que são organismos
107 zooplanctônicos. O início da alimentação exógena é considerado um dos períodos mais
108 críticos da larvicultura (Solovyev *et al.* 2016). Durante a fase larval ocorrem diversas
109 transformações morfológicas e fisiológicas. No início de sua alimentação exógena as
110 larvas geralmente apresentam boca pequena, o que torna difícil aceitar qualquer tipo de
111 alimento, e a maioria das espécies cultivadas são muito frágeis logo após a eclosão
112 (Conceição *et al.* 2007; Qin 2013).

113 A movimentação natural do alimento vivo, estimula o comportamento predatório
114 das larvas já que as espécies se adaptaram a capturarem presas em movimento (Yin *et*
115 *al.* 2019). Além disso, o zooplâncton pode ser mais palatável do que as rações
116 comerciais, apresentando também nível maior de umidade, o que pode facilitar a
117 aceitação do alimento pelas larvas (Bengtson 2003).

118 As larvas se alimentam de presas móveis e encontram problemas para aceitar
119 dietas secas. Mesmo quando aceitam as dietas, sua fraca atividade enzimática e
120 estômago não funcional não permitirem digerir os alimentos formulados (Kolkovski
121 2001). Assim, as transformações fisiológicas e anatômicas durante o desenvolvimento
122 larval acarretam em alterações nas necessidades nutricionais (Civera *et al.* 2004).

123 A determinação das exigências nutricionais das larvas é uma tarefa bastante
124 complexa. Maiores taxas de crescimento e melhor qualidade larval são obtidas com a
125 utilização do zooplâncton como alimento inicial das larvas de peixes (Portella *et al.*
126 2012).

127 Na seleção de organismos utilizados para larvicultura, alguns fatores devem ser
128 considerados, como o tamanho adequado, valor nutritivo e facilidade de cultivo em
129 grande escala (Kailasam *et al.* 2015; Hagiwara *et al.* 2017). O rotífero *Brachionus*
130 *plicatilis* atende estas exigências e tem sido muito utilizado como alimento vivo para
131 larvas de peixes marinhos (Kostopoulou *et al.* 2012).

132 Apesar da facilidade de produção e apresentar tamanho ideal para a primeira
133 alimentação de larvas de peixes marinhos, os rotíferos geralmente apresentam valor
134 nutricional inferior à dieta natural das larvas de peixes marinhos, composto por
135 zooplâncton, principalmente copépodes (Hamre 2016; Rasdi & Qin 2018).

136 Segundo Hamre (2016), existe uma grande variação na composição de nutrientes
137 nas dietas comerciais para rotíferos, o que resulta em grandes variações na composição
138 nutricional dos rotíferos produzidos com essas dietas, que serão ofertados as larvas de
139 peixes marinhos.

140 O enriquecimento desses organismos vivos, geralmente com microalgas
141 selecionadas, é uma prática comum e necessária para aumentar a sua qualidade
142 nutricional (Ferreira *et al.* 2018). Os gêneros de microalgas mais utilizados para esse
143 enriquecimento são *Chlorella*, *Nannochloropsis*, *Tetraselmis* e *Isochrysis*.
144 *Nannochloropsis* é muito utilizado na produção de rotíferos visto que fornece aos
145 rotíferos alta quantidades de EPA e alta biomassa (Ferreira *et al.* 2018; Eryalçin 2019).
146 Devido à importância dos ácidos graxos para o crescimento e desenvolvimento das
147 larvas, produtos comerciais para o enriquecimento de rotíferos devem ser utilizadas para
148 proporcionar níveis elevados de HUFA (Eryalçin 2019).

149 **2. Rotífero**

150 Os rotíferos pertencem ao Filo de pequenos Metazoários, que são encontrados
151 tanto em água doce como água salgada (Dhert *et al.* 2001). Os machos têm tamanho
152 reduzido e são menos desenvolvidos que as fêmeas. *Brachionus plicatilis* é uma espécie
153 eurihalina, cresce entre 2 e 97 de salinidade (Ferreira 2009). Este organismo é
154 indispensável na larvicultura de uma grande quantidade de peixes devido ao seu
155 pequeno tamanho (120 - 300 µm), reduzida mobilidade, permanência na coluna de água,
156 capacidade de ser cultivado em alta densidade, capacidade de ser manipulado

157 nutricionalmente e ampla faixa de tolerância à mudanças no meio de criação (Kailasam
158 *et al.* 2015; Das *et al.* 2012).

159 A forma de reprodução mais comum nos rotíferos é por via partenogénica ou
160 assexuada. As fêmeas partenogénicas ou amicticas, formam ovos diplóides, não
161 fecundados, que dão origem a novas fêmeas (Ferreira 2009). O ciclo partenogénico
162 pode ser interrompido por fases de reprodução sexuada desencadeadas por fatores
163 exógenos desfavoráveis, tais como temperatura, alimentação, densidade da população,
164 ou endógeno como a idade (Lubzens & Zmora 2003; Gilbert 2010).

165 As fêmeas sexuadas ou micticas, pelo fato dos seus ovos serem submetidos a
166 meiose, formam ovos haplóides. Estes ovos, quando não fecundados, originam machos
167 e caso haja a fecundação dão origem à ovos de resistência (Gilbert 2010). Os ovos de
168 resistência possuem um córion espesso e ornamentado, e sua eclosão é diferenciada,
169 assegurando a sobrevivência da espécie em condições desfavoráveis. Ovos de
170 resistência dão origem a fêmeas amicticas iniciando desta forma um novo ciclo
171 reprodutivo assexuado (Ferreira 2009).

172 Na produção de rotíferos em grande escala, deve ser evitado as condições que
173 causem reprodução sexuada e otimizar as que beneficiem a reprodução partenogénica,
174 de forma a maximizar a produção (Ferreira 2009).

175 **3. Produção de rotíferos**

176 Os rotíferos são produzidos com uma grande variedade de alimentos, entre as
177 quais, as microalgas, as leveduras, e os alimentos inertes. Isso se deve ao fato de serem
178 considerados animais filtradores não seletivos (Abdull *et al.* 2018; Dhert *et al.* 2001;
179 Lopes 2010).

180 Durante o cultivo, os rotíferos necessitam de grandes quantidades de microalgas
181 para sua alimentação, no entanto grandes custos associados a produção de microalgas,
182 constitui problemas para as operações aquícola e limita a produção de rotíferos (Norsker
183 *et al.* 2011). Para resolver este problema, a tendência atual é substituir as microalgas
184 vivas por dietas comerciais em diferentes formas, tanto como complemento ou como
185 principal fonte de alimento (Seychelles *et al.* 2009).

186 As microalgas são muito utilizadas como uma excelente dieta, visto que aumenta
187 o conteúdo de ácidos graxos dos rotíferos, (Haas *et al.* 2016; Dhert *et al.* 2001). Nos

188 últimos tempos tem aparecido no mercado várias dietas comerciais a base de microalgas
189 concentradas, pastas de microalgas congeladas, microalgas secas e liofilizadas, que são
190 utilizadas para enriquecer rotíferos com altos níveis de ácidos graxos polinsaturados, ou
191 como dieta única para cultivo intensivo (Onal *et al.* 2010).

192 A levedura de panificação tem sido muito usada como alimento para rotíferos
193 por proporcionar grande biomassa de rotíferos, com baixo custo de produção (Dhert *et*
194 *al.* 2001). No entanto, a levedura deteriora rapidamente a qualidade de água, trazendo
195 consequências como a poluição nos tanques de cultivo (Ferreira 2009), além disso, os
196 rotíferos produzidos são inadequados para a alimentação de larvas de peixes marinhos,
197 por não possuir quantidades suficientes de ácidos graxos necessários e por sua vez as
198 larvas a quem são fornecidos não se desenvolvem adequadamente (Allan & Burnell
199 2013).

200 **4. Produção de rotíferos com alimentos alternativos**

201 Na tentativa de reduzir ou eliminar a necessidade da produção cara de
202 microalgas e produtos de enriquecimento de rotíferos, alguns estudos foram realizados
203 avaliando alimentos alternativos para produção de rotíferos. Hirata *et al* (1998), utilizou
204 probióticos produzidos a partir de incubação de bactérias com subprodutos de outros
205 materiais relacionados a alimentos, concluindo assim que esse probiótico pode ser
206 usado na alimentação de rotíferos.

207 Loo *et al* (2015), usou bactérias fototróficas, produzidos de maneira fácil e
208 barata a partir de efluentes de fábrica de óleo, na alimentação de rotíferos. Essas
209 bactérias contém grandes quantidades de vitaminas e proteínas superior a levedura de
210 panificação. O autor avaliou o estado nutricional e crescimento do rotífero com esse
211 alimento e concluiu que essas bactérias podem ser usadas na produção de rotíferos.

212 Ogello *et al* (2018), utilizou resíduos de peixes na alimentação de rotíferos, e
213 obteve densidades maiores do que a dieta controle com microalga. Segundo o mesmo
214 autor, esses resíduos podem apresentar nutrientes e probióticos essenciais, o que explica
215 a maior densidade populacional de rotíferos do que na cultura controle.

216 **5. Estresse oxidativo em rotíferos**

217 Os organismos aeróbicos, desenvolveram evolutivamente um complexo sistema
218 antioxidante composto de diversas defesas enzimáticas e não enzimáticas que atuam

219 impedindo a formação e ação das espécies reativas de oxigênio (Srikanth *et al.* 2013),
220 ou favorecendo o reparo e a reconstituição de moléculas que sofreram danos oxidativos
221 (Halliwell & Gutteridge 2015).

222 A atuação dessas defesas antioxidantes e dos pró-oxidantes no organismo dos
223 animais apresenta um equilíbrio em condições normais. Entretanto, em resposta a
224 agentes estressores, incluindo alterações em variáveis ambientais ou durante a
225 exposição a poluentes, pode haver perturbação desse equilíbrio (Lushchak 2011, Stoliar
226 & Lushchak 2012). Um desequilíbrio entre antioxidante e pró-oxidantes, levando a um
227 aumento na produção destes últimos, proporciona desafios oxidativos. Os desafios
228 oxidativos podem ser originados por condições ambientais desfavoráveis (Lushchak
229 2011).

230 Os rotíferos são produzidos em altas densidades. Ainda as variáveis ambientais,
231 tais como temperatura, pH, oxigênio e a salinidade estão sujeitas à variações, podendo
232 comprometer a produção. Esses ambientes com potencial estressor podem levar ao
233 estado de estresse oxidativo para os rotíferos (Denekamp *et al.* 2009).

234 Nos organismos aeróbicos, durante o metabolismo oxidativo, as espécies
235 reativas de oxigênio (ROS) são produzidas naturalmente, e incluem radicais hidroxila (
236 OH), ânions superóxido (O_2^-) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Dröge 2002). Em
237 baixas concentrações, os ROS são essenciais para os processos fisiológicos, como vias
238 de sinalização e o desencadeamento de fatores de transcrição gênica, enquanto altas
239 concentrações podem promover efeitos deletérios nas biomoléculas (Navarro-Yepes *et*
240 *al.* 2014).

241 O estresse oxidativo é reduzido por uma complexa rede de antioxidantes, entre
242 os quais antioxidantes dietéticos e antioxidantes endógenos (Vertuani *et al.* 2004). Por
243 definição, uma substância antioxidante é aquela capaz de diminuir ou inibir os
244 processos de oxidação, mesmo quando presente em baixas concentrações (Morais *et al.*
245 2013).

246 Os organismos possuem enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase
247 (SOD), a catalase (CAT) e a glutathiona peroxidase (GPx) que reagem com os compostos
248 oxidantes e protegem as células e os tecidos do estresse oxidativo (Sevcikova *et al.*

249 2011). Em adição aos efeitos protetores dos antioxidantes endógenos, a inclusão de
250 antioxidantes na dieta é de grande importância (Pompella, 1997).

251 Os antioxidantes dietéticos são principalmente metabólitos secundários
252 sintetizados por plantas para se protegerem contra o estresse oxidativo. Quimicamente,
253 eles podem ser agrupados em quatro classes: vitamina C (ácido ascórbico); vitamina E
254 (tocoferóis); carotenóides (a- carotenos e b-carotenos, licopeno, luteína); e antioxidantes
255 polifenólicos, como os ácidos fenólicos e flavonóides (Catoni *et al.* 2008).

256 **6. Farelo de arroz**

257 O arroz consiste numa das culturas de maior importância, social e econômica, no
258 contexto mundial. É cultivado e consumido em todos os continentes, destacando-se pela
259 grande área de cultivo que ocupa e, conseqüentemente, pela elevada produção mundial
260 (Sharif *et al.* 2014). Para a obtenção do arroz, são gerados cerca de 5 a 8% de farelo,
261 um coproduto de seu beneficiamento (Sharif *et al.* 2014).

262 Durante o beneficiamento do arroz ocorre a remoção de grande percentagem de
263 muitos nutrientes incluindo proteínas, fibras, lipídios, ferro e vitaminas que são
264 veiculados para o farelo (FAO, 2004). A natureza e composição do farelo de arroz
265 dependem do sistema ou grau de polimento, contaminação com casca e a severidade da
266 parboilização realizada durante o processo de produção do arroz parboilizado (Amissah
267 *et al.* 2003).

268 Segundo Amato (2006), o farelo de arroz possui maiores teores de proteínas (13
269 a 15 %) em relação ao arroz polido (5 a 8 %) e a casca (3 a 3,5 %). O mesmo se
270 verifica com o conteúdo lipídico que perfaz no farelo 15 a 17% contra 0,3 a 0,6 % no
271 arroz polido e 0,8% na casca, sendo seus maiores constituintes são os ácidos oléico,
272 linoléico e ácido palmítico. O componente fibra também é abundante perfazendo
273 aproximadamente 11% (Oliveira *et al.* 2011). O farelo de arroz contém vitaminas,
274 minerais como ferro, fósforo e magnésio (Oliveira *et al.* 2011). Possui também
275 compostos antioxidantes e funcionais como o orizanol e tocoferóis (Oliveira *et al.* 2011;
276 Verardo *et al.* 2016).

277 Nos últimos tempos, muito se tem estudado sobre a utilização do farelo de arroz
278 na área de alimentação, extração de componentes de óleo, extração de proteína, e
279 utilização em processos de biotecnologia para obtenção de metabólitos de interesse,

280 devido ao seu baixo custo e grande abundância (Adebiyi *et al.* 2007; Chandi & Sogi
281 2007; Vali *et al.* 2005; Yun & Hong 2007; Oliveira *et al.* 2010).

282 Os processos fermentativos são muito utilizados como forma de aumentar a
283 disponibilidade de nutrientes em matérias-primas. Isso implica no emprego de
284 microrganismos para obter transformações resultantes da atividade metabólica dos
285 mesmos (Pelizer *et al.* 2007). Por exemplo, de acordo com Oliveira *et al.* (2010), a
286 fermentação do farelo de arroz por microorganismos aumentam significativamente o
287 conteúdo proteico e a atividade antioxidante devido ao incremento dos compostos
288 fenólicos.

289 Esses processos podem tornar os alimentos mais nutritivos por aumentar a
290 digestibilidade e a palatabilidade (Aquarone *et al.* 2001). As leveduras se destacam
291 como uma excelente fonte de proteínas, não apenas pela sua capacidade de sintetizá-las
292 e a outros compostos, mas também por suas características não patogênicas, podendo
293 ser usadas tanto como alimento para humanos quanto como ração (Rodrigues &
294 Santanna 2001).

295 A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é muito utilizada como agente
296 transformador em processos fermentativos, devido a simplicidade da técnica
297 amplamente conhecida, a classificação como microrganismo seguro e a possibilidade de
298 disponibilizar nutrientes em cereais e derivados (Badiale-Furlong 2005).

299

300 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 301 ABDULL RAR; ZC COB; Z JAMARI; AM MOHAMED; T TODA & OH ROSS.
302 2018. The Effects of Microalgae as Live Food for *Brachionus plicatilis* (Rotifer) in
303 Intensive Culture System. *Tropical Life Sciences Research.*, 29: 127- 138.
- 304 ADEBIYI AP; AO ADEBIYI; D-H JIN; T OGAWA & K MURAMOTO. 2007. Rice
305 bran protein-based edible films. *International Journal of Food Science and*
306 *Technology.*, 43: 476–483.
- 307 ALLAN G & G BURNELL. 2013. *Advances in aquaculture hatchery technology* (W.
308 Publishing Ed.),1.
- 309 AMISSAH JGN; WO ELLIS; I ODURO & JT MANFUL. 2003. Nutrient composition
310 of bran from new rice varieties under study in Ghana. *Food Control*, 14: 21-24.
- 311 AQUARONE E; B WALTER; SN WILLIBALDO & LU ALMEIDA. 2001.
312 *Biotecnologia industrial: Biotecnologia na produção de alimentos*. São Paulo:
313 Edgard Blücher,. V, 4, 523 p.
- 314 BADIALE-FURLONG E. 2005. Manejo operacional para micotoxinas em arroz. In:
315 ELIAS, M. C.; LORINI, I.: *Qualidade de arroz na pós-colheita*. Anais do II
316 Simpósio Sul - Brasileiro de qualidade de arroz. Pelotas: Abrapós/UFPEL, p. 95-
317 109.
- 318 BENGTON DA. 2003. Status of Marine Aquaculture in Relation to Live Prey: Past,
319 Present and Future. In: Støttrup, J.G.; McEvoy, L.A. (eds.): *Live Feeds in Marine*
320 *Aquaculture*. Oxford, p.1–16.
- 321 CATONI C; A PETERS & HM. SCHAEFER. 2008. Life history trade-offs are
322 influenced by the diversity, availability and interactions of dietary antioxidants.
323 *Animal behaviour*, 76: 1107-1119.
- 324 CHANDI GK & DS SOGI. 2007. Functional properties of rice bran protein
325 concentrates. *Journal of Food Engineering.*, 79:592–597.
- 326 CIVERA-CERECEDO R; CA ÁLVAREZ-GONZÁLEZ & FJ MAYANO-LOPEZ.
327 2004. Nutrición y alimentación de larvas de peces marinos. In: Cruz Suárez, L. E.;
328 Ricque Marie, D. Nieto López, M. G., Villarreal, D., Scholz, U. y González, M.
329 2004. *Avances en nutrición Acuícula VII*. Memorias del VII Simposium
330 *Internacional de Nutrición Acuícula*. 16-19 Nov. Sonora, México.
- 331 CONCEIÇÃO LEC; L RIBEIRO; S ENGROLA; C ARAGÃO; S MORAIS; M
332 LACUISSE; F SOARES & MT DINIS. 2007. Nutritional physiology during
333 development of Senegalese sole (*Solea senegalensis*). *Aquaculture*, 268: 64-81.
- 334 DAS P; SC MANDAL; SK BHAGABATI; MS AKHTAR. & SK SINGH. 2012.
335 Important live food organisms and their role in aquaculture. In: *Frontiers in*
336 *Aquaculture*, Chapter 5 (ed. by M. Sukham), pp. 69–86. Narendra Publishing
337 House, New Delhi, India
- 338 DENEKAMP NY, MA THOME, MS CLARK, M KUBE, R REINHARDT & E
339 LUBZENS. 2009. Discovering genes associated with dormancy in the monogonont
340 rotifer *Brachionus plicatilis*. *BMC Genomics* 10:108.

- 341 DHERT P; G ROMBAUT; G SUANTIKA & P SORGELOOS. 2001. Advancement of
342 rotifer culture and manipulation techniques in Europe. *Aquaculture.*, 200:129–146.
- 343 DHERT P; N KING & EO BRIEN. 2014. Stand-alone live food diets, an alternative to
344 culture and enrichment diets for rotifers. *Aquaculture.*, 431: 59–64.
- 345 DRÖGE W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function.
346 *Physiological Reviews.*, 82: 47–95.
- 347 ERYALÇIN KM. 2019. Nutritional value and production performance of the rotifer
348 *Brachionus plicatilis* Müller, 1786 cultured with different feeds at commercial
349 scale. *Aquaculture International*, 27:875-890. doi.org/10.1007/s10499-019-00375-
350 5.
- 351 FERREIRA M; AC BURGUENO; I FREIRE & A OTERO, 2018. Effect of nutritional
352 status and concentration of *Nannochloropsis gaditana* as enrichment diet for the
353 marine rotifer *Brachionus* sp. *Aquaculture.*, 491: 351-357.
- 354 FERREIRA PMP.2009. Manual de cultivo e bioencapsulação da cadeia alimentar para a
355 Larvicultura de peixes marinhos. Instituto Nacional de Recursos Biológicos I.P.
356 IPIMAR. 240p.
- 357 GILBERT JJ. 2010. Effect of food concentration on the production and viability of
358 resting eggs of the rotifer *Brachionus*: implications for the timing of sexual
359 reproduction. *Freshwater. Biology.*, 55: 2437–2446. doi:10.1111/j.1365-
360 2427.2010.02455.x
- 361 HAAS S; JL BAUER; A ADAKLI; S MEYER; S LIPPEMEIER; K SCHAWARZ & C
362 SCHULZ. 2016. Marine microalgae *Pavlova viridis* and *Nannochloropsis* sp. as n-
363 3 PUFA source in diets for juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.).
364 *Journal of Applied Phycology.*, 28:1011–1021.
- 365 HAGIWARA A; HJ KIM & H MARCIAL. 2017. Mass Culture and Preservation of
366 *Brachionus plicatilis* sp. Complex. In A. Hagiwara & T. Yoshinaga (Eds.), *Rotifers:*
367 *Aquaculture, ecology, gerontology, and ecophysiology* (pp. 35- 46). Singapore:
368 Springer Nature.
- 369 HALLIWEL B & JMC GUTTERIDG. 2015. *Free radicals in biology and medicine*,
370 quinta ed. Oxford University Press, Estados Unidos da América.
- 371 HAMRE K. 2016. Nutrient profiles of rotifers (*Brachionus* sp.) and rotifer diets from
372 four different marine fish hatcheries. *Aquaculture.*, 450. P 136- 142.
- 373 HIRATA H; O MURATA; S YAMADA; H ISHITANI & M WACHI. 1998. Probiotic
374 culture of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Hydrobiologia.*,387/388: 495-498.
- 375 KAILASAM M; AR THIRUNAVUKKARASU; AG PONNIAH ; S SELVARAJ & P
376 STALIN. 2015. Recent advances in rotifer culture and its application for
377 larviculture of finfishes. In: *Advances in Marine and Brackishwater Aquaculture*
378 Edited by S. Perumal, A.R. Thirunavukkarasu, P. Pachiappan, Springer, Pp.17 – 23

- 379 KAILASAM M; AR THIRUNAVUKKARASU; AG PONNIAH ; S SELVARAJ & P
380 STALIN. 2015. Recent advances in rotifer culture and its application for
381 larviculture of finfishes. In: Advances in Marine and Brackishwater Aquaculture
382 Edited by S. Perumal, A.R. Thirunavukkarasu, P. Pachiappan, Springer, Pp.17 – 23
- 383 KIM HJ; JS LEE & A HAGIWARA. 2018. Phototactic behavior of live food rotifer
384 *Brachionus plicatilis* species complex and its significance in larviculture: A review.
385 *Aquaculture.*, 497:253-259.
- 386 KOLKOVSKI S. 2001. Digestive enzymes in fish larvae and juveniles — implications
387 and applications to formulated diets. *Aquaculture* 200: 181–201. LUSHCHAK VI.
388 2011. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquat.*
389 *Toxicol.*, 101: 13–30.
- 390 KOSTOPOULOU V; MJ CARMONA & P DIVANACH. 2012. The rotifer *Brachionus*
391 *plicatilis*: an emerging bio-tool for numerous applications. *Journal of Biological*
392 *Research – Thessaloniki*, 17:97-112.
- 393 LOO PL; VC CHONG; S VIKINESWARY & S IBRAHIM. 2015. Waste-grown
394 phototrophic bacterium supports culture of the rotifer, *Brachionus rotundiformis*
395 *Aquaculture Research.*, 1-13. doi:10.1111/are.12750
- 396 LOPES AFS. 2010. Comportamento alimentares de *Brachionus* spp: microalgas vivas e
397 liofilizadas e emulsões de produtos comerciais. Taxa de crescimento e análise dos
398 conteúdos lipídicos. Tese de mestrado. Faculdade de Ciências. Universidade de
399 Lisboa. 60 pp.
- 400 LUBZENS E & O ZMORA. 2003. Production and nutritional value of rotifers. In live
401 feeds marine aquaculture (Stottrup, J.G and McEvoy, LA, eds.), pp 17-52.
402 Blackwell publishing, oxford, UK.
- 403 MORAIS ML; ACR SILVA; CRR ARAÚJO; EA ESTEVES & NAV DESSIMONI-
404 PINTO. 2013. Determinação do potencial antioxidante in vitro de frutos do Cerrado
405 brasileiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 35: 355–360.
- 406 NAVARRO-YEPES J; M BURNS; A ANANDHAN,; O KHALIMONCHUK; LM
407 DEL RAZO; B QUINTANILLA- VEJA; A PAPPAS; MI PANAYIOTIDIS & R
408 FRANCO. 2014. Oxidative stress, redox signaling, and autophagy: cell death
409 versus survival. *Antioxid. Redox Signal.*, 21: 66–85.
- 410 NORSEKER NH; MJ BARBOSA; MH VERMUE & RH WIJFFELS. 2011. Microalgal
411 production—a close look at the economics. *Biotechnol Adv* 29:24–27. OLIVEIRA
412 MS; L KUPSKI; V FEDDERN; E CIPOLATTI; E BADIALE-FURLONG & LA
413 SOUZA SOARES. 2011. Changes in lipid, fatty acids and phospholipids

- 414 composition of whole rice bran after solid-state fungal fermentation. *Bioresour.*
415 *Technol.* 102:8335–8338.
- 416 OGELLO EO; S WULLUR; Y SAKAKURA & A HAGIWARA. 2018. Composting
417 fishwastes as low-cost and stable diet for culturing *Brachionus rotundiformis*
418 Tschugunoff (Rotifera): Influence on water quality and microbiota. *Aquaculture*,
419 486: 232-239.
- 420 OLIVEIRA M S; V FEDDERN; L KUPSKI; EP CIPOLATTI; E BADIALE-
421 FURLONG & LA. DE SOUZA-SOARES. 2010. Physico-chemical
422 characterization of fermented rice bran biomass Caracterización fisico-química de
423 la biomasa del salvado de arroz fermentado. *CyTA - Journal of Food.*, 8:3, 229-
424 236, DOI: 10.1080/19476330903450274.
- 425 ÖNAL U; Ý ÇELİK & S ERGÜN. 2010. The performance of a small-scale, high-
426 density, continuous system for culturing the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Turkish*
427 *Journal Veterinary and Animal Sciences.*, 34: 187-195.
- 428 PELIZER LH; MH PONTIERI & IO MORAES. 2007. Utilização de resíduos agro-
429 industriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto
430 ambiental. *Journal of Technology Management & Innovation.*, 2:118–127.
- 431 POMPELLA A. 1997. Biochemistry and histochemistry of oxidant stress and lipid
432 peroxidation. *International Journal for Vitamin and Nutrition research*, 67: 289-297.
- 433 PORTELLA MC; NJ LEITÃO; R TAKATA & TS LOPES. 2012. Alimentação e
434 Nutrição de Larvas. In: Fracalossi, D.M., Cyrino, E.P. **Nutriaqua: Nutrição e**
435 **Alimentação de Espécies de Interesse para a Aquicultura Brasileira.** Florianópolis:
436 Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, p.185-208.
- 437 QIN JG. 2013. *Larval Fish Aquaculture.* Nova Science Publishers, New York, p 230
- 438 RASDI NW & JG QIN. 2018. Copepod supplementation as a live food improved
439 growth and survival of Asian seabass *Lates calcarifer* larvae. *Aquaculture*
440 *Research.*, 49: 3606 – 3613. doi.org/10.1111/are.13828
- 441 RODRIGUES, A M & ES SANTANNA. 2001. Efeito do cloreto de sódio na produção
442 de proteínas (*Saccharomyces cerevisiae*) em fermentação semi-sólida. *Ciência e*
443 *Tecnologia de Alimentos*, 21: 57-62.
- 444 SEVCIKOVA M; H MODRA; A SLANINOVA & Z SVOBODOVA. 2011. Metals as
445 a cause of oxidative stress in fish: a review. *Veterinarni Medicina* 56:537-546
- 446 SEYCHELLES LH; C AUDET; R TREMBLAY; R FOURNIER & F PERNET. 2009.
447 Essential fatty acid enrichment of cultured rotifers (*Brachionus plicatilis*, Müller)
448 using frozen-concentrated microalgae. *Aquaculture Nutrition.*, 15: 431-439.

449 SHARIF MK; MS BUTT; FM ANJUM. & SH KHAN. 2014. Rice Bran: A Novel
450 Functional Ingredient. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 54:807-816. doi:
451 10.1080/10408398.2011.608586.

452 SOLOVYEV MM; C CAMPOVERDE; S OZTURK; C MOREIRA; M DIAZ; FJ
453 MOYANO; A ESTÉVEZ & E GISBERT. 2016. Morphological and functional
454 Description of the development of the digestive system in meagre (*Argyrosomus*
455 *regius*): An integrative approach. Aquaculture., 464: 381- 391.

456 SRIKANTH K; E PEREIRA; AC DUARTE & I AHMAD. 2013. Glutathione and its
457 dependent enzymes' modulatory responses to toxic metals and metalloids in fish—a
458 review. Environ.Sci. Pollut. Res. Int., 20: 2133–2149.

459 STOLIAR OB & VI LUSHCHAK. 2012. Environmental pollution and oxidative stress
460 in fish, in: Lushchak, Volodymyr (Ed.), Oxidative Stress - Environmental Induction
461 and Dietary Antioxidants. InTech, Rijeka, pp. 131-166.

462 VALI SR; Y-H JU; TNB KAIMAL & Y-T CHERN. 2005. A process for the
463 preparation of food-grade rice bran wax and the determination of its composition.
464 Journal of the American Oil Chemists' Society., 82: 57–64.

465 VERARDO V; AM GÓMEZ-CARAVACA; E MARCONI; A SEGURA-
466 CARRETERO; A GARRIDO-FRENICH, & A FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ.
467 2016. Determination of lipophilic and hydrophilic bioactive compounds in raw and
468 parboiled rice bran. RSC Advances., 6: 50786–50796

469 VERTUANI S; A ANGUSTI & S MANFREDINI. 2004. The antioxidants and pro-
470 antioxidants network: an overview. Current Pharmaceutical Design., 10: 1677-
471 1694.

472 YIN C; X LI & J DU. 2019. Optic tectal superficial interneurons detect motion in larval
473 zebrafish. Protein & cell., 10:238-248.

474 YUN SE & ST HONG. 2007. Isolation and investigation of emulsifying properties of
475 surface-active substances from rice bran. Food Hydrocolloids., 27:838–843.
476
477
478
479
480
481

482
483
484
485
486
487
488
489
490
491
492
493
494
495
496
497
498
499
500
501
502
503
504
505
506
507
508
509
510

Objetivos

Objetivo geral

- Examinar a utilização do farelo de arroz integral e fermentado como fonte alimentar para a produção de rotíferos, *Brachionus plicatilis*.

Objetivos específicos

- Estabelecer a melhor quantidade de farelo de arroz integral para alimentar rotíferos;
- Estabelecer a melhor quantidade de farelo de arroz fermentado para alimentar rotíferos;
- Avaliar o potencial do farelo de arroz integral e fermentado para substituir parcialmente ou totalmente a levedura de panificação na alimentação de rotíferos;
- Verificar a possibilidade do farelo de arroz fermentado aumentar a capacidade antioxidante nos rotíferos.

511
512
513
514
515
516
517
518
519
520
521
522
523
524
525
526
527
528
529
530
531
532
533
534
535
536
537
538
539
540
541

CAPÍTULO I

UTILIZAÇÃO DO FARELO DE ARROZ COM E SEM FERMENTAÇÃO NA PRODUÇÃO DO ROTÍFERO *Brachionus plicatilis*

542 **Resumo**

543 A utilização do farelo de arroz integral e fermentado na alimentação do rotífero pode ser
544 considerados como alternativa para a alimentação de rotíferos por ser um alimento de
545 grande disponibilidade e por apresentar qualidade nutricional interessante e desta forma
546 reduzir os custos de produção decorrentes da produção de microalgas para alimentar
547 rotíferos, e diminuir o manejo da qualidade de água quando se utiliza a levedura de
548 panificação como alimento. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a utilização do
549 farelo de arroz integral e fermentado na alimentação do rotífero, baseado nos efeitos nos
550 parâmetros de desempenho, atividades antioxidantes e qualidade de água. O estudo foi
551 baseado em três experimentos, nos quais o compararam o efeito de diferentes
552 concentrações de farelo de arroz integral na alimentação do rotífero, o efeito de
553 diferentes concentrações de farelo de arroz fermentado na alimentação do rotíferos e o
554 efeito das melhores concentrações de farelo de arroz integral e fermentado, bem como a
555 substituição de parte da levedura de panificação por esses farelos, no desempenho
556 zootécnico, qualidade de água e atividades antioxidantes do rotífero. Os resultados
557 mostraram uma melhor desempenho de crescimento em tratamentos com 0,7g levedura,
558 1,5g farelo fermentado, 0,35g levedura com 0,75g farelo integral e 0,35g levedura com
559 0,75g farelo fermentado. A fermentação do farelo de arroz por 6 horas, não induziu uma
560 resposta ao estresse oxidativo nos rotíferos. Foi constatado que pode ser usado 1,5g
561 farelo fermentado e substituição de 50% de levedura por farelo de arroz fermentado ou
562 integral na alimentação de rotíferos, junto com a vantagem de melhor qualidade
563 ambiental, devido a diminuição da amónia da água.

564 **Palavras-chave:** *Brachionus plicatilis*, crescimento populacional, produção, nutrição,
565 farelo de arroz, fermentação em estado sólido.

566

567 **Abstract**

568 The use of fermented and non-fermented whole rice bran might be considered as an
569 alternative for rotifer feeding, since it is highly available, presents interesting nutritional
570 qualities – therefore reducing the costs involved in the production of microalgae for
571 feeding these animals – reduces the need for water quality management when using
572 baking yeast as food. The objective of the present study was to evaluate the use of
573 fermented and non-fermented whole rice bran for rotifer feeding, based on the effects on
574 growth parameters, antioxidant responses, and water quality. The study was based on
575 three experiments, which compared the effect of different concentrations of whole rice
576 bran on the rotifer feed, the effect of different concentrations of fermented whole rice
577 bran on the rotifer feed and the effect of the best concentrations of fermented and non-
578 fermented whole rice bran, as well as the replacement of part of the baking yeast by
579 these brans, in zootechnical performance, water quality and antioxidant activities of the
580 rotifer. The results showed the best growth performances in treatments with 0.7g yeast
581 with 1.5g fermented rice bran, 0.35g yeast with 0.75g whole rice bran, and 0.35g yeast
582 with 0.75g fermented rice bran. Fermentation of rice bran for 6 hours did not induce a
583 response to oxidative stress in rotifers. This work revealed that the use of 1.5g of
584 fermented bran and replacement of 50% of yeast with fermented or non-fermented bran
585 might be used for rotifer feeding, with the additional benefit of favoring the
586 environmental quality due to the lower amount of ammonia present in the water.

587 **Keywords:** *Brachionus plicatilis*, population growth, production, nutrition, rice bran,
588 solid-state fermentation.

589

590 1. Introdução

591 Na aquicultura, o alimento vivo é essencial para a criação dos primeiros estágios
592 de vida das larvas de peixes marinhos. Os avanços no desenvolvimento de microdietas
593 artificiais reduziram a dependência de *Artemia* (Curnow *et al.* 2006; Kolkovski 2013),
594 no entanto, a utilização de microdietas para substituir ou minimizar o uso de rotíferos
595 ainda não é uma realidade na primeira alimentação da maioria das larvas de peixes
596 marinhos (Kim *et al.* 2018; Dhert *et al.* 2014).

597 Os rotíferos são considerados animais filtradores não seletivos, o que facilita a
598 sua alimentação podendo ser ofertado elevada diversidade de dietas, entre as quais, as
599 microalgas, as leveduras, e os alimentos inertes (Abdull *et al.* 2018; Dhert *et al.* 2001;
600 Lopes 2010). Dentre as espécies, a mais conhecida e utilizada na larvicultura de peixes é
601 o rotífero *Brachionus plicatilis*, devido às suas características como pequeno tamanho
602 (120 - 300 µm), reduzida mobilidade, permanência na coluna de água, capacidade de
603 produção em larga escala, facilidade de manejo em termos de assimilação de
604 substâncias enriquecedoras e bactericidas e ampla faixa de tolerância à mudanças na
605 variáveis ambientais como temperatura, salinidade e oxigênio (Kailasam *et al.* 2015;
606 Das *et al.* 2012).

607 As microalgas são frequentemente utilizadas como dieta para o rotífero
608 *Brachionus plicatilis*, por suas qualidades nutricionais, incluindo ácidos graxos
609 essenciais (Ferreira *et al.* 2018). No entanto, a produção de microalgas demanda muito
610 trabalho, sendo onerosa sua produção para a alimentação de rotíferos (Norsker *et al.*
611 2011). Desta forma, a tendência atual é evitar o uso de microalgas vivas, substituindo-as
612 por dietas bioencapsuladas e leveduras (Seychelles *et al.* 2009; Ma & Qin 2014).

613 A levedura de panificação é muito usada como fonte de alimento barato para o
614 rotífero. No entanto, a levedura apresenta o problema de rapidamente deteriorar a
615 qualidade de água do cultivo, sendo necessária maior atenção ao manejo para a sua
616 produção, e os rotíferos produzidos são inadequados para a alimentação de larvas de
617 peixes marinhos, por possuir baixa qualidade nutricional (Ferreira 2009; Allan &
618 Burnell 2013).

619 Os Rotíferos são produzidos em ambientes onde as variáveis ambientais, tais
620 como temperatura, pH, oxigênio e a salinidade estão sujeitas à variações, podendo
621 comprometer a produção. Essas variações podem levar ao estado de estresse oxidativo

622 para os rotíferos (Denekamp *et al.* 2009). Espécies reativas de oxigênio (ROS) são
623 produzidas naturalmente em organismos aeróbicos durante o metabolismo oxidativo, e
624 incluem radicais hidroxila (OH), ânions superóxido (O₂⁻) e peróxido de hidrogênio
625 (H₂O₂) (Dröge 2002). Em altas concentrações, as espécies reativas de oxigênio podem
626 promover efeitos deletérios nas biomoléculas (Navarro-Yepes *et al.* 2014).

627 Os organismos possuem enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase
628 (SOD), a catalase (CAT) e a glutathione peroxidase (GPx) que reagem com os compostos
629 oxidantes e protegem as células e os tecidos do estresse oxidativo (Sevcikova *et al.*
630 2011). Em adição aos efeitos protetores dos antioxidantes endógenos, a inclusão de
631 antioxidantes na dieta é de grande importância (Pompella, 1997).

632 O farelo de arroz, um dos subprodutos resultante do beneficiamento do arroz,
633 representa cerca de 5 a 8 % do total do grão. É umas das partes mais nutritivas do grão,
634 contendo vitaminas, minerais como ferro, fósforo e magnésio, contendo 11 a 13% de
635 proteínas, 11% de fibras, podendo conter mais de 20 % de óleo, principalmente ácidos
636 graxos insaturados (Oliveira *et al.* 2011; Da Silva *et al.* 2006; Parrado *et al.* 2006). O
637 farelo de arroz possui também componentes antioxidantes, entre eles o orizanol e
638 tocoferóis (Da Silva *et al.* 2006). Por outro lado, a fermentação do farelo de arroz por
639 microorganismos, podem aumentar significativamente o conteúdo proteico e a atividade
640 antioxidante devido ao aumento dos compostos fenólicos (Oliveria *et al.* 2010). Devido
641 à sua abundância, o farelo de arroz apresenta baixo custo, sendo objeto de diferentes
642 pesquisas na área de alimentação, extração de componentes de óleo, extração de
643 proteína, e utilização em processos de biotecnologia para obtenção de metabólitos de
644 interesse como os compostos fenólicos (Adebiyi *et al.* 2007; Chandi & Sogi 2007; Vali
645 *et al.* 2005; Yun & Hong 2007; Oliveira *et al.* 2010).

646 De acordo com o exposto anteriormente, o objetivo deste estudo foi avaliar a
647 utilização do farelo de arroz integral e do farelo de arroz integral fermentado como
648 fontes alimentares para a produção do rotíferos, *Brachionus plicatilis*. Com finalidade
649 de responder esse objetivo, foram realizados estudos sobre o desempenho zootécnico
650 como taxa de crescimento populacional (TC), percentagem de fêmea ovada (F) e tempo
651 de duplicação da população (TD). Ainda foi avaliado os parâmetros de estresse
652 oxidativo, como espécies reativas de oxigênio (ROS), a capacidade antioxidante total
653 (ACAP) e peroxidação lipídica (TBARS) dos rotíferos.

654 2. 2. Material e métodos

655 2.1 Local

656 O estudo foi realizado no Laboratório de Piscicultura Estuarina e Marinha
657 (LAPEM) da Estação Marinha de Aquacultura do Instituto de Oceanografia da
658 Universidade Federal do Rio Grande (EMA-FURG), localizada na praia do Cassino,
659 Rio Grande, RS.

660 2.2 2.2. Alimentos utilizados nos diferentes experimentos

661 A levedura de panificação (*Saccharomyces cerevisiae*), foi adquirida como
662 produto comercial. O farelo de arroz da espécie *Oryza sativa*, foi obtido da Escola de
663 Química e Alimentos (EQA) da Universidade Federal do Rio Grande – FURG. Depois
664 de peneirado obtendo uma granulometria de 30 à 150 µm, o farelo de arroz foi
665 submetido à fermentação em estado sólido com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* na
666 forma de fermento liofilizado instantâneo, segundo a metodologia descrita por Oliveira
667 *et al.* (2011). Os parâmetros definidos para a fermentação foram 3% de levedura, 30%
668 de umidade e um intervalo de 6 h a 30°C. O farelo de arroz foi colocado em
669 biorreatores sob a forma de uma fina camada de 2 cm e autoclavado. A levedura foi
670 dissolvida em água destilada e adicionada ao farelo autoclavado. A fermentação foi
671 realizado em estufa com circulação de ar a 30 °C, em biorreatores durante 6 horas. Os
672 biorreatores foram cobertos com gaze estéril para permitir ventilação. O farelo de arroz
673 fermentado, obtido ao final das 6 horas de fermentação foi armazenado sob refrigeração
674 para posterior realização das análises e utilização.

675 2.3. Cultivo dos rotíferos

676 Os rotíferos foram produzidos em sistema de batelada. Os mesmos estavam
677 sendo alimentados com levedura de panificação na quantidade de 0,7g/1,0 x 10⁶
678 rotíferos, fornecida 5 vezes ao dia. Segundo ferreira 2009, a levedura de panificação
679 pode ser usada nas concentrações de 0,5-1g/1,0 x 10⁶ rotíferos. O uso de 0,7g de
680 levedura para um milhão de rotíferos, é de acordo com o protocolo usado no
681 laboratório. 12h antes da realização dos experimentos, os rotíferos foram deixados de
682 serem alimentados, para que o trato fosse esvaziado e não ocorresse interferência do
683 alimento anterior nos resultados dos experimentos.

684 **2.4. Desenho experimental**

685 **2.4.1. Utilização de diferentes concentrações de farelo de arroz integral na** 686 **alimentação do rotífero *Brachionus plicatilis***

687 O primeiro experimento comparou o efeito de diferentes concentrações de farelo
688 de arroz integral na taxa de crescimento do rotífero. Foram testados 4 tratamentos, com
689 três repetições cada: 1) Controle (0,7 g levedura/ $1,0 \times 10^6$ rotíferos, de acordo com o
690 protocolo do laboratório); 2) 0,5 g farelo integral/ $1,0 \times 10^6$ rotíferos); 3) 1 g farelo
691 integral/ $1,0 \times 10^6$ rotíferos; 4) 1,5 g farelo integral/ $1,0 \times 10^6$ rotíferos.

692 **2.4.2. Utilização de diferentes concentrações de farelo de arroz fermentado na** 693 **alimentação do rotífero *Brachionus plicatilis***

694 O segundo experimento comparou o efeito de diferentes concentrações de farelo
695 de arroz fermentado na taxa de crescimento do rotífero. Foram testados 4 tratamentos,
696 com três repetições cada: 1) Controle (0,7 g levedura/ $1,0 \times 10^6$ rotíferos); 2) 0,5 g
697 farelo fermentado/ $1,0 \times 10^6$ rotíferos); 3) 1 g farelo fermentado/ $1,0 \times 10^6$ rotíferos; 4)
698 1,5 g farelo fermentado/ $1,0 \times 10^6$ rotíferos.

699 **2.4.3. Substituição parcial e total da levedura de panificação por farelo de arroz** 700 **fermentado ou não na alimentação do rotífero *Branchionus plicatilis***

701 O terceiro experimento comparou o efeito das melhores concentrações de farelo
702 de arroz integral e fermentado, bem como a substituição de parte da levedura por estes
703 farelos na taxa de crescimento populacional e atividades antioxidantes do rotífero.
704 Foram testados 5 tratamentos, com três repetições cada: 1) Controle (0,7 g levedura/ $1,0$
705 $\times 10^6$ rotíferos); 2) 1,5 g farelo integral/ $1,0 \times 10^6$ rotíferos); 3) 1,5 g farelo fermentado/
706 $1,0 \times 10^6$ rotíferos; 4) 0,35g levedura + 0,75g farelo integral / $1,0 \times 10^6$ rotíferos; 5)
707 0,35g levedura + 0,75g farelo fermentado/ $1,0 \times 10^6$ rotíferos.

708 O delineamento experimental dos três experimentos foi inteiramente
709 casualizado. As culturas foram continuamente aeradas, usando pedras de aeração. Os
710 tanques de volume de 2 L foram colocados em uma mesa de água, com termostatos,
711 mantendo a temperatura em 25° C dentro das unidades experimentais. A iluminação foi
712 mantida constante.

713 Para cada tratamento foram utilizados inicialmente, 200 rot./mL. O alimento foi
714 dissolvido em água doce e fornecido 6 vezes ao dia com intervalos de 4 horas. Ao final
715 de 3 dias os rotíferos foram lavados, determinado os parâmetros de crescimento como
716 densidade populacional, percentagem de fêmea ovada, taxa de crescimento populacional
717 e tempo de duplicação, e iniciado a cultura novamente. Para verificar o comportamento
718 das diferentes dietas ao longo do tempo, foi realizados dois ciclos de cultivo em cada
719 experimento.

720 **2.5. Avaliação do desempenho zootécnico**

721 Nos três experimentos, para avaliar o crescimento populacional de *B. plicatilis*
722 foram feitas contagens diárias dos indivíduos de cada unidade experimental, em câmara
723 de Sedgewick-Rafter através de uma sub-amostra, de cada unidade experimental, fixada
724 em lugol. Foi avaliado a densidade populacional (rot.mL⁻¹), e o número de fêmeas
725 ovadas para se determinar a percentagem de fêmea ovada (F) calculada de acordo
726 como $F = \text{rotíferos com ovos} / \text{rotíferos totais}$ (Kostopoulou & Vadstein, 2007; Zhang *et*
727 *al.*, 2005):

728 A taxa de crescimento populacional (TC) foi determinada pela seguinte
729 fórmula: $TC = (\ln N_1 - \ln N_0)/t$, onde N_0 = densidade inicial de rotíferos (indivíduos.
730 mL⁻¹), N_1 = densidade de rotíferos após o período de cultivo e t = período de cultivo
731 (dias) (Rioboo *et al.*, 2007, Suantika *et al.*, 2002).O tempo de duplicação (TD) foi
732 calculado de acordo com a equação: $TD = \ln 2/TC$.

733 **2.6. Parâmetros de qualidade de água**

734 Para todos os experimentos, a temperatura foi aferida diariamente pela manhã,
735 juntamente com o oxigênio dissolvido, com um oxímetro (550A, YSI, E.U.A). A
736 salinidade aferida com refratômetro (ATAGO S/Milli-E, Japão) e o pH com pHmetro de
737 bancada (METTLER TOLEDO Five Easy FE20, Suíça). A alcalinidade foi analisada
738 por titrimetria segundo o método APHA (1998). As análises dos nitrogenados, amônia e
739 nitrito foram realizadas diariamente segundo os métodos de Koroleff (1972), e Aminot
740 & Chaussepied (1983).

741

742 **2.7. Espécies reativas de oxigênio (ROS)**

743 A quantificação de ROS *in vivo* do terceiro experimento, seguiu o protocolo
744 adaptado de XIE *et al.* (2006), o qual utiliza o 2',7' diacetato de diclorofluoresceína
745 (DCFH-DA), um composto com grande capacidade de permeabilidade através das
746 membranas celulares do organismo e que quando oxidado pela ação de ROS emite
747 fluorescência. Foi utilizado um espectrofluorímetro (Biotek, Synergy HT) para
748 realização das leituras de fluorimetria (excitação 485 nm e emissão 520 nm) a cada 3
749 minutos durante 60 minutos.

750 A temperatura foi fixada em 25°C (mesma temperatura mantida no cultivo dos
751 rotíferos). A estimativa da produção de ROS foi feita pelo cálculo da área da curva após
752 ajuste de polinômio de segundo grau aos dados de fluorimetria líquida ao longo do
753 tempo.

754

755 **2.3 2.8. Capacidade antioxidante total contra radicais peroxil**

756 Amostras de rotíferos do terceiro experimento, foram previamente diluídas com
757 tampão homogeneização para 2,0 mg de proteína mL⁻¹, e a capacidade antioxidante
758 contra radicais peroxil (ACAP) foi determinado de acordo com o método descrito por
759 Amado *et al.* (2009). Fluorimetria (excitação 485 nm; emissão de 520 nm) foi medida
760 por espectrofluorímetro (Biotek, Synergy HT) com leituras a cada 5 minutos, por 30
761 minutos. Os valores de ACAP (expressos como área relativa) foram calculados usando a
762 expressão proposta por Monserrat *et al.* (2014) em que uma área relativa maior significa
763 uma menor capacidade antioxidante e vice-versa.

764 **2.9. Peroxidação lipídica**

765 No terceiro experimento, os níveis de peroxidação lipídica nos rotíferos foram
766 medidos de acordo Oakes & Kraak (2003). Este método quantifica níveis de
767 malondialdeído (MDA), um subproduto da peroxidação lipídica, medindo a substâncias
768 reativa ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Medições fluorométricas (excitação 520 nm,
769 emissão 580 nm) foram realizadas em espectrofluorímetro (Biotek, Synergy HT) e os
770 resultados foram expressos como nmol TMP mg tecido úmido⁻¹, onde TMP corresponde
771 ao tetrametoxipropano (ACROS Organics), empregado como padrão.

772 **2.10. Composição proximal das dietas**

773 Para a determinação da composição dos alimentos utilizados nos diferentes
774 experimentos, foi feita a análise da composição proximal segundo método AOAC
775 (1999), no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos, (LANOA/FURG). A
776 análise da matéria seca (MS) foi realizada em estufa a 60°C por 5 h; para cinzas (MM)
777 as amostras foram levadas à mufla a 600°C por 6 h. A análise de proteína bruta (PB) foi
778 realizada de acordo a metodologia de Kjeldahl, onde ocorre à digestão previa das
779 amostras e posteriormente a destilação e titulação do nitrogênio, multiplicando-se o
780 resultado por 6,25. O valor do lipídio foi obtido com o uso do método de extração a
781 quente, pelo extrator de Soxhlet, utilizando-se éter de petróleo como solvente, por 6 h.

782 **2.11. Extração de compostos fenólicos**

783 Compostos fenólicos de farelo de arroz e farelo de arroz fermentado foram
784 extraídos com metanol 1:10 (p / v) na Escola de Química e Alimentação (EQA) da
785 Universidade Federal do Rio Grande - FURG, seguindo o método descrito por Souza *et*
786 *al* (2009). Os compostos fenólicos foram quantificados pelo método
787 espectrofotométrico usando uma curva padrão de ácido gálico (Sigma-Aldrich) (2 a 30
788 µg mL⁻¹).

789 **2.11. Análise estatística**

790 Nos três experimentos os dados obtidos tiveram os pressupostos de normalidade
791 (Shapiro-Wilk) e homogeneidade (Levene) avaliados. Se pelo menos um destes
792 requisitos não foi atendido, aplicou-se transformações matemáticas. Uma vez atendido
793 estes pressupostos, os dados foram submetidos à ANOVA de uma via e, quando houve
794 diferenças estatísticas detectadas entre os tratamentos, as médias foram comparadas
795 pelo Teste de Newman-Keuls. Para comparação do primeiro e segundo ciclo foi
796 realizada uma ANOVA de medidas repetidas. Todas as análises foram realizadas com
797 um nível mínimo de significância de 5% (p<0,05).

798 **3. Resultados**

799 **3.1. Composição proximal das dietas**

800 Não houve diferença significativa para a proteína bruta, o lipídeo e a umidade,
801 entre o farelo de arroz integral e o fermentado, mas houve diferença significativas entre
802 os mesmos em relação às cinzas. A levedura apresentou diferenças estatísticas em
803 relação a proteína bruta, lipídeo, cinza e umidade com todas as outras dietas. A levedura

804 com farelo integral e levedura com farelo fermentado não apresentaram diferenças
 805 estatísticas entre eles em relação a proteína e lipídeo, mas tiveram diferenças em relação
 806 a umidade e cinza.

807 Tabela 1- Análise proximal dos alimentos utilizados nos experimentos (% peso seco)
 808 para alimentação do rotífero *Brachionus plicatilis*.

| Dietas | Proteína | lipídeos | cinzas | umidade |
|---|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Levedura | 49,03 ± 1,66 ^a | 1,16 ± 0,33 ^c | 5,10 ± 0,26 ^e | 1,41 ± 0,07 ^b |
| Farelo de arroz integral | 19,80 ± 0,82 ^c | 20,43 ± 2,32 ^a | 12,16 ± 0,38 ^b | 8,15 ± 0,15 ^a |
| Farelo de arroz fermentado | 19,07 ± 0,55 ^c | 19,18 ± 0,82 ^a | 13,03 ± 0,10 ^a | 12,85 ± 5,30 ^a |
| Levedura com farelo de arroz integral | 29,17 ± 0,06 ^b | 14,20 ± 1,56 ^b | 9,80 ± 0,26 ^d | 5,90 ± 0,10 ^{ab} |
| Levedura com farelo de arroz fermentado | 28,63 ± 0,75 ^b | 13,37 ± 0,61 ^b | 10,45 ± 0,15 ^c | 9,18 ± 3,6 ^a |

809 Os valores são expressos em medias ± DP com n=3. Letras diferentes nas colunas
 810 demonstram diferenças estatísticas de acordo com o teste Newman Keuls (p < 0,05).

811 Quanto a quantidade total de compostos fenólicos, o farelo de arroz fermentado
 812 apresentou maior quantidade de compostos fenólicos totais do que o farelo de arroz
 813 integral (Tabela 2).

814 Tabela 2- Quantidade de compostos fenólicos totais em µg/g encontrado nos farelos
 815 utilizadas na alimentação dos rotíferos.

| Dietas | Quantidade fenóis (µg/g) |
|----------------------------|--------------------------|
| Farelo de arroz fermentado | 1616,4 ^a ± 2 |
| Farelo de arroz integral | 1571,9 ^b ± 10 |

816 Os valores são expressos em medias ± DP com n=3. Letras diferentes nas colunas
 817 demonstram diferenças estatísticas de acordo com o teste Newman Keuls (p < 0,05)

818 3.2. Qualidade de água

819 Não houve diferenças significativas nos parâmetros de qualidade de água entre
 820 os tratamentos, com exceção da amônia que apresentou significativamente maiores

821 valores para os tratamentos com levedura, em relação aos demais tratamentos. Este
 822 resultado foi observado tanto para o primeiro ciclo quanto para o segundo ciclo, dos três
 823 experimentos. Todos os parâmetros foram mantidos dentro dos limites seguros para a
 824 espécie. A concentração de oxigênio dissolvido foi de 5,5 à 6,4 ± 0,32 mg/L para o
 825 experimento 1, de 5,0 à 6,3 ± 0,38 mg/L para o experimento 2 e de 5,0 à 6,4 ± 0,38 mg/L
 826 para o experimento 3. A temperatura foi de 25,5 à 25,8 ± 0,08°C para o experimento 1,
 827 de 25,3 à 25,5±0,07°C para o experimento 2 e de 25,1 à 25,4±0,07°C para o
 828 experimento 3. A salinidade de 25,7 à 26,2 ± 0,16 para o experimento 1, de 25,7 à 26±
 829 0,12 para o experimento 2 e de 25 à 25,8 ± 0,34 para o experimento 3. o pH de 7,07 à
 830 7,4 ± 0,10 para o experimento 1, de 7,7 à 7,8 ± 0,03 para o experimento 2 e de 7,6 à 7,74
 831 ± 0,01 para o experimento 3. A alcalinidade de 84 à 112 ± 9 mg/LCaCO3 para o
 832 experimento 1, de 125 à 145 ± 7,0 mg/LCaCO3 para o experimento 2 e de 119 à 144 ± 8
 833 mg/LCaCO3 para o experimento 3.

834 Tabela 3 – Valores médios dos compostos nitrogenados para os diferentes ciclos de
 835 produção para os 3 experimentos.

| Tratamentos | NH ₄ ⁺ + NH ₃ (mg/L) | | NH ₃ (mg/L) | | NO ₂ (mg/L) | |
|---------------------------|---|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|----------|
| | Ciclo 1 | Ciclo 2 | Ciclo 1 | Ciclo 2 | Ciclo 1 | Ciclo 2 |
| 1a (0,7 g Lev.) | 23,8 ± 6,3 ^a | 18 ± 3,5 ^a | 0,29 ± 0,06 ^a | 0,12 ± 0,04 ^a | 0,01 ± 0 | 0,01 ± 0 |
| 1b (0,5 g FI) | 0,2 ± 0,1 ^b | 0,22 ± 0,06 ^b | 0 ± 0 ^b | 0 ± 0 ^b | 0 ± 0 | 0 ± 0 |
| 1c (1 g FI) | 0,1 ± 0 ^c | 0,16 ± 0,01 ^c | 0 ± 0 ^b | 0 ± 0 ^b | 0 ± 0 | 0 ± 0 |
| 1d (1,5 g FI) | 0,1 ± 0,1 ^c | 0,13 ± 0,03 ^c | 0 ± 0 ^b | 0 ± 0 ^b | 0 ± 0 | 0 ± 0 |
| 2a (0,7 g Lev) | 19,17 ± 2,25 ^a | 19,33 ± 0,58 ^a | 0,55 ± 0,04 ^a | 0,48 ± 0,01 ^a | 0,12 ± 0,12 ^a | 0 ± 0 |
| 2b (0,5 g FF) | 0 ± 0 ^b | 0,07 ± 0,07 ^b | 0 ± 0 ^b | 0 ± 0 ^b | 0,01 ± 0,01 ^b | 0 ± 0 |
| 2c (1 g FF) | 0 ± 0 ^b | 0,04 ± 0,08 ^b | 0 ± 0 ^b | 0 ± 0 ^b | 0 ± 0 ^b | 0 ± 0 |
| 2d (1,5 g FF) | 0 ± 0 ^b | 0,05 ± 0,09 ^b | 0 ± 0 ^b | 0 ± 0 ^b | 0 ± 0 ^b | 0 ± 0 |
| 3a (0,7 g Lev) | 9,5 ± 1 ^a | 8,83 ± 1,04 ^a | 0,26 ± 0,02 ^a | 0,22 ± 0,03 ^a | 0 ± 0 | 0 ± 0 |
| 3b (1,5 g FI) | 0,13 ± 0,03 ^c | 0,02 ± 0,04 ^c | 0 ± 0 ^b | 0 ± 0 ^b | 0 ± 0 | 0 ± 0 |
| 3c (1,5 g FF) | 0 ± 0 ^d | 0 ± 0 ^c | 0 ± 0 ^b | 0 ± 0 ^b | 0 ± 0 | 0 ± 0 |
| 3d (0,35g Lev+ 0,75 g FI) | 0,69 ± 0,18 ^b | 0,50 ± 0,44 ^b | 0,02 ± 0 ^b | 0,01 ± 0,01 ^b | 0 ± 0 | 0 ± 0 |

| | | | | | | |
|---------------------------------|-----------------------------|--------------------------|-----------------------|-----------------------------|-------|-------|
| 3e (0,35g Lev+ 0,75g FF) | 0,75 ± 0,07 ^b | 1,17 ± 0,65 ^b | 0,02 ± 0 ^b | 0,03 ± 0,02 ^b | 0 ± 0 | 0 ± 0 |
|---------------------------------|-----------------------------|--------------------------|-----------------------|-----------------------------|-------|-------|

836 Os valores são expressos em médias ± DP com n=3. Letras diferentes nas colunas
837 demonstram diferenças estatísticas de acordo com o teste Newman Keuls (p < 0,05)
838 apenas entre cada experimento. Legenda:(1a, 1b, 1c e 1d são os diferentes tratamentos
839 do experimento 1); (2a, 2b, 2c e 2d são os diferentes tratamentos do experimento 2);
840 (3a, 3b, 3c, 3d e 3e são os diferentes tratamentos do experimento 3).

841 3.3. Parâmetros de crescimento

842 Densidade populacional (rot. ml⁻¹)

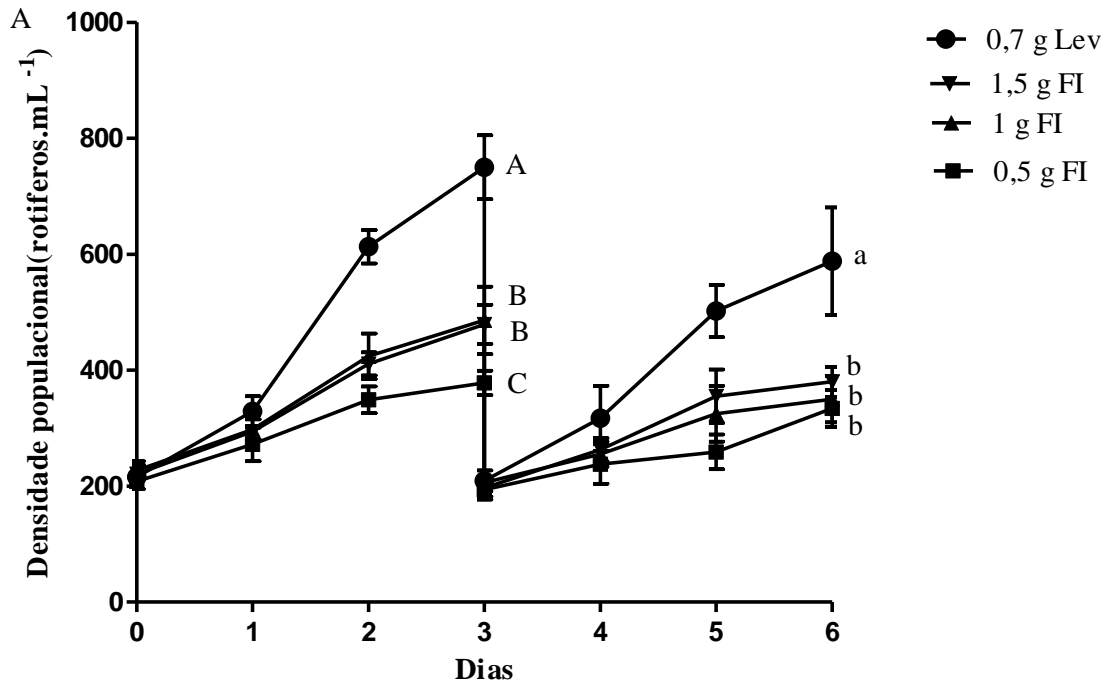
843 No primeiro experimento, a densidade de rotíferos foi significativamente
844 superior para o tratamento de 0,7g levedura em relação aos outros tratamentos, tanto no
845 primeiro como no segundo ciclo. No primeiro ciclo, os tratamentos com 1g e 1,5 g de
846 farelo de arroz integral não se diferenciaram entre si, com densidades de 486 ± 58 e 479
847 ± 34 rot. ml⁻¹, mas diferenciaram do tratamento com 0,5 g de farelo integral, que obteve
848 uma densidade final menor de 378 ± 21 rot. ml⁻¹. Já no segundo ciclo os três tratamentos
849 com farelo de arroz integral, 0,5g, 1g e 1,5 g não se diferenciaram estatisticamente entre
850 si, obtendo diferença estatísticas só com o tratamento 0,7g levedura com densidade
851 maior de 588 ± 93 rot. ml⁻¹ (Figura 1A).

852 Para o experimento 2, os tratamentos 0,7 g levedura, 1g e 1,5 g de farelo
853 fermentado, obtiveram densidades maiores, de 683 ± 76, 642 ± 28 e 738 ± 119 rot. ml⁻¹
854 respectivamente, e não apresentaram diferenças estatísticas entre os mesmos. Apenas o
855 tratamento 0,5 g farelo fermentado diferenciou estatisticamente dos demais tratamentos,
856 com uma densidade de rotíferos inferior de 496 ± 28 rot. ml⁻¹. No segundo ciclo a
857 densidade de rotíferos do tratamento 0,7g de levedura e 1,5 g de farelo de arroz
858 fermentado não diferiram estatisticamente entre si, com valores de 657 ± 81 e 666 ±
859 109 rot. ml⁻¹. No entanto, os tratamentos alimentados com 1 g de farelo fermentado não
860 diferiu estatisticamente do tratamento 0,5 g farelo fermentado (Figura 1B).

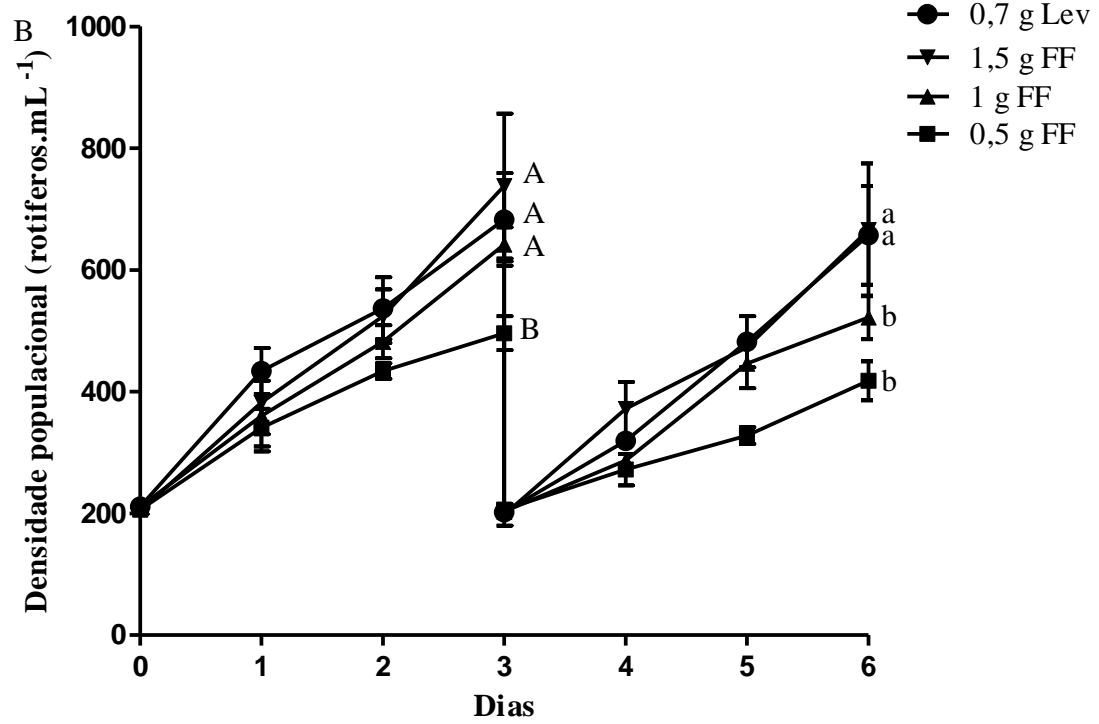
861 No experimento 3, maior valor de densidade de 866 ± 22 rot. ml⁻¹, foi
862 encontrado no tratamento 0,35 g levedura com 0,75 g de farelo fermentado no primeiro
863 ciclo, e ele diferenciou estatisticamente dos demais tratamentos. Os tratamentos 0,7 g
864 levedura, 1,5g farelo fermentado e 0,35 g levedura com 0,75 g farelo integral, não
865 apresentaram diferenças estatísticas entre os mesmos, com valores de 662 ± 154, 608 ±
866 75 e 685 ± 150 rot. ml⁻¹ respectivamente. O tratamento 1,5 g farelo integral, apresentou a

867 menor densidade de 563 ± 63 rot. ml^{-1} , e diferenciou estatisticamente dos demais
868 tratamentos. Em relação ao segundo ciclo, os tratamentos 0,35 g levedura com 0,75 g
869 farelo integral e 0,35 g levedura com 0,75 g farelo fermentado, foram os com maiores
870 densidades de rotíferos, e com diferenças estatísticas com os demais tratamentos (Figura
871 1C).

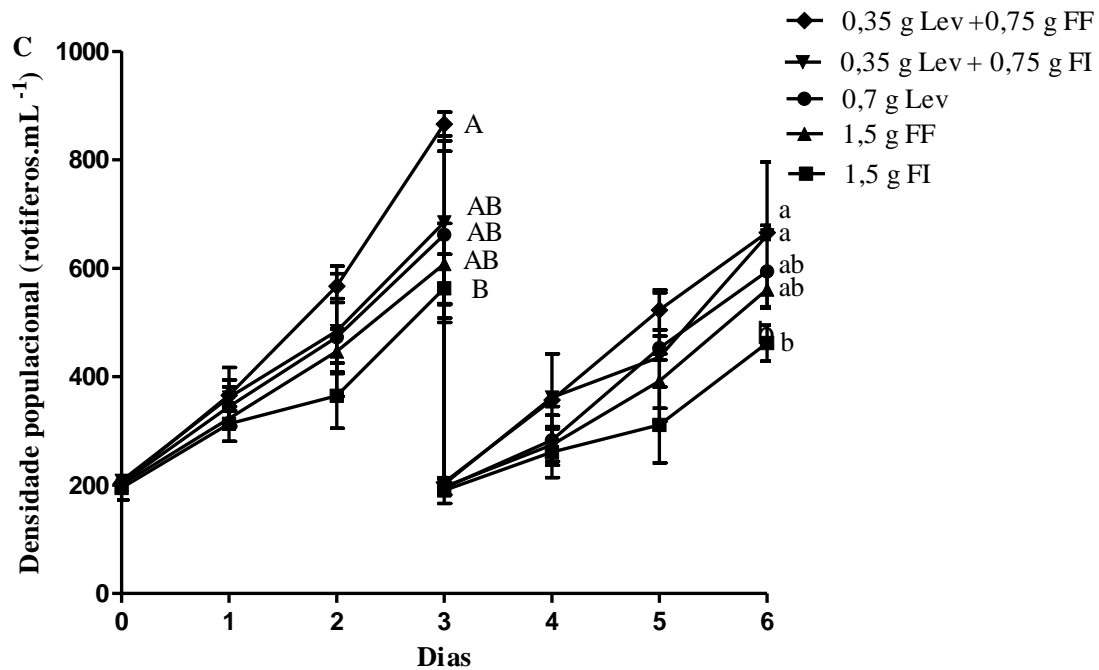
872



873



874



875

876 Figura 1. O efeito das diferentes dietas sobre o crescimento populacional dos rotíferos
 877 (rotíferos mL^{-1}) durante 6 dias, nos experimentos 1, 2 e 3 respetivamente (A, B e C). As
 878 letras demonstram grupos significativamente diferentes para cada ciclo (Newman Keuls;
 879 $p < 0,05$). Pontos representem médias \pm DP com $n=3$. Legenda; Fig. 1A: (●) controle
 880 0,7g levedura, (■) 0,5 g farelo integral, (▲) 1 g farelo integral, (▼) 1,5 g farelo integral
 881 que alimentou um milhão de $\text{rot}^{-1} \text{ dia}^{-1}$. Fig. 1B: (●) controle 0,7g levedura, (■) 0,5 g
 882 farelo fermentado, (▲) 1 g farelo fermentado, (▼) 1,5 g farelo fermentado que alimentou
 883 um milhão de $\text{rot}^{-1} \text{ dia}^{-1}$. Fig. 1C: (●) controle 0,7g levedura, (■) 1,5 g farelo integral, (▲
 884) 1,5 g farelo fermentado, (▼) 0,35 g levedura com 0,75 g farelo integral, (◆) 0,35 g
 885 levedura com 0,75 g farelo fermentado que alimentou um milhão de $\text{rot}^{-1} \text{ dia}^{-1}$.

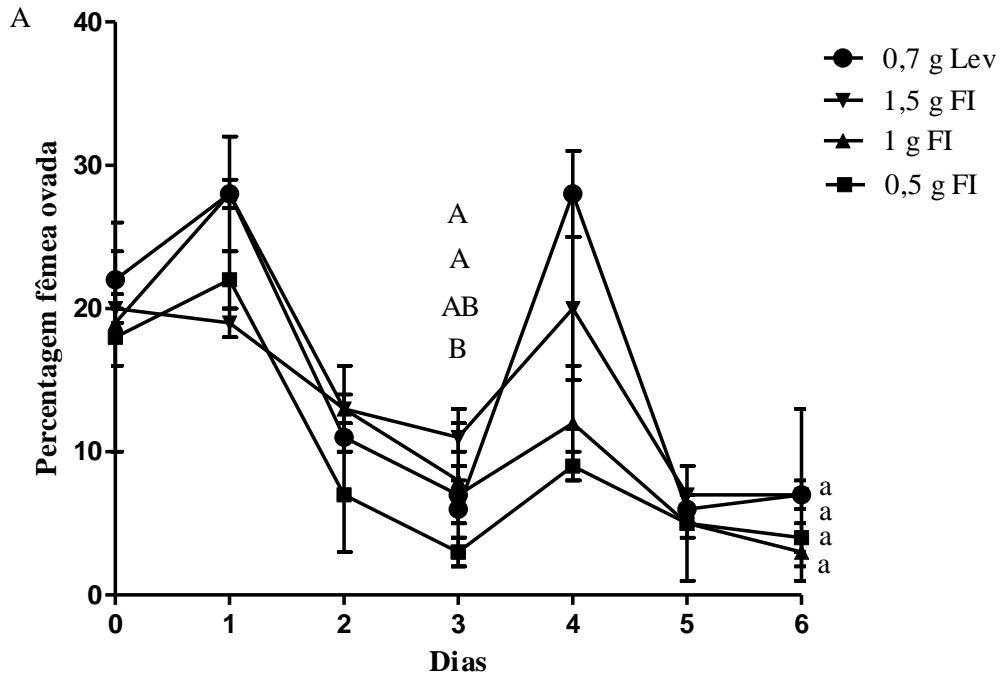
886 Percentagem de fêmea ovada (%)

887 Em relação a percentagem de fêmeas ovadas, do experimento 1, apenas o
 888 tratamento com 0,5 g de farelo de arroz integral, diferenciou estatisticamente dos
 889 demais tratamentos. Os rotíferos dos tratamentos 0,7 g levedura, 1g e 1,5 g de farelo de
 890 arroz integral, tiveram maiores percentagens no primeiro ciclo . Já no segundo ciclo não
 891 se obteve diferenças estatísticas entre os mesmos (Figura 2A).

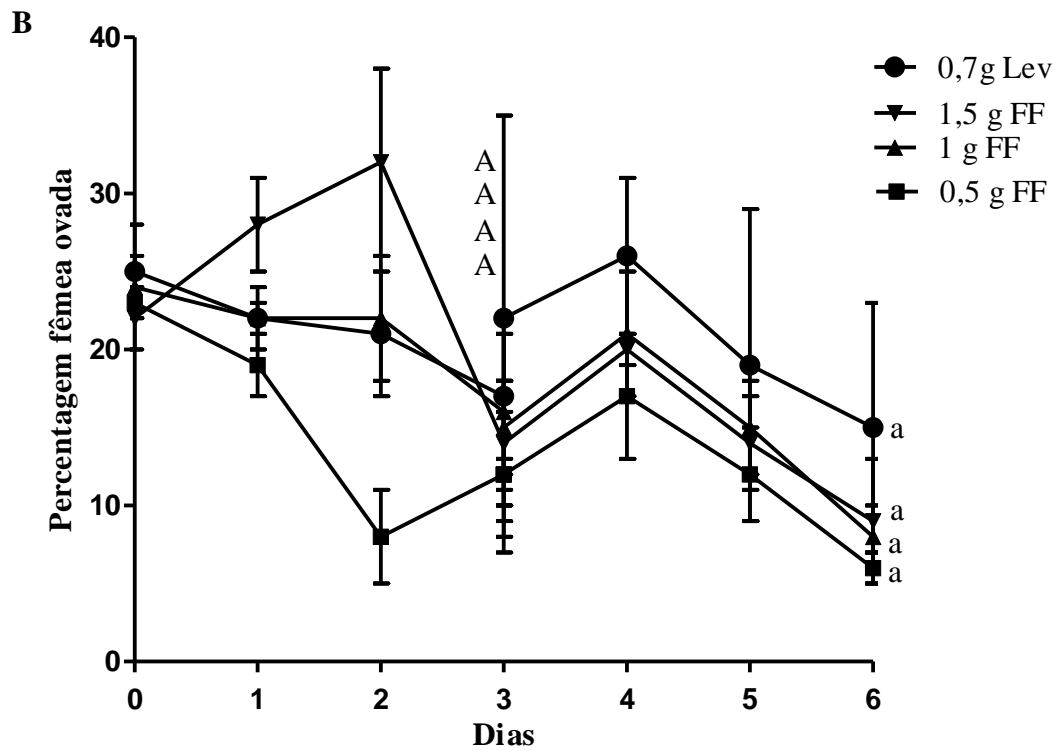
892

893 Não foram encontradas diferenças estatísticas em relação a percentagem de
 894 fêmea ovada entre os tratamentos nem no primeiro nem no segundo ciclo, nos
 895 experimentos 2 e 3 (Figura 2B e C).

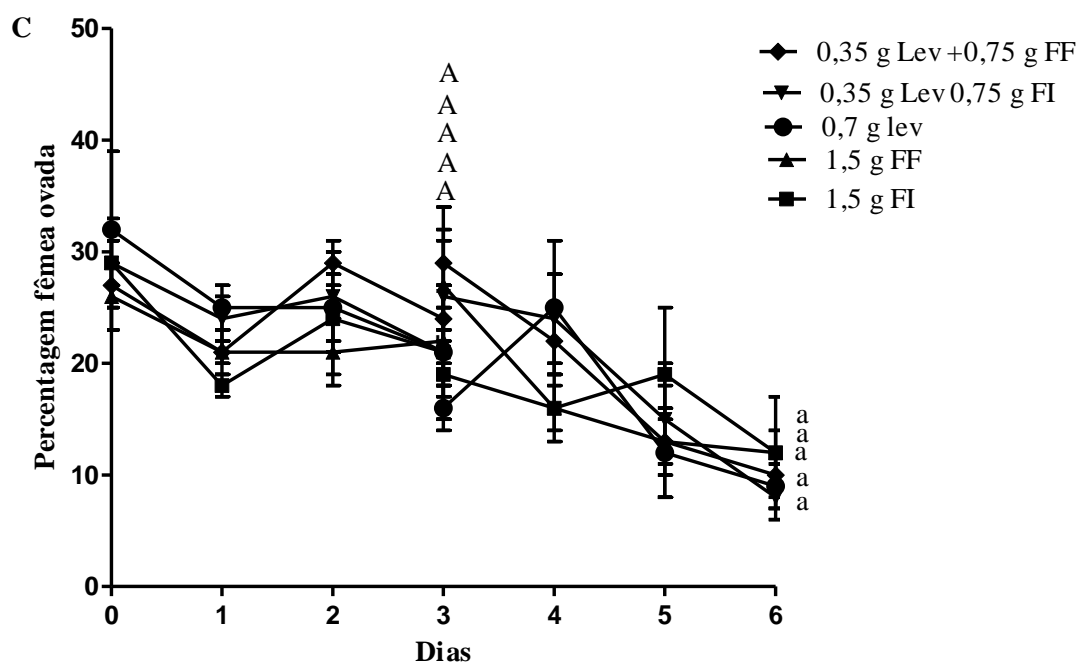
896



897



898



899

900 Figura 2. O efeito das diferentes dietas sobre a porcentagem de fêmeas ovadas (rotíferos
 901 com ovo / rotíferos totais) durante 6 dias, nos experimentos 1, 2 e 3 respectivamente (A,
 902 B e C). As letras demonstram grupos significativamente diferentes para cada ciclo
 903 (Newman Keuls; $p < 0,05$). Pontos representem medias \pm DP com $n=3$. Legenda; Fig.
 904 2A: (●) controle 0,7g levedura, (■) 0,5 g farelo integral, (▲) 1 g farelo integral, (▼) 1,5 g
 905 farelo integral que alimentou um milhão de $\text{rot}^{-1} \text{ dia}^{-1}$. Fig. 2B: (●) controle 0,7g
 906 levedura, (■) 0,5 g farelo fermentado, (▲) 1 g farelo fermentado, (▼) 1,5 g farelo
 907 fermentado que alimentou um milhão de $\text{rot}^{-1} \text{ dia}^{-1}$. Fig. 2C: (●) controle 0,7g levedura,
 908 (■) 1,5 g farelo integral, (▲) 1,5 g farelo fermentado, (▼) 0,35 g levedura com 0,75 g
 909 farelo integral, (◆) 0,35 g levedura com 0,75 g farelo fermentado que alimentou um
 910 milhão de $\text{rot}^{-1} \text{ dia}^{-1}$.

911 Taxa crescimento populacional (TC)

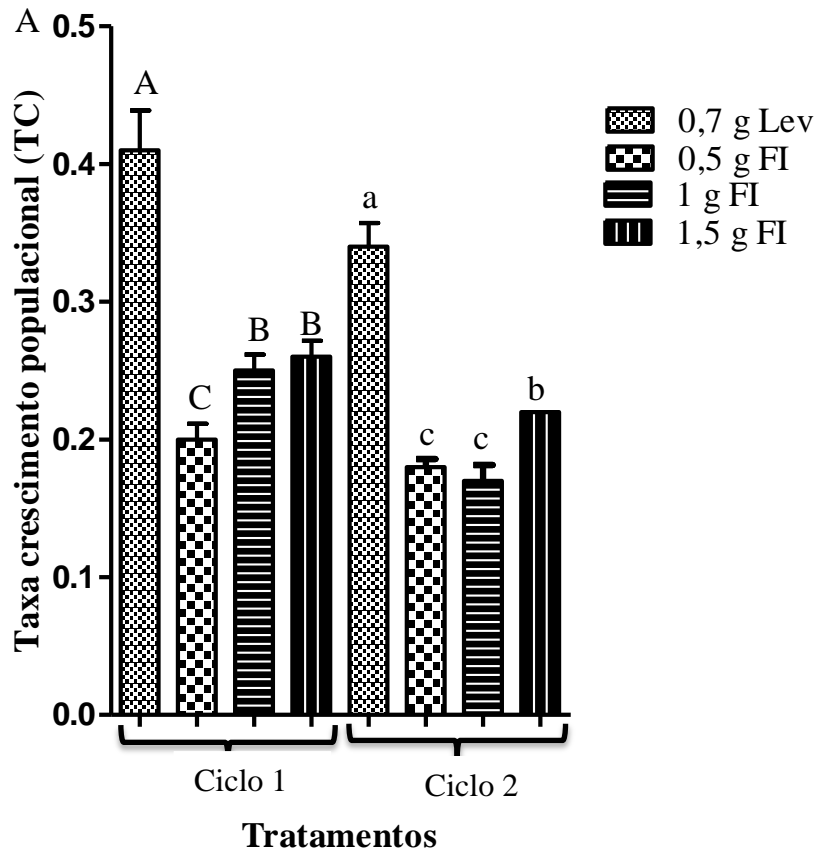
912 Obteve-se diferenças significativas em relação a taxa de crescimento
 913 populacional, entre os tratamentos, tanto no primeiro como no segundo ciclo, do
 914 experimento 1. O tratamento 0,7 g de levedura, apresentou significativamente a maior
 915 taxa de crescimento comparativamente aos demais tratamentos, que foi de $0,41 \pm 0,05$
 916 rot dia^{-1} . No primeiro ciclo, o tratamento 1g e 1,5 g farelo integral, não apresentaram

917 diferenças entre si, com valores de $0,25 \pm 0,02$ e $0,26 \pm 0,02$ rot dia⁻¹, diferenciando-se do
918 tratamento 0,5 g farelo integral com $0,2 \pm 0,02$ de taxa de crescimento. Já no segundo
919 ciclo, o tratamento 1g e 0,5 g de farelo integral foram iguais entre si de $0,17 \pm 0,02$ e
920 $0,18 \pm 0,01$ rot dia⁻¹, diferenciando estatisticamente do tratamento 1,5 g farelo integral
921 de $0,22 \pm 0,01$ rot dia⁻¹ (Figura 3A).

922 Em relação ao experimento 2, no primeiro ciclo, o tratamento 0,7 g de levedura,
923 1g e 1,5 g farelo fermentado, apresentaram maiores taxas de crescimento populacional,
924 de $0,39 \pm 0,04$, $0,37 \pm 0,01$ e $0,42 \pm 0,05$ rot dia⁻¹, sem diferenças estatísticas entre si. O
925 tratamento 0,5 g farelo fermentado diferenciou estatisticamente dos outros tratamentos,
926 apresentando menor taxa de crescimento populacional de $0,29 \pm 0,02$ rot dia⁻¹. Já no
927 segundo ciclo o tratamento alimentado com 1g farelo fermentado apresentou valores
928 estatisticamente menores de taxa de crescimento populacional do tratamento 1,5 g farelo
929 fermentado. Os tratamentos 0,7 g levedura e 1,5 g farelo fermentado, foram os com
930 maiores taxas de crescimento populacional de $0,39 \pm 0,04$ e $0,4 \pm 0,02$ rot dia⁻¹, não
931 diferindo estatisticamente entre si (Figura 3B).

932 No primeiro ciclo do experimento 3, não se obteve diferenças estatísticas entre
933 os tratamentos, em relação a taxa de crescimento populacional. Já no segundo ciclo os
934 tratamentos 0,7 g levedura, 0,35 g levedura com 0,75 g farelo integral e o tratamento
935 0,35 g levedura com 0,75 g farelo fermentado, obtiveram os maiores valores de taxa de
936 crescimento populacional, de $0,37 \pm 0,01$, $0,39 \pm 0,06$ e $0,39 \pm 0,01$ rot dia⁻¹, e não
937 diferiram entre si. Já o tratamento alimentado com 1,5 g de farelo integral apresentou
938 estatisticamente a menor taxa de crescimento populacional de $0,30 \pm 0,03$ rot dia⁻¹
939 (Figura 3C).

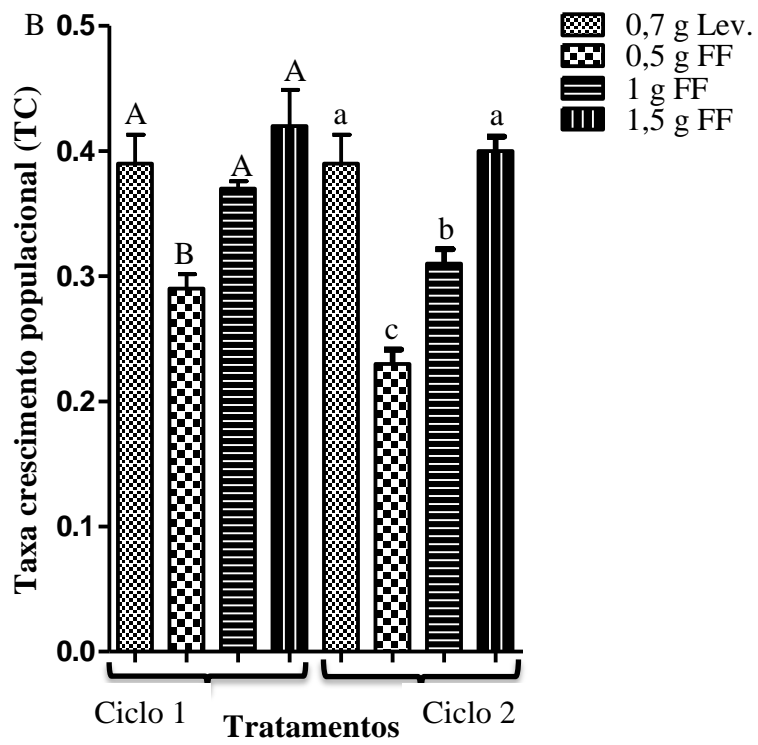
940



941
942

943

944



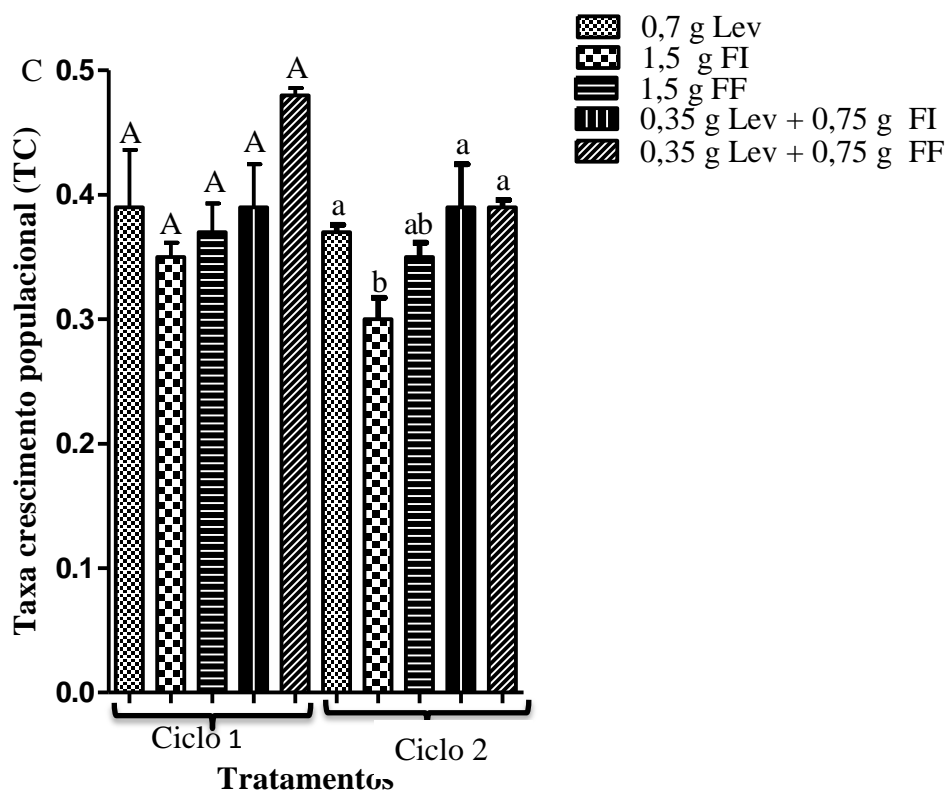
945

946

947

948

949



950

951 Figura 3. O efeito das diferentes dietas sobre a taxa de crescimento populacional dos
 952 rotíferos, no ciclo 1 e no ciclo 2, durante 6 dias, nos experimentos 1, 2 e 3
 953 respectivamente (A, B e C). As letras demonstram grupos significativamente diferentes
 954 para cada ciclo (Newman Keuls; $p < 0,05$). Pontos representam medias \pm DP com $n=3$.
 955 Legenda; Fig.3 A: (▨) controle 0,7g levedura, (▩) 0,5 g farelo integral, (▧) 1 g
 956 farelo integral, (▦) 1,5 g farelo integral que alimentou um milhão de $\text{rot}^{-1} \text{ dia}^{-1}$. Fig.
 957 3B: (▨) controle 0,7g levedura, (▩) 0,5 g farelo fermentado, (▧) 1 g farelo
 958 fermentado, (▦) 1,5 g farelo fermentado que alimentou um milhão de $\text{rot}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ Fig.
 959 3C: (▨) controle 0,7g levedura, (▩) 1,5 g farelo integral, (▧) 1,5 g farelo
 960 fermentado, (▦) 0,35g levedura com 0,75 g farelo integral, (▥) 0,35 g levedura com
 961 0,75 g farelo fermentado que alimentou um milhão de $\text{rot}^{-1} \text{ dia}^{-1}$.

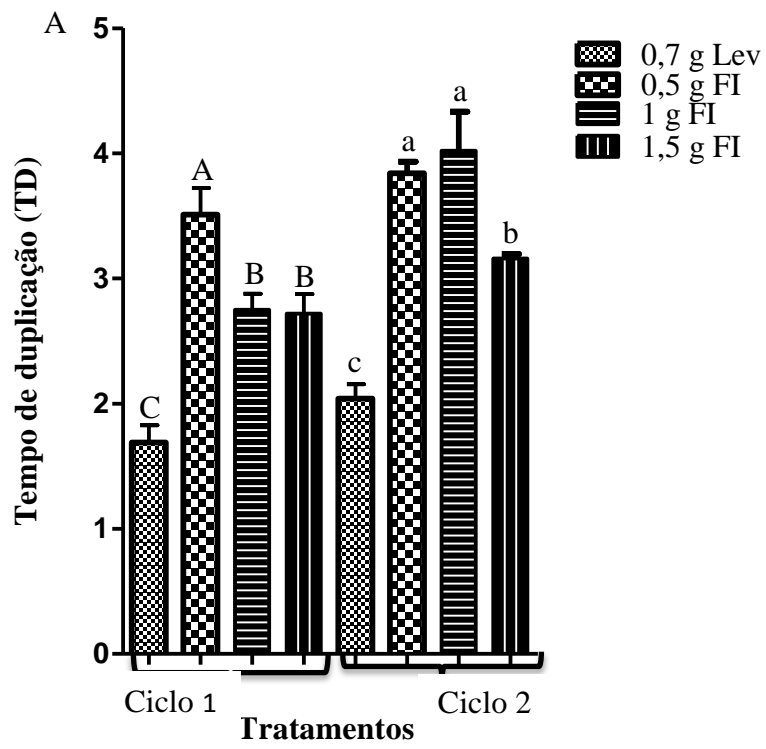
962 Tempo de duplicação (TD)

963 No primeiro ciclo do experimento 1, o tratamento 0,5 g farelo integral
 964 apresentou estatisticamente o maior tempo de duplicação comparativamente aos demais
 965 tratamentos, que foi de $3,51 \pm 0,4$ h. Os tratamentos 1g e 1,5 g farelo integral
 966 apresentaram tempo de duplicação semelhantes, de $2,75 \pm 0,22$ e $2,72 \pm 0,27$ h e sem

967 diferenças estatísticas entre os mesmos. Já o tratamento 0,7 g levedura obteve-se o
968 menor valor, tanto no primeiro como no segundo ciclo. No segundo ciclo, o tempo de
969 duplicação dos tratamentos 0,5 g e 1 g farelo integral foram semelhantes, de $3,8 \pm 0,16$ e
970 $4,02 \pm 0,54$ h (Figura 4A).

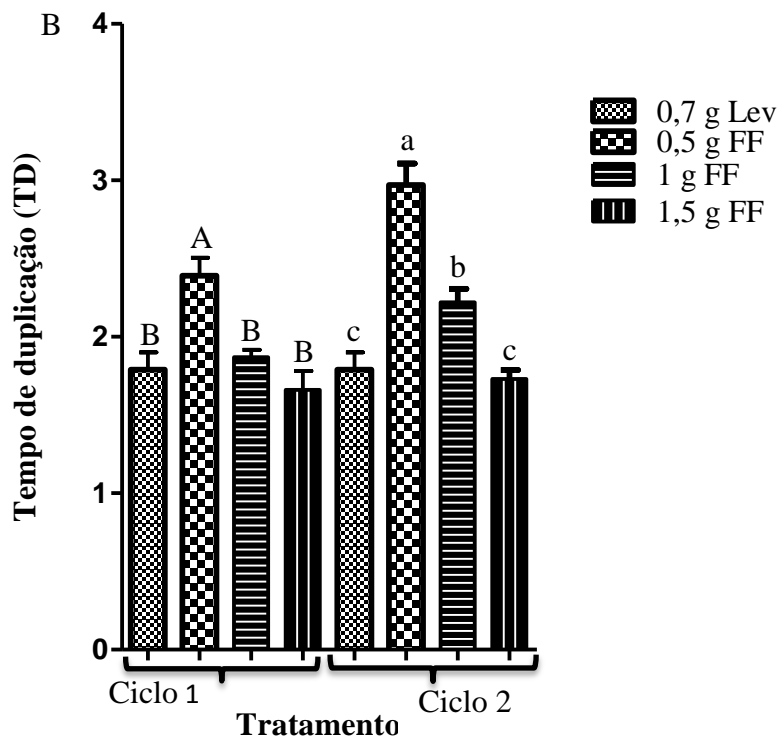
971 No experimento 2, o tratamento 0,5 g farelo fermentado, obteve o maior valor de
972 tempo de duplicação, tanto no primeiro como no segundo ciclo, diferindo
973 estatisticamente com os demais tratamentos. Não foram observadas diferenças
974 estatísticas entre os tratamentos, 0,7 g levedura, 1g e 1,5 g farelo fermentado, no
975 primeiro ciclo, com valores de $1,79 \pm 0,19$, $1,87 \pm 0,08$ e $1,66 \pm 0,21$ h respectivamente.
976 Para o segundo ciclo, o tempo de duplicação dos tratamentos 1 g e 1,5 g farelo
977 fermentado, diferenciaram estatisticamente entre si, sendo que o tratamento alimentado
978 com 1,5 g não diferiu do tratamento alimentado com 0,7 g levedura (Figura 4B).

979 No primeiro ciclo do experimento 3, não se obteve diferenças estatísticas, entre
980 os tratamentos em relação ao tempo de duplicação. Já no segundo ciclo, o tempo de
981 duplicação do tratamento alimentado com 1,5 g farelo integral foi maior
982 estatisticamente de $2,35 \pm 0,26$ h, comparativamente aos demais tratamentos (Figura
983 4C).

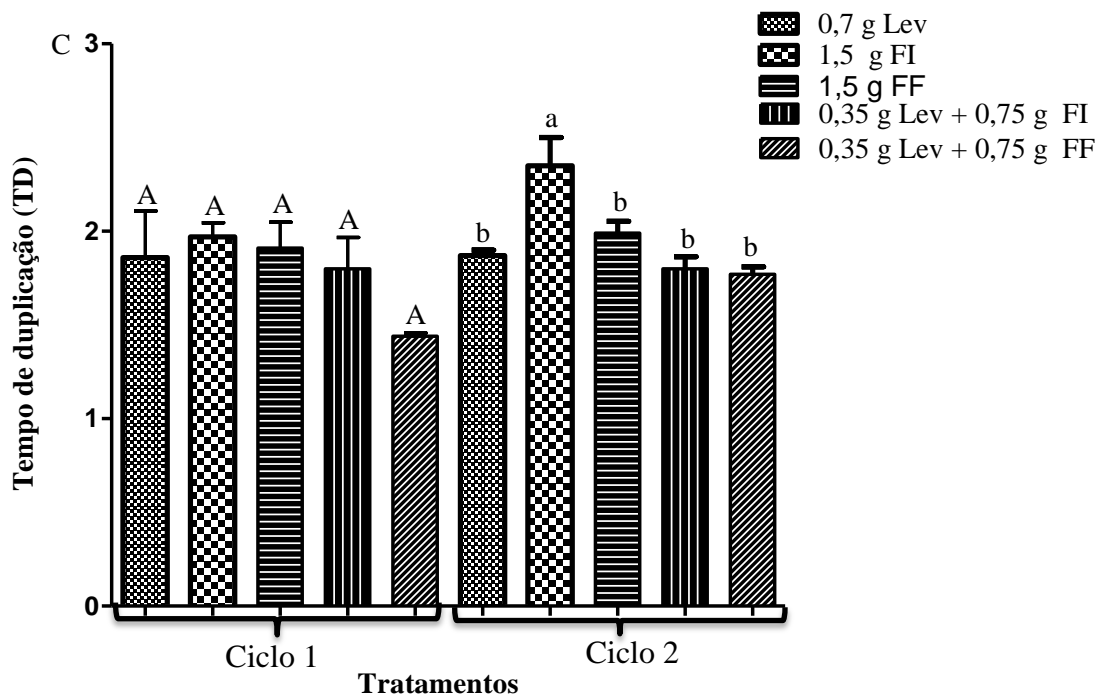


984

985



986



987

988 Figura 4. O efeito das diferentes dietas sobre o tempo de duplicação dos rotíferos, no

989 ciclo 1e no ciclo 2, durante 6 dias, nos experimentos 1, 2 e 3 respectivamente (A, B e C).

990 As letras demonstram grupos significativamente diferentes para cada ciclo (Newman
 991 Keuls; $p < 0,05$). Pontos representem medias \pm DP com $n=3$. Legenda; Fig. 4A: (▣))
 992 controle 0,7g levedura, (▤) 0,5 g farelo integral, (▥) 1 g farelo integral, (▦) 1,5 g
 993 farelo integral que alimentou um milhão de rot⁻¹ dia⁻¹ Fig. 4B: (▧) controle 0,7g
 994 levedura, (▨) 0,5 g farelo fermentado, (▩) 1 g farelo fermentado, (▪) 1,5 g farelo
 995 fermentado que alimentou um milhão de rot⁻¹ dia⁻¹. Fig. 4C: (▬) controle 0,7g
 996 levedura, (▭) 1,5 g farelo integral, (▮) 1,5 g farelo fermentado, (▯) 0,35g levedura
 997 com 0,75 g farelo integral, (▰) 0,35 g levedura com 0,75 g farelo fermentado que
 998 alimentou um milhão de rot⁻¹ dia⁻¹.

999 3.4. Análises de estresse oxidativo

1000 Não houve diferenças significativas em relação a ROS, ACAP e para o TBARS,
 1001 entre os diferentes tratamentos (Tabela 4).

1002 Tabela 4 – valores de espécies reativas de oxigénio (ROS), capacidade antioxidante
 1003 total (ACAP) e peroxidação lipídica (TBARS) dos rotíferos alimentados com as
 1004 diferentes dietas.

| Tratamentos | ROS | ACAP | TBARS |
|--------------------|-----------------|------------------|-----------------------|
| 0,7g Lev | 7,57 \pm 3,94 | 9,18 \pm 1,65 | 0,00535 \pm 0,00012 |
| 1,5g FI | 5,27 \pm 1,10 | 10,28 \pm 2,42 | 0,00425 \pm 0,00088 |
| 1,5g FF | 4,53 \pm 1,89 | 5,73 \pm 0,64 | 0,00405 \pm 0,00033 |
| 0,35g Lev 0,75g FI | 7,63 \pm 2,25 | 8,25 \pm 1,87 | 0,00551 \pm 0,00084 |
| 0,35g Lev 0,75g FF | 4,93 \pm 3,32 | 10,90 \pm 3,66 | 0,00439 \pm 0,00095 |

1005 Os valores são expressos em medias \pm DP com $n=3$.

1006 4. Discussão

1007 O farelo de arroz fermentado, apresentou aumento no conteúdo de cinzas em
 1008 relação ao farelo de arroz integral provavelmente devido aos teores intrínsecos da
 1009 própria levedura que, apresentou 5,10 % de cinzas. Esse resultado corroborou com
 1010 Feddern *et al.* (2007), que observou um aumento no conteúdo de cinza no farelo de
 1011 arroz após a fermentação com *Saccharomyces cerevisiae*.

1012 O farelo de arroz apresentou conteúdo lipídico elevado, pois não foi
 1013 desengordurado, estando o valor encontrado de acordo com Oliveira *et al.* (2010) e
 1014 Schmidt *et al.* (2015) de 18,9% e Kahlon & Chow (2000) de 21,5% e abaixo do valor
 1015 citado por Da Silva *et al.* (2006), de 26,5%. O conteúdo de proteínas foi maior do que o
 1016 encontrado por diversos pesquisadores, como Kupski *et al.* (2012) que encontrou

1017 14,8%, 14,7% de Oliveira *et al.* (2010) e 16,5% de Schmidt *et al.* (2015). O conteúdo
1018 de umidade está de acordo com Kupski *et al.* (2012) e Oliveira *et al.* (2010). As
1019 diferenças encontradas para a composição proximal do farelo de arroz fermentado
1020 podem ser justificadas pelas diferentes técnicas de moagem empregadas, bem como
1021 depende também do tipo de arroz utilizado (Amissah *et al.* 2003).

1022 A levedura apresentou maior percentagem de proteína, menor percentagem de
1023 lipídio, cinza e humidade em relação ao farelo de arroz integral e fermentado. Os
1024 valores de proteína encontrados, foram semelhantes ao relatado por Hisano *et al.* (2008),
1025 de 49,17% e por Caballero-Córdoba *et al.* (1997) de 48,51%. O conteúdo de cinza foi
1026 semelhante ao 4,6, encontrado por Yamada *et al.* (2003). O lipídio foi maior que o
1027 encontrado por Yamada *et al.* (2003), de 0,5% e menor que o 3,44% encontrado por
1028 Caballero-Córdoba *et al.* (1997).

1029 Altos níveis de amônia não-ionizada são tóxicos para rotíferos, mas, se
1030 cultivados em condições com concentrações de NH₃ inferiores a 1 mg.L⁻¹ são
1031 considerados seguros (Lubzens & Zmora 2003; Hoff & Snell 2004). No presente estudo,
1032 os maiores valores de amônia não ionizada encontrados nos tratamentos com levedura
1033 foram de 0,29mg/L; 0,55mg/L e 0,26mg/L, nos experimentos 1, 2 e 3 respetivamente,
1034 ou seja inferior ao recomendado por esses autores. Apesar disso, os valores de amônia
1035 total foram estatisticamente superior nos tratamentos alimentados somente com
1036 levedura.

1037 Os tratamentos com farelo de arroz integral e farelo de arroz fermentado, a
1038 amônia manteve-se praticamente em zero. Segundo Ferreira (2009), a levedura de
1039 panificação apresenta o problema de rapidamente deteriorar a qualidade de água na
1040 produção de rotíferos, através do acúmulo de matéria orgânica. Khalil *et al.* (2018),
1041 utilizando biocarvão obtido a partir da palha de arroz, para melhorar a qualidade da
1042 água em pisciculturas, obtiveram uma eficiência de remoção de 43% de amônia à
1043 temperatura de 25° C, e pH de 7,5. Haiwei *et al.* (2010) avaliou a adsorção de amônia a
1044 partir de solução usando resíduos agrícolas ou materiais vegetais, e concluiu que, esses
1045 resíduos agrícolas poderiam ser usados como adsorventes para remoção de amônia.
1046 Yusof *et al.* (2010), estudou a remoção de íons de amônio de solução aquosa com cinza
1047 obtida a partir de casca de arroz, concluindo que essa cinza pode ser utilizada como
1048 adsorvente barato para remover a amônia da água. Desta forma, nos leva a crer que a

1049 ausência de amônia na água nos tratamentos com utilização de farelo de arroz e do
1050 farelo de arroz fermentado foi obtida pelo processo chamada de adsorção. Coelho *et al*
1051 (2014) afirmaram que o processo de adsorção apresenta-se como um fenômeno físico de
1052 transferência de massa que ocorre nas interfaces do sistema fluído-sólido, e que consiste
1053 na adsorção seletiva de alguns componentes da fase fluída na superfície sólida.

1054 No experimento 1, foi observado que os parâmetros de crescimento
1055 apresentaram, resultados melhores com a alimentação com levedura de panificação em
1056 relação as diferentes concentrações de farelo de arroz integral apesar do farelo de arroz
1057 integral possuir quantidades de nutrientes consideráveis, como 19,80% de proteína e
1058 20,43% de lipídio. De acordo com (Zdradeck 2001), a disponibilidade de nutrientes dos
1059 farelos de cereais nas dietas pode ser considerada baixa, porque nas camadas externas
1060 dos grãos, as proteínas e outros micronutrientes são fortemente ligada à celulose,
1061 hemicelulose e a alguns minerais que dificultam o uso de nutrientes em os processos
1062 digestivos de animais. Por outro lado, Dhert *et al.* (2001) mencionam que a levedura de
1063 panificação pode suportar grandes biomassas de rotíferos. Na sua forma inativa, a
1064 levedura tem sido muito usada na alimentação animal, como fonte de proteína (Lima &
1065 Aquarone 2001).

1066 Já no experimento 2 foi observado que o farelo de arroz fermentado na
1067 quantidade de 1,5g apresentou, para todas as variáveis de desempenho da produção,
1068 valores semelhantes ao encontrados com levedura. Ainda, ao se comparar as variáveis
1069 entre o experimento 1 e 2, pode-se verificar que a fermentação do farelo de arroz
1070 melhorou o desempenho populacional dos rotíferos.

1071 Pelizer *et al* (2007) mencionam que o uso de processos fermentativos para
1072 alterar substratos durante a sua atividade metabólica é uma boa forma para aumentar a
1073 disponibilidade de nutrientes nas matérias-primas. O crescimento do microrganismo
1074 sobre um substrato altera a composição química do substrato devido à produção de
1075 enzimas extracelulares, além da produção de outros metabólitos próprios do agente
1076 fermentador. Sendo assim, o substrato pode ser enriquecido, dependendo dos
1077 componentes intrínsecos do agente fermentador, ou pela disponibilização de nutrientes
1078 presentes nele, que antes da ação microbiana se encontravam associados de forma não
1079 acessível aos processos extrativos químicos ou enzimáticos (Oliveira *et al.* 2010). Um
1080 fato que chama atenção é a maior quantidade de lipídio presente nos farelos (fermentado

1081 ou não), pois de acordo com Gilbert (2004), o lipídio é importante para a reprodução
1082 dos rotíferos, e as dietas devem permitir síntese de reservas lipídicas. Ainda, o farelo de
1083 arroz possui vitaminas do complexo B (Park *et al.* 2017). Hirayama & Funamoto
1084 (1983), demonstraram a importância da suplementação com vitamina B12 na levedura
1085 de panificação para a alimentação de rotíferos.

1086 No experimento 3, foi avaliado a substituição parcial e total da levedura de
1087 panificação por farelo de arroz integral ou fermentado para alimentar rotíferos. Foi
1088 observado que todos os parâmetros de crescimento (densidade populacional, taxa de
1089 crescimento e tempo de duplicação) tiveram resultados semelhantes nos tratamentos
1090 com substituição de 63% da levedura pelo farelo integral e fermentado com o
1091 tratamento 1,5g farelo fermentado. Era esperado a combinação de farelo de arroz
1092 fermentado e a levedura pudesse resultar em parâmetros de desempenho populacional
1093 ainda melhores, fato que não se concretizou neste estudo.

1094 A levedura não possui ácidos graxos essenciais que é importante para a
1095 reprodução dos rotíferos (Vijayagopalal *et al.* 2012), mas é uma excelente fonte de
1096 proteína. Wacker & Martin-Creuzburg (2012), adicionaram aminoácidos como a leucina
1097 e isoleucina, na dieta de rotíferos *B. Calyciflorus* e obtiveram aumento na taxa de
1098 crescimento populacional, concluindo que a limitação de certos aminoácidos prejudicam
1099 o crescimento populacional. O farelo de arroz possui grande variedade de aminoácidos,
1100 incluindo a leucina e isoleucina (Junqueira *et al.* 2009). Segundo Wacker & Martin-
1101 Kreuzburg (2012), taxas de crescimento populacional de rotíferos são limitadas por uma
1102 baixa disponibilidade de lipídios. Por outro lado, os farelos de arroz apresentaram
1103 grande quantidade nutrientes, como vitaminas, minerais, incluindo um conteúdo lipídico
1104 elevado.

1105 Em geral, os valores de taxa de crescimento populacional da maioria das
1106 espécies de rotíferos, variam de 0,2 a 2,0 por dia, dependendo da espécie e da qualidade
1107 de alimento fornecida (Sarma *et al.* 2001). No presente estudo, os valores de taxa de
1108 crescimento obtidos nos primeiros ciclos de produção ficaram todos acima de 0,2, o que
1109 mostra que as populações estavam crescendo. Já no segundo ciclo, dois tratamentos, que
1110 foram as concentrações menores de farelo de arroz integral ficaram ligeiramente abaixo
1111 dessa faixa ($0,17 \pm 0,02$ e $0,18 \pm 0,01$), o que mostra que o crescimento nesses tratamentos
1112 não foram satisfatórios.

1113 Neste estudo, o tempo de duplicação foi maior para os rotíferos alimentados com
1114 farelo de arroz integral. O tempo de duplicação de rotíferos alimentados com diferentes
1115 dietas, reportadas na literatura, varia de 1,43 a 5,97 h (Janmes *et al.* 1983). No presente
1116 estudo os valores encontram entre 1,44 a 4,02 h, o que mostra que os valores se
1117 encontram dentro do intervalo registrado para a espécie *Brachionus plicatilis*.

1118 A tendência geral das percentagens de fêmeas ovadas para todos os grupos de
1119 rotíferos durante os experimentos de 6 dias, era flutuar diariamente, sendo que no
1120 último dia de cultivo, maioria dos tratamentos em todos os experimentos, estavam
1121 caindo, ficando abaixo de 15%, o que mostra que a população nesses tratamentos já não
1122 estavam crescendo adequadamente, ou seja era o período de encerrar o cultivo. Segundo
1123 Dhert *et al.* (2001), *Brachionus plicatilis*, possui um ciclo de vida curto com
1124 durabilidade de 3,4 à 4,4 dias, a uma temperatura de 25° C embora em condições ótimas
1125 possam atingir em média 6 a 8 dias (Ferreira 2009).

1126 Em todos os experimentos, os rotíferos tiveram crescimento menores, depois de
1127 serem lavados e iniciado o segundo ciclo de cultivo, resultando em menores
1128 concentrações de rotíferos ao final do segundo ciclo. Isso aconteceu com Penglase *et al*
1129 (2011), onde o segundo ciclo de produção dos rotíferos depois de lavados apresentaram
1130 uma menor taxa de crescimento populacional. Apesar disso ao se fazer uma comparação
1131 entre o crescimento no final do primeiro ciclo com o final do segundo ciclo, não foram
1132 encontradas diferenças estatísticas entre os mesmos para nenhum dos três experimentos.

1133 Em relação a espécies reativas de oxigênio (ROS), a capacidade antioxidante
1134 (ACAP) e a peroxidação lipídica (TBARS), não foram encontradas diferenças
1135 significativas entre os tratamentos. Talvez o tempo de fermentação não foi suficiente
1136 para aumentar a quantidade de compostos fenólicos de modo a melhorar a capacidade
1137 antioxidante dos rotíferos, ou ainda, a quantidade de polifenóis produzida não
1138 apresentou boa biodisponibilidade para os rotíferos. A análise dos polifenóis totais foi
1139 conduzida somente no farelo de arroz integral e no farelo de arroz fermentado, pois
1140 foram nestes tratamentos que se observaram mais diferenças de desempenho.

1141 A utilização de 1,5 g de farelo fermentado na alimentação dos rotíferos,
1142 apresentou mesmo crescimento populacional que a levedura de panificação, sendo
1143 assim pode ser usado o farelo fermentado e obter crescimento semelhante a levedura de
1144 panificação e com uma condição ambiental melhor, já que o farelo reduziu a amônia da

1145 água do cultivo. Houve aumento dos compostos fenólicos com a fermentação do farelo,
1146 apesar de não ter melhorado os parâmetros antioxidante dos rotíferos. Possivelmente o
1147 tempo de fermentação do farelo não foi suficiente para produzir quantidade de
1148 polifenóis suficientes para induzir uma resposta antioxidante ou os rotíferos não
1149 absorveram os fenóis do farelo.

1150 **5. Conclusões**

- 1151 ✓ A utilização do farelo de arroz fermentado na concentração de 1,5 g para um
1152 milhão de rotíferos, pode ser uma alternativa ou um substituto da levedura na
1153 alimentação de rotíferos;
- 1154 ✓ Pode substituir 50% da levedura de panificação por farelo de arroz integral
1155 ou fermentado na alimentação de rotíferos e obter boas taxas de crescimento
1156 populacional;
- 1157 ✓ O farelo de arroz integral e fermentado adsorvem a amônia da água de
1158 cultivo de rotíferos;
- 1159 ✓ O farelo de arroz fermentado por 6 horas com *Saccharomyces cerevisiae* não
1160 conferiu proteção contra o estresse oxidativo nos rotíferos;
- 1161 ✓ A fermentação do farelo de arroz, não aumentou o conteúdo de nutrientes,
1162 mas leva a crer que aumentou a disponibilidade dos mesmos.

1163

6. Referências bibliográficas

- 1164 ABDULL RAR; ZC COB; Z JAMARI; AM MOHAMED; T TODA & OH ROSS.
1165 2018. The Effects of Microalgae as Live Food for *Brachionus plicatilis* (Rotifer) in
1166 Intensive Culture System. *Tropical Life Sciences Research.*, 29: 127- 138.
- 1167 ADEBIYI AP; AO ADEBIYI; D-H JIN; T OGAWA & K MURAMOTO. 2007. Rice
1168 bran protein-based edible films. *International Journal of Food Science and*
1169 *Technology.*, 43: 476–483.
- 1170 AMADO LL; ML GARCIA; PB RAMOS; RF FREITAS; B ZAFALON; JLR
1171 FERREIRA; JS YUNES & JM MONSERRAT. 2009. A method to measure total
1172 antioxidant capacity against peroxy radicals in aquatic organisms: application to
1173 evaluate microcystins toxicity. *Science of Total Environment.*, 407: 2115–2123.
- 1174 AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). 1998. Standard methods
1175 for the examination of water and wastewater. Washington. 1193pp.
- 1176 AMINOT A & M CHAUSSEPIED. 1983. Manuel des analyses chimiques en milieu
1177 marin. Brest: CNEXO. 395pp.
- 1178 AMISSAH JGN; WO ELLIS; I ODURO & JT MANFUL. 2003. Nutrient composition
1179 of bran from new rice varieties under study in Ghana. *Food Control*, 14: 21-24.
- 1180 AOAC 1999. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical
1181 Chemists, 16th ed. Washington, DC, USA.
- 1182 CABALLERO-CÓRDOBA GM; MTB PACHECO & VC SGARBIERI. 1997.
1183 Composição química da biomassa de levedura integral (*Saccharomyces* sp.) e
1184 determinação do valor nutritivo da proteína em células íntegras ou rompidas
1185 mecanicamente. *Ciência Tecnologia de Alimento.*, 17:102-106.
- 1186 CHANDI GK & DS SOGI. 2007. Functional properties of rice bran protein
1187 concentrates. *Journal of Food Engineering.*, 79:592–597.
- 1188 COELHO GF; ACG JÚNIOR; RFB SOUSA; D SCHWANTES; AJ MIOLA & CVR
1189 DOMINGUES. 2014. Uso de técnicas de adsorção utilizando resíduos
1190 agroindustriais na remoção de contaminantes em águas. *Journal of Agronomic*
1191 *Sciences, Umuarama.*, 3: 291-317.
- 1192 CURNOW, J, J KING, G PARTRIDGE & S KOLKOVSKI. 2006. Effects of two
1193 commercial mi-crodiets on growth and survival of barramundi (*Lates calcarifer*
1194 Bloch) larvae within various early weaning protocols. *Aquaculture Nutrition.*, 12:
1195 247–255.
- 1196 DA SILVA MA; C SANCHES & ER AMANTE. 2006. Prevention of hydrolytic
1197 rancidity in rice bran. *Journal of Food Engineering.*, 75: 487-491.
- 1198 DAS P; SC MANDAL; SK BHAGABATI; MS AKHTAR. & SK SINGH. 2012.
1199 Important live food organisms and their role in aquaculture. In: *Frontiers in*
1200 *Aquaculture*, Chapter 5 (ed. by M. Sukham), pp. 69–86. Narendra Publishing
1201 House, New Delhi, India
- 1202 DHERT P; G ROMBAUT; G SUANTIKA & P SORGELOOS. 2001. Advancement of
1203 rotifer culture and manipulation techniques in Europe. *Aquaculture.*, 200:129–146.

- 1204 DHERT P; N KING & EO BRIEN. 2014. Stand-alone live food diets, an alternative to
1205 culture and enrichment diets for rotifers. *Aquaculture.*, 431: 59–64.
- 1206 DENEKAMP NY, MA THOME, MS CLARK, M KUBE, R REINHARDT & E
1207 LUBZENS. 2009. Discovering genes associated with dormancy in the monogonont
1208 rotifer *Brachionus plicatilis*. *BMC Genomics* 10:108.
- 1209 DRÖGE W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function.
1210 *Physiological Reviews.*, 82: 47–95.
1211
- 1212 FEDDERN V; EB FURLONG; LAS SOARES. 2007. Effects of fermentation on the
1213 physicochemical and nutritional properties of rice bran. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*,
1214 *Campinas.*, 27: 800-804.
- 1215 FERREIRA M; AC BURGUENO; I FREIRE & A OTERO. 2018. Effect of nutritional
1216 status and concentration of *Nannochloropsis gaditana* as enrichment diet for the
1217 marine rotifer *Brachionus* sp. *Aquaculture.*, 491: 351-357.
- 1218 FERREIRA, PMP.2009. Manual de cultivo e bioencapsulação da cadeia alimentar para
1219 a Larvicultura de peixes marinhos. Instituto Nacional de Recursos Biológicos I.P.
1220 IPIMAR. 240p.
- 1221 GILBERT JJ. 2004. Females from resting eggs and parthenogenetic eggs in the rotifer
1222 *Brachionus calyciflorus*: lipid droplets, starvation resistance and reproduction.
1223 *Freshwater Biology.*, 49: 1505–1515.
- 1224 HAIWEI L; Y DONG; Y LIU & H WANG. 2010. Screening of novel low-cost
1225 adsorbents from agricultural residues to remove ammonia nitrogen from aqueous
1226 solution. *Journal of Hazardous Materials.*, 178: 1132-136.
- 1227 HIRAYAMA K & H FUNAMOTO. 1983. Supplementary Effect of Several Nutrients
1228 on Nutritive Deficiency of Baker's yeast for Population Growth of the Rotifer
1229 *Brachionus plicatilis*. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries.*, 49:
1230 505-510.
- 1231 HISANO H; FG SAMPAIO; MM BARROS & LE PEZZATO. 2008. Composição
1232 nutricional e digestibilidade aparente da levedura íntegra, da levedura autolisada e
1233 da parede celular pela tilápia-do-nilo. *Ciência Animal Brasileira.*, 9: 43-49.
- 1234 HOFF FH & TW SNELL. 2004. *Plankton culture manual*. Florida Aqua Farms, Inc.,
1235 6th edition, 181 p

- 1236 JAMES CM; M BOU-ABBAS; AM AL-KHARS; S AL-HINTY & AE SALMAN.
1237 1983. Production of the rotifer *Brachionus plicatilis* for aquaculture in Kuwait.
1238 *Hydrobiologia.*, 104: 77-84.
- 1239 JUNQUEIRA OM; KF DUARTE; LC CANCHERINI; LF ARAÚJO; MC DE
1240 OLIVEIRA & EA GARCIA. 2009. Chemical composition, metabolizable energy
1241 and digestible amino acids values of rice by-products for broilers. *Ciência Rural*,
1242 39: 2497-2503.
- 1243 KAHLON TS & FI CHOW. 2000. Lipidemic response of hamsters to rice bran,
1244 uncooked or processed white and brown rice, and processed corn starch. *Cereal*
1245 *Chemistry.*, 77: 673-678.
- 1246 KAILASAM M; AR THIRUNAVUKKARASU; AG PONNIAH ; S SELVARAJ & P
1247 STALIN. 2015. Recent advances in rotifer culture and its application for
1248 larviculture of finfishes. In: *Advances in Marine and Brackishwater Aquaculture*
1249 Edited by S. Perumal, A.R. Thirunavukkarasu, P. Pachiappan, Springer, Pp.17 – 23
- 1250 KHALIL A; N SERGEEVICH & V BORISOVA. 2018. Removal of ammonium from
1251 fish farms by biochar obtained from rice straw: Isotherm and kinetic studies for
1252 ammonium adsorption. *Adsorption Science & Technology.*, 36: 1294-1309.
- 1253 KIM HJ; JS LEE & A HAGIWARA. 2018. Phototactic behavior of live food rotifer
1254 *Brachionus plicatilis* species complex and its significance in larviculture: A review.
1255 *Aquaculture.*, 497:253-259.
- 1256 KOLKOVSKI S. 2013. Microdiets as alternatives to live feeds for fish larvae in
1257 aquaculture: improving the efficiency of feed particle utilization. *Advances in*
1258 *Aquaculture Hatchery Technology.*, 203-222. doi. 10.1533/9780857097460.1.203.
- 1259 KOROLEFF F; KH PALMORK. 1972. Report on the ices/ Scor nutrient intercalibration
1260 experiment. ICES, C.M. Sept. C: 21. Hydr. Comm.
- 1261 KOSTOPOULOU V & O VADSTEIN. 2007. Growth performance of the
1262 rotifers *Brachionus plicatilis*, *B. 'Nevada'* and *B. 'Cayman'* under different food
1263 concentrations. *Aquaculture.*, 273 : 449 -458.
- 1264 KUPSKI L; E CIPOLATTI; M DA ROCHA; MS OLIVEIRA; L A SOUZA-SOARES
1265 & E BADIALE-FURLONG.2012. Solid-State Fermentation for the Enrichment and
1266 Extraction of Proteins and Antioxidant Compounds in Rice Bran by *Rhizopus*
1267 *oryzae*. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 55: 937-942.

- 1268 LIMA UA & E AQUARONE. 2001. Biotecnologia Industrial, vol. 2 Engenharia
1269 Bioquímica; 1.^a ed; cap. 9; São Paulo, SP; Editora Edgard Blücher. 554 pp.
- 1270 LOPES, AFS. 2010. Comportamento alimentares de *Brachionus spp*: microalgas vivas
1271 e liofilizadas e emulsões de produtos comerciais. Taxa de crescimento e análise
1272 dos conteúdos lipídicos. Tese de mestrado. Faculdade de Ciências. Universidade de
1273 Lisboa. 60 pp.
- 1274 LUBZENS E & O ZMORA. 2003. Production and nutritional value of rotifers. In live
1275 feeds marine aquaculture (Stottrup, J.G and McEvoy, LA, eds.), pp 17-52.
1276 Blackwell publishing, oxford, UK.
- 1277 MA Z & JG QIN. 2014. Replacement of fresh algae with commercial formulas to enrich
1278 rotifers in larval rearing of yellowtail kingfish *Seriola lalandi* (Valenciennes, 1833).
1279 Aquaculture Research., 45: 949-960. Doi: 10.1111/are.12037
- 1280
- 1281 MONSERRAT JM; ML GARCIA; J VENTURA-LIMA; M GONZALEZ; ML
1282 BALLESTEROS; KS MIGLIORANZA; MV AME & DA WUNDERLIN. 2014.
1283 Antioxidant, phase II and III responses induced by lipoic acid in the fish *Jenynsia*
1284 *multidentata* (*Anablapiidae*) and its influence on endosulfan accumulation and
1285 toxicity. Pesticide Biochemistry and Physiology., 108: 8–15.
- 1286 NAVARRO-YEPES J; M BURNS; A ANANDHAN,; O KHALIMONCHUK; LM
1287 DEL RAZO; B QUINTANILLA- VEJA; A PAPPA; MI PANAYIOTIDIS & R
1288 FRANCO. 2014. Oxidative stress, redox signaling, and autophagy: cell death
1289 versus survival. Antioxid. Redox Signal., 21: 66–85.
- 1290 NORSEKER NH; MJ BARBOSA; MH VERMUE & RH WIJFFELS. 2011. Microalgal
1291 production—a close look at the economics. Biotechnol Adv 29:24–27
- 1292 OAKES KD & GJ VAN DER KRAAK. 2003. Utility of the TBARS assay in detecting
1293 oxidative stress in white sucker (*Catostomus commersoni*) populations exposed to
1294 pulp mill effluent. Aquat. Toxicol., 63: 447–463.
- 1295 OLIVEIRA M S; V FEDDERN; L KUPSKI; EP CIPOLATTI; E BADIALE-
1296 FURLONG & LA. DE SOUZA-SOARES. 2010. Physico-chemical
1297 characterization of fermented rice bran biomass Caracterización fisico-química de
1298 la biomasa del salvado de arroz fermentado. CyTA - Journal of Food., 8:3, 229-
1299 236, DOI: 10.1080/19476330903450274.
- 1300 OLIVEIRA MS; L KUPSKI; V FEDDERN; E CIPOLATTI; E BADIALE-FURLONG
1301 & LA SOUZA SOARES. 2011. Changes in lipid, fatty acids and phospholipids
1302 composition of whole rice bran after solid-state fungal fermentation. Bioresour.
1303 Technol. 102:8335–8338.
- 1304 PARK HY; KW LEE & HD CHOI. 2017. Rice bran constituents: immunomodulatory
1305 and therapeutic activities. Food & Function., Review. 9 pp.

- 1306 PARRADO J; E MIRAMONTES; M JOVER; J F GUTIERREZ; LC TERÁN & J DE
1307 BAUTISTA. 2006. Preparation of a rice bran enzymatic extract with potential use
1308 as functional food. *Food Chemistry.*, 98: 742–748.
- 1309 POMPELLA A. 1997. Biochemistry and histochemistry of oxidant stress and lipid
1310 peroxidation. *International Journal for Vitamin and Nutrition research*, 67: 289-297.
1311
- 1312 PELIZER LH; MH PONTIERI & IO MORAES. 2007. Utilização de resíduos agro-
1313 industriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto
1314 ambiental. *Journal of Technology Management & Innovation.*, 2:118–127.
- 1315 PENGLASE S; K HAMRE; JW SWEETMAN & A NORDGREEN. 2011. A new
1316 method to increase and maintain the concentration of selenium in rotifers
1317 (*Brachionus* spp.) *Aquaculture.*, 315: 144- 153.
1318
- 1319 RIOBOO C; R PRADO; C HERRERO & A CID. 2007. Population growth study of the
1320 rotifer *Brachionus* sp. fed with triazine-exposed microalgae. *Aquatic Toxicology.*,
1321 83 : 247-253.
- 1322 SARMA SS; PS LARIOS-JURADO & S NANDINI. 2001. Effect of the three food
1323 types on the population growth of *Brachionus calyciflorus* and *Brachionus patulus*
1324 (Rotifera: Brachionidae). *Rev. Biol. Trop.*, v.49, p.75-82.
- 1325 SCHMIDT CG; MA CERQUEIRA; AA VICENTE; JÁ TEIXEIRA & EB FURLONG.
1326 2015. Rice bran protein-based films enriched by phenolic extract of fermented rice
1327 bran and montmorillonite clay. *CyTA - Journal of Food.*, 13: 204-212, DOI:
1328 10.1080/19476337.2014.939998
- 1329 SEYCHELLES LH; C AUDET; R TREMBLAY; R FOURNIER & F PERNET. 2009.
1330 Essential fatty acid enrichment of cultured rotifers (*Brachionus plicatilis*, Müller)
1331 using frozen-concentrated microalgae. *Aquaculture Nutrition.*, 15: 431-439.
- 1332 SEVCIKOVA M; H MODRA; A SLANINOVA & Z SVOBODOVA. 2011. Metals as
1333 a cause of oxidative stress in fish: a review. *Veterinarni Medicina* 56:537-546
- 1334 SOUZA MM; VM. RECARTE; M ROCHA; EP CIPOLATTI & E BADIALE-
1335 FURLONG. 2009. Study on the extracting conditions of phenolic compounds from
1336 onion (*Allium cepa* L.). *Instituto Adolfo Lutz* 68 (2) 192–200.
- 1337 SUANTIKA G; P DHERT; G ROMBAUT; J VANDENBERGUE; T DE WOLF & P
1338 SORGELOOS. 2002. The use of ozone in a high density recirculation system for
1339 rotifers. *Aquaculture.*, 201: 35-49.
- 1340 VALI SR; Y-H JU; TNB KAIMAL & Y-T CHERN. 2005. A process for the
1341 preparation of food-grade rice bran wax and the determination of its composition.
1342 *Journal of the American Oil Chemists' Society.*, 82: 57–64.
- 1343 VIJAYAGOPAL P; C KAJAL; G IYYAPPARAJANARASIMAPALLAVAN; MK
1344 ANIL; B IGNATITUS; NS CORREIA & KK VIJAYAN. 2012. Development of

1345 live feed enrichment product for marine fish larviculture. Indian Journal of
1346 Fisheries., 59: 121–125.

1347 WACKER A & D MARTIN-CREUZBURG. 2012. Biochemical nutrient requirements
1348 of the rotifer *Brachionus calyciflorus*: co-limitation by sterols and amino acids.
1349 Functional Ecology., 26: 1135- 1143.

1350 XIE F; SA KOZIAR; MA LAMPI; DG DIXON; WP NORWOOD; U BORGMANN;
1351 H HUANG & BM GREENBERG. 2006. Assessment of the toxicity of mixtures of
1352 copper, 9, 10-phenanthrenequinone, and phenanthrene to *Daphnia magna*:
1353 Evidence for a reactive oxygen mechanism. Environmental Toxicology and
1354 Chemistry., 25: 613-622.

1355 YAMADA EA; ID ALVIM; MCC SANTUCCI & VC SGARBIERI. 2003. Composição
1356 centesimal e valor protéico de levedura residual da fermentação etanólica e de seus
1357 derivados. Rev. Nutr., 16: 423-432.

1358 YUN SE & ST HONG. 2007. Isolation and investigation of emulsifying properties of
1359 surface-active substances from rice bran. Food Hydrocolloids., 27:838–843.

1360 YUSOF AM; LK KEAT; Z IBRAHIM; ZA MAJID & NA NIZAM. 2010. Kinetic and
1361 equilibrium studies of the removal of ammonium ions from aqueous solution by
1362 rice husk ash-synthesized zeolite Y and powdered and granulated forms of
1363 mordenite. Journal of Hazardous Materials., 174: 380- 385.

1364 ZDRADEK CP. 2001. Otimização do crescimento dos fungos comestíveis *P. ostreatus*
1365 e *P. sajor caju* utilizando resíduos agro-industriais [Dissertation]. Rio Grande,
1366 Brasil. Federal Universtity

1367 ZHANG DM; T YOSHIMATSU & M FURUSE. 2005. Effects of l-carnitine
1368 enrichment on the population growth, egg ratio and body size of the marine
1369 rotifer, *Brachionus rotundiformis*. Aquaculture., 248: 51-57.