Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

Concentrados proteicos na alimentação de dourado (*Salminus brasiliensis*):
aspectos zootécnicos, fisiológicos e econômicos

Welliton Gonçalves de França

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de concentração: Ciência Animal e
Pastagens

Piracicaba
2020

Welliton Gonçalves de França
Tecnólogo em Aquicultura

**Concentrados proteicos na alimentação de dourado (*Salminus brasiliensis*):
aspectos zootécnicos, fisiológicos e econômicos**
versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011.

Orientador:
Prof. Dr. **JOSÉ EURICO POSSEBON CYRINO**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de concentração: Ciência Animal e
Pastagens

Piracicaba
2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

França, Welliton Gonçalves de

Concentrados proteicos na alimentação de dourado (*Salminus brasiliensis*): aspectos zootécnicos, fisiológicos e econômicos / Welliton Gonçalves de França. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2020.

84 p.

Tese (Doutorado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Concentrado proteico de algodão 2. Fatores antinutricionais 3. Nutrição de peixes 4. Concentrado proteico de soja I. Título

DEDICATÓRIA

*A Terezinha e Mauri,
meus pais,
pelo apoio, amor e
confiança.*

AGRADECIMENTOS

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo [ESALQ/USP], e ao programa de pós-graduação em Ciência Animal e Pastagens [PPG-CAP], pelos ensinamentos e apoio técnico-científico essencial à minha formação.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior [CAPES] e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico [CNPq] pelo auxílio financeiro recebido na forma de bolsa de estudos e reserva técnica para pesquisa.

À Maxprotein Pesquisa Indústria e Comércio Ltda. (Piracicaba, SP) pelo fornecimento dos concentrados proteicos e auxílio na realização das análises.

Aos funcionários do setor de piscicultura, Sérgio Pena e Ismael Baldessin Junior, pelo apoio concedido em todas as etapas da minha formação.

Aos colegas e amigos com quem convivi esses anos de doutoramento, Ana Alcântara, Angélica Alves, Cândida Pollyanna Azevedo, Evandro Lorenz, Fredy Aguilar, Gustavo Bozano, Jeneli Wrasse, João Fernando Koch, Lucas de Oliveira, Madoka Hishi, Maria Luiza Ruiz, Rafael Barone, Rafael Sabioni, Rogério Furlan, Tânia Cristina Pontes, Thiago Freato e Vamilton Franzo, por todas as conversas e auxílio prestado sempre que solicitado.

Ao Professor Dr. Leandro Portz, meu orientador durante o mestrado, um grande amigo, que me incentivou a dar continuidade à minha formação acadêmica.

Em especial, ao Professor Dr. José Eurico Possebon Cyrino, por ter confiado no meu potencial e me orientado, pelos conselhos e direcionamento que foram parte essencial da minha formação. Muito obrigado!

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE TABELAS	11
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1. Dourado (<i>Salminus brasiliensis</i>)	17
2.2. Produção e utilização de concentrados proteicos na aquicultura	18
2.2.1. Concentrado proteico de algodão (CPA).....	18
2.2.2. Concentrado proteico de soja (CPS).....	21
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	27
3.1. Concentrados proteicos utilizados	27
3.2. Digestibilidade da proteína de farelos e concentrados proteicos de algodão e soja para o dourado (<i>Salminus brasiliensis</i>)	28
3.2.1. Dietas experimentais.....	28
3.2.2. Peixes e condições experimentais.....	29
3.3. Avaliação de níveis de inclusão de concentrado proteico de algodão e soja como fonte proteica em dietas para o Dourado (<i>Salminus brasiliensis</i>)	30
3.3.1. Dietas experimentais.....	30
3.3.2. Delineamento experimental	31
3.3.3. Amostragem e análise bromatológica	32
3.3.4. Análise econômica.....	32
3.3.5. Análise hematológica	34
3.3.6. Análise histológica	34
3.3.7. Análise estatística	35
3.4. Integridade do intestino médio de dourados alimentados com dietas contendo concentrado proteico de algodão	36
3.4.1. Dietas e delineamento experimental.....	36
3.4.2. Coleta e preparação de amostras	37
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.1. Digestibilidade da proteína do farelo algodão e soja e concentrado proteico de algodão e soja para dourado.....	39

4.2. Avaliação de desempenho de dourado alimentado com concentrados proteicos de algodão e soja em substituição à farinha de peixe	41
4.2.1. Desempenho zootécnico	41
4.2.2. Avaliação econômica	51
4.2.3. Condições hematológicas.....	54
4.2.4. Histologia do trato intestinal	57
4.3. Integridade do intestino médio de dourados alimentados com concentrado proteico de algodão	60
5. CONCLUSÃO	67
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	69
REFERÊNCIAS	71
APÊNDICES.....	83

RESUMO

Concentrados proteicos na alimentação de dourado (*Salminus brasiliensis*): aspectos zootécnicos, fisiológicos e econômicos

O processamento adicional utilizado para a obtenção de concentrados proteicos reduz a presença de fatores antinutricionais (FANs), níveis de lipídeos e carboidratos nos ingredientes vegetais, tornando-os mais digestíveis. Este trabalho teve por objetivo avaliar aspectos zootécnicos, fisiológicos e econômicos do uso de concentrados proteicos na alimentação do dourado (*Salminus brasiliensis*). Para tanto, foram realizados três ensaios: o primeiro avaliou o coeficiente de digestibilidade da proteína (CDA_{PB}) do farelo de algodão (FA – 46,1 % PB), do farelo de soja (FS – 47,1% PB), do concentrado proteico de algodão (CPA – 56,0% PB) e do concentrado proteico de soja (CPS – 58,4% PB) em juvenis de dourado ($30,3 \pm 0,5$ g); o segundo ensaio avaliou o desempenho de juvenis de dourado ($20,3 \pm 1,2$ g) alimentados com dietas contendo níveis crescentes (0, 20, 40, 60, 80 e 100 %) de substituição da farinha de peixe (FP – 55,3 % PB) por CPA e CPS; o terceiro ensaio avaliou os efeitos da substituição total (100%) da FP por CPA nas dietas na morfologia intestinal do dourado através de microscopia eletrônica de varredura. O CDA_{PB} apresentou valores superiores a 90% para todos os ingredientes testados, os maiores valores de proteína digestível (PD) registrados para os concentrados CPA (51,8 % PD) e CPS (55,48 % PD). A substituição total da FP por CPA e CPS na dieta não influenciou o desempenho dos peixes. O consumo de ração pelos peixes se manteve estável e não apresentou alterações por conta da variação da fonte de proteína dietética. A composição química da carcaça dos peixes não foi influenciada pela substituição da FP na dieta. Os peixes alimentados com CPA apresentaram as menores médias de hemoglobina ($\geq 0,22$ g dL⁻¹), enquanto os peixes alimentados com CPS tiveram o número de eritrócitos aumentado ($\geq 204,45 \times 10^4$ μ L⁻¹). Não foram registradas alterações histológicas no trato digestório dos peixes, entretanto a camada muscular apresentou as menores médias quando os animais foram alimentados com dietas sem combinação das fontes proteicas ($\geq 133,59$ μ m). Foram registradas alterações na conformação da mucosa intestinal dos animais alimentados com a dieta contendo 100% CPA aos 14 dias do período experimental, entretanto estas alterações não eram visíveis aos 21 dias, indicando adaptação da espécie à dieta. O lucro foi maior na substituição de 100% da FP por CPA (R\$ 10,64) e de 88,5% por CPS (R\$ 10,05). Pode-se recomendar a inclusão de CPA em substituição total à farinha de peixe em dietas para organismos aquáticos, mas a inclusão de CPS deve ser realizada com cautela quando o objetivo é a manutenção do desempenho.

Palavras-chave: Algodão, Soja, Digestibilidade, Hematologia

ABSTRACT

Protein concentrates in dourado (*Salminus brasiliensis*) diet: zootechnical, physiological and economic aspects

Supplementary processing of feedstuff aimed at obtaining protein concentrates reduces the presence of antinutritional factors (ANFs), lipid and carbohydrate contents of plant ingredients, making them more digestible for fish. This study aimed at evaluating zootechnical, physiological and economic features of protein concentrates in the feeding of dourado (*Salminus brasiliensis*). An initial assay evaluated the protein digestibility coefficient (CPDC) of cottonseed meal (CM - 46.1% CP), soybean meal (SM - 47.1% CP), cottonseed protein concentrate (CPC - 56.0% CP) and soy protein concentrate (SPC - 58.4% CP) in juvenile dourado (30.3 ± 0.5 g), and gave rise to the evaluation of growth performance of juvenile dourado (20.3 ± 1.2 g) fed diets in which fish meal (FM - 55.3% crude protein) as protein source was replaced by CPC and SPC (0, 20, 40, 60, 80 and 100% FM). A third trial evaluated the effects of total (100%) replacement of dietary FM by CPC on gut morphology by scanning electron microscopy. The CPDC presented values above 90% for all tested ingredients, the highest values of digestible protein (DP) recorded for CPC (51.8% DP) and SPC (55.48% DP). The total replacement of dietary FM by CPC and SPC did not affect fish performance and feed intake and carcass composition. CPC-fed fish had a reduction in hemoglobin (≥ 0.22 g dL⁻¹), while SPC-fed fish had increased erythrocyte count ($\geq 204.45 \times 10^4 \mu\text{L}^{-1}$). There were no histological changes in the fish digestive tract epithelium, but the muscle layer was constricted when fishes were fed diets without a combination of protein sources ($\geq 133,59 \mu\text{m}$). Alterations in the intestinal mucous conformation of fishes fed the 100%-CPC diet were registered at 14 days of the feeding period, but these changes were no longer discernible at 21 days of feeding, indicating an adaptation of the species to the diet. Profit margin was higher when dietary FM was replaced by 100% CPC (R\$ 10.64) and 88.5% SPC (R\$ 10.05). Total replacement of FM by CPC in diets for aquatic organisms may be recommended, but the inclusion of SPC should be performed with caution to maintain performance.

Keywords: Cottonseed, Soybean, Digestibility, Hematology

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema adaptado de produção do concentrado proteico de algodão.	20
Figura 2. Esquema de produção do concentrado proteico de soja, adaptado de Peisker (2001).	22
Figura 3. Trato gastrointestinal de dourado, iniciando no estômago (Y), seguido pelos cecos pilóricos (CP) e intestino anterior (a), intestino médio (b) e intestino posterior (c).	35
Figura 4. Ganho de peso individual [μ (SEM); n = 3] de juvenis de dourado alimentados com dieta contendo concentrado proteico de algodão (CPA) e concentrado proteico de soja (CPS) em substituição à farinha de peixe (FP).	43
Figura 5. Consumo de ração e ganho de biomassa total de dourados alimentados com dietas contendo níveis crescentes de concentrado proteico de algodão em substituição à farinha de peixe.	46
Figura 6. Consumo de ração e ganho de biomassa total de dourados alimentados com dietas contendo níveis crescentes de concentrado proteico de soja em substituição à farinha de peixe.	47
Figura 7. Porcentagem de extrato etéreo na carcaça de dourados alimentados com dietas contendo níveis crescentes de concentrado proteico de algodão (CPA) e concentrado proteico de soja (CPS) em substituição à farinha de peixe.	50
Figura 8. Regressão linear das médias de lucro (com erro padrão) ($y = 0,0278x + 7,6387$; $R^2 = 0,9271$) em função da participação do concentrado proteico de algodão em substituição à farinha de peixe na dieta de juvenis de dourado.	52
Figura 9. Regressão linear das médias de lucro (com erro padrão) ($y = -0,0003x^2 + 0,0531x$ $+ 7,697$; $R^2 = 0,9701$) em função da participação do concentrado proteico de soja em substituição à farinha de peixe na dieta de juvenis de dourado.	52
Figura 10. Fotomicrografia do intestino médio de dourados alimentados com a dieta 100%CPA apresentando dobras longas (*) intercaladas por dobras menores(X).	58
Figura 11. Fotomicrografia do intestino médio de dourados alimentados com a dieta 100%CPS apresentando dobras longas (*) intercaladas por dobras menores(X).	59
Figura 12. Dobra principal (vermelho) com ramificações (azul) e dobra secundária contínua (em amarelo) no intestino médio de dourado.	61
Figura 13. (A) Disposição dos enterócitos no intestino médio de dourado alimentado com a dieta controle por sete dias (barra = 30 μ m); (B) Disposição dos enterócitos no	

intestino médio de dourado alimentado com a dieta contendo CPA por sete dias (barra = 30 μ m). 62

Figura 14. (A) Disposição dos enterócitos no intestino médio de dourado alimentado com a dieta controle por 14 dias (barra = 10 μ m) (seta= célula caliciforme); (B) Padrão irregular dos enterócitos no intestino médio de dourado alimentado com a dieta contendo CPA por 14 dias (barra = 20 μ m). 63

Figura 15. (A) Disposição dos enterócitos no intestino médio de dourado alimentado com a dieta controle por 21 dias (barra = 30 μ m); (B) Disposição dos enterócitos no intestino médio de dourado alimentado com a dieta contendo CPA por 21 dias (barra = 30 μ m). 64

Figura 16. Processo de extrusão celular (seta) de células caliciformes no intestino médio de dourado (Barra = 20 μ m). 65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Compilação de estudos de desempenho, onde houve a inclusão da proteína do CPS em substituição a FP, em diferentes espécies comerciais para a aquicultura	24
Tabela 2. Formulação e composição centesimal (% de matéria natural) da dieta referência utilizada no ensaio de digestibilidade	28
Tabela 3. Formulação das dietas basais utilizadas no experimento de desempenho de dourados e composição centesimal das dietas (matéria natural).....	31
Tabela 4. Formulação das dietas basais utilizadas no experimento de avaliação da estrutura intestinal de dourados (matéria natural)	36
Tabela 5. Composição centesimal (matéria natural) dos concentrados proteicos farelos de algodão e soja e coeficiente de digestibilidade aparente da proteína dos ingredientes para juvenis de dourado ($30,3 \pm 0,5$ g) (valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem estatisticamente, $P < 0,05$)	39
Tabela 6. Parâmetros de desempenho zootécnico de dourados [μ (SEM); $n = 3$] alimentados com dietas contendo níveis crescentes de concentrado proteico de algodão (CPA) ou soja (CPS) em substituição à farinha de peixe (FP)	42
Tabela 7. Composição centesimal (matéria natural) e índices hepatossomático e viscerossomático de dourados alimentados com dietas contendo níveis crescentes de concentrados proteicos de algodão (CPA) e soja (CPS) em substituição a farinha de peixe (FP) [μ (SEM); $n=6$]	49
Tabela 8. Valores calculados para receita (R\$), custo (R\$) e lucro (R\$) para os concentrados proteicos de algodão (CPA) e soja (CPS) utilizados, participação da farinha de peixe (FP) nas dietas e outros ingredientes [OI]	54
Tabela 9. Parâmetros hematológicos [μ (SEM); $n=6$] de dourados alimentados com dietas contendo níveis crescentes dos concentrados proteicos de algodão (CPA) e soja (CPS) em substituição à farinha de peixe (FP). Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem estatisticamente ($P < 0,05$)	56
Tabela 10. Análise das vilosidades intestinais de dourado [μ (SEM); $n=9$] alimentados com dietas contendo níveis crescentes de concentrados proteicos de algodão (CPA) e soja (CPS) em substituição a farinha de peixe (FP). Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem estatisticamente ($P < 0,05$).....	58

1. INTRODUÇÃO

O crescimento da aquicultura pode ser atribuído ao desenvolvimento de tecnologias que auxiliaram o desenvolvimento dos sistemas de produção para fazer frente à estagnação de desembarque de pescado oriundo da captura (FAO, 2019). Desta forma, o fornecimento de pescado para o mercado consumidor está cada vez mais dependente da disponibilidade de produtos oriundos da aquicultura (Arruda, 2004; Bhosale et al., 2010; Rocha et al., 2013).

O fornecimento de uma dieta nutricionalmente completa é parte essencial da manutenção e crescimento da atividade aquícola, uma vez que representa de 30 a 70 % dos custos operacionais da aquicultura intensiva (Kaushik, 1989; Naylor et al., 2009). Dentre os ingredientes que compõem os maiores custos associados à produção de rações comerciais, destaca-se a farinha de peixe (FP). A grande demanda por FP, associada à estagnação da produção global deste alimento, elevaram seu custo nas últimas décadas, levando à necessidade de se buscar uma fonte alternativa de proteína de qualidade para a nutrição na aquicultura (El-Sayed, 1999; Cyrino et al., 2010; Hardy, 2010; Ngandzali et al., 2011). A importância de estudos visando substituir a farinha de peixe por fontes alternativas de menor custo na aquicultura nacional já foi destacada por diversos autores (Cyrino et al., 2010; Fabregat et al., 2011; Lima et al., 2012). Neste contexto, a utilização de fontes proteicas de origem vegetal tem recebido maior atenção.

Os ingredientes proteicos de origem vegetal são geralmente caracterizados por alta solubilidade da proteína em água, deficiência em alguns aminoácidos (metionina e cistina, em especial) e baixo custo de proteína, ou seja, contêm maiores quantidades de proteína por unidade de custo (Gatlin III et al., 2007). A deficiência em aminoácidos geralmente resultante da inclusão destes ingredientes nas dietas, pode ser contornada pela suplementação das dietas com outras fontes proteicas com diferentes perfis de aminoácidos, ou pela utilização de aminoácidos sintéticos (Hardy, 2010; NRC, 2011). Dentre os principais ingredientes de origem vegetal utilizados na formulação e processamento de dietas para animais, pode-se destacar os farelos de soja (FS) e de algodão (FA), o primeiro amplamente utilizado como fonte proteica sucedânea em rações para peixes tropicais. O farelo de soja é considerado o ingrediente vegetal com maior potencial para substituição da FP em dietas para organismos aquáticos, pois apresenta boa disponibilidade e perfil de aminoácidos em quantidades próximas às daquelas das fontes proteicas de origem animal (Pastore et al., 2012). Em geral a limitação da inclusão da soja e seus derivados, principalmente em dietas para espécies carnívoras, está relacionada a problemas que envolvem fatores antinutricionais (FANs) (NRC, 2011). O farelo de algodão,

por outro lado, apresenta bom perfil de aminoácidos, entretanto a presença de gossipol e maiores teores de fibra na sua composição média podem diminuir o CDA do ingrediente (Pezzato et al., 2009), limitando sua inclusão em dietas para peixes.

Os vários fatores antinutricionais presentes nos produtos e co-produtos de origem vegetal podem diferir na sua forma de ação e intensidade dos efeitos, em geral dependentes da espécie animal e do tempo de exposição. Merece destaque também a característica desses fatores resistirem parcialmente ao processamento térmico, empregado comumente na produção de rações para organismos aquáticos (Francis et al., 2001). Entretanto, a geração de novas tecnologias e processos para beneficiamento dos ingredientes vem proporcionando resultados positivos com relação à remoção destes fatores dos alimentos (Oliva-Teles et al., 1994; Kraugeroud e Svihus, 2011).

Neste contexto, o desenvolvimento de concentrados proteicos ganha destaque pela qualidade do produto gerado. Estes ingredientes, quando disponíveis no mercado, apresentam características interessantes para sua utilização em dietas para organismos aquáticos, principalmente para espécies carnívoras, como redução na concentração de alguns FANs (e.g. gossipol), carboidratos e fibras, além da elevação do teor proteico (Peisker, 2001). Apesar do processamento para obtenção do concentrado tornar os ingredientes vegetais mais atrativos para a piscicultura, tanto do ponto de vista ambiental quanto econômico, o aproveitamento da proteína vegetal pode apresentar variação interespecífica, i.e, normalmente peixes carnívoros não respondem à inclusão da proteína de origem vegetal nas rações da mesma forma que peixes onívoros ou herbívoros, ou seja, toleram níveis inferiores de inclusão desses ingredientes em suas dietas (Cyrino et al., 2012).

A criação de peixes nativos vem ganhando espaço na piscicultura nacional, atualmente dominada pela produção de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), principalmente como resultado do desenvolvimento de pacotes tecnológicos para estas espécies (Rodrigues et al., 2012). Como exemplo pode-se destacar o dourado (*Salminus brasiliensis*) peixe nativo e ictiófago por excelência (Esteves e Pinto Lobo, 2001) que, quando confinado, exige uma dieta rica em proteína de alta qualidade, sendo essa exigência um dos maiores entraves para a produção economicamente viável da espécie. Assim sendo, a avaliação de ingredientes com teor elevado de proteína e bons preços de mercado pode fornecer informações importantes para viabilizar a produção comercial da espécie.

Os concentrados proteicos são ingredientes pouco investigados na nutrição de peixes carnívoros, em especial o concentrado de algodão, cuja inclusão em dietas para animais aquáticos ainda não existem registros que definam níveis de inclusão e possíveis efeitos, tanto

positivos como deletérios, no ritmo de crescimento, na higidez – i.e., parâmetros hematológicos, integridade das vilosidades intestinais etc. – e nos custos de produção. Este trabalho teve então o objetivo de avaliar a digestibilidade dos concentrados proteicos de algodão e soja para o dourado, bem como definir níveis seguros de inclusão de cada concentrado na dieta que proporcionem o melhor desempenho zootécnico, considerando os efeitos de cada nível nos parâmetros hematológicos, na integridade das vilosidades intestinais e na lucratividade auferida pela inclusão destes ingredientes nas dietas para a espécie.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. O dourado, *Salminus brasiliensis*

Apesar de a tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus*, ainda ser a espécie dominante na maioria dos sistemas de produção, a criação de peixes nativos vem crescendo significativamente dentro do cenário aquícola nacional e algumas espécies nativas já merecem destaque, como é o caso dos peixes redondos, tambaqui, *Colossoma macromum*, e pacu *Piaractus mesopotamicus*; dos surubins, *Pseudoplatystoma corruscans* e *P. fasciatum*; e outras espécies que apresentam potencial, como o pirarucu, *Arapaima gigas*, e o dourado, *Salminus brasiliensis* (Actinopterygii: Characiformes: Characidae). O dourado possui ampla distribuição geográfica, sendo encontrado nas bacias dos rios Paraná, Paraguai, Uruguai, São Francisco, Alto rio Chaparé e Mamoré, e nas bacias ligadas à Lagoa dos Patos (Della Flora et al., 2010; Rodrigues et al., 2012; Weingartner e Zaniboni-Filho, 2005, 2010).

O dourado é uma espécie piscívora ou ictiófaga que ocupa o topo da cadeia alimentar (Esteves e Pinto Lobo, 2001). O seu trato digestório é constituído de uma boca relativamente grande, dentes caninos numerosos e resistentes, estômago grande e flácido em formato de Y, seguido de cecos pilóricos numerosos e um intestino curto (Weingartner e Zaniboni-Filho, 2005, 2010; Della Flora et al., 2010). Dessa forma, o hábito alimentar é, até o presente, o principal entrave para expansão da produção da espécie, pois a exigência de se produzir dietas ricas em proteína de alta qualidade e que sejam prontamente digeridas e absorvidas eleva os custos de produção da espécie. O interesse pelo desenvolvimento de tecnologias voltadas para a produção do dourado em confinamento foi despertado pelo rápido crescimento inicial, facilidade de adaptação à apreensão e ingestão de dietas inertes, bom valor de mercado, potencial para pesca esportiva e pelo fato da espécie figurar na lista de espécies ameaçadas em diversas microbacias no país (Marques, 2002; Della Flora et al., 2010).

Boa parte da literatura disponível sobre o dourado está concentrada na larvicultura da espécie, fase que exige trabalho intensivo e muitas vezes representa a maior dificuldade do sistema de produção (Vega-Orellana, 2003; Mai, 2004). As pesquisas voltadas para a definição das exigências nutricionais do dourado tiveram início em estudos realizados por Borghetti et al. (1990), que avaliavam a influência do teor proteico no crescimento de juvenis da espécie, mas ainda são escassas. Em suma, avaliando níveis de proteína na dieta para alevinos de dourado de dois tamanhos (0,75g e 5,65 g), Teixeira et al. (2010) relataram redução na exigência de proteína dietética, de 57,63 % para 45,40 % PB, concomitante ao aumento do peso inicial dos animais e

a exemplo das demais espécies; a manutenção da relação energia:proteína dietética próxima de 11 kcal g⁻¹ favorece o desempenho da espécie (Borghesi, 2009). A digestibilidade de vários ingredientes convencionais na formulação de dietas para o dourado foi avaliada por Braga et al. (2008), que relataram bons resultados para todas as fontes testadas, exceto para farelo de milho e de trigo, que condicionaram redução nos coeficientes de digestibilidade. Finalmente, o fornecimento de dietas extrudadas melhora o coeficiente de digestibilidade da energia e do amido em dietas para a espécie, entretanto os carboidratos como fonte principal de energia não são recomendados (Moro et al., 2017).

Quando alimentado com ingredientes proteicos de origem animal em substituição à farinha de peixe, o dourado apresentou respostas positivas ao fornecimento das dietas que continham farinha de vísceras de aves entre 22,9 e 35,9 % e hidrolisado de fígado suíno até o limite de 14 % (Donadelli et al., 2019; Lorenz et al., 2018). Contudo, quando os estudos foram direcionados para avaliação do uso de ingredientes proteicos de origem vegetal em substituição à FP nas dietas, as respostas variaram notadamente. Avaliando a inclusão de farelo de soja, farelo de algodão e farelo de amendoim em substituição à farinha de peixe em dietas para juvenis de dourado, Cruz (2018) relatou reações inflamatórias no intestino e redução significativa ($P < 0,05$) do desempenho dos animais que receberam dietas com inclusões superiores a 50 % de farelo de soja. Os animais que receberam dietas contendo os farelos de algodão e amendoim também apresentaram quadros de enterite, entretanto, não apresentaram queda no desempenho. A inclusão do concentrado proteico de soja (CPS) em substituição à FP nas dietas de juvenis de dourado permitiu a manutenção do desempenho até o nível de 37 % de substituição, a partir do que a inclusão de CPS na dieta prejudicou o desempenho e a manutenção da homeostase da mucosa intestinal (Corrêa, 2016).

2.2. Produção e utilização de concentrados proteicos na aquicultura

2.2.1. Concentrado proteico de algodão (CPA)

O farelo de algodão (FA) tem ganho destaque dentre os principais ingredientes de origem vegetal e vem sendo utilizado como fonte proteica em rações para peixes. Em geral, existe a necessidade de tratamento do FA com óxido férrico a fim de minimizar a ação do gossipol livre, fator antinutricional presente no algodão que pode complexar o ferro no trato intestinal impedindo a absorção do mineral (El-Sayed, 1999; Salero et al., 1999; Waldroup e Kersey, 2002; Lee et al., 2002; Kleeman et al., 2009). A baixa absorção de ferro dietético pode gerar um quadro de anemia e valores abaixo da faixa normal para a taxa de hemoglobina e

porcentagem hematócrito geralmente são registrados em animais alimentados com dietas contendo níveis elevados de gossipol livre. Outro efeito tóxico relatado na presença de gossipol inclui a geração de metabólitos de oxigênio, como os radicais livres superóxido e peróxido de hidrogênio, os quais podem comprometer a integridade e resultar em maior fragilidade das membranas dos eritrócitos, o que pode causar quadros de hemólise (Rinchard et al., 2003; Garcia-Abiado et al., 2004, Kleeman et al., 2009). Sendo assim, a avaliação hematológica é de fundamental importância para avaliação do estado de saúde dos peixes quando estes são alimentados com coprodutos de algodão que podem conter gossipol. Segundo Martin (1990), somente a forma livre do gossipol é tóxica para os animais. Dessa forma, os coprodutos de algodão com baixa concentração ou isentos de gossipol livre podem ser incluídos na alimentação de peixes, sem causar prejuízos ao desempenho produtivo e saúde dos animais.

O farelo de algodão é uma fonte proteica de boa qualidade e baixo custo, sendo que os níveis utilizados em dietas para peixes têm sido superiores àqueles recomendados para os demais não ruminantes. De fato, estudando a inclusão de FA em dietas para o bagre-do-canal (*Ictalurus punctatus*), Barros et al. (2002) relataram que níveis de 27,5 % de FA utilizado como sucedâneo proteico não comprometeu o desempenho da espécie. Avaliando a inclusão de FA como substituto da FP em dietas para o “barred knifejaw” (*Oplegnathus fasciatus*) com dois pesos iniciais (3-22 g e 55-120 g), Lim e Lee (2009) relataram que os níveis de substituição que proporcionaram o melhor desempenho para cada peso inicial foram 20 e 30 %, respectivamente, indicando que animais mais velhos apresentam uma melhor resposta à inclusão de algodão nas dietas. Avaliando a inclusão de FA em dietas para juvenis (0,96 g) de truta arco-íris (*Onchorhynchus mikyss*), Lee et al. (2002) descrevem que o desempenho dos animais não foi afetado negativamente até o nível de 15 % de inclusão. Da mesma forma, a substituição de FS por FA em dietas para alevinos de piau (*Leporinus macrocephalus*) não causa prejuízos ao desempenho da espécie (Galdioli et al., 2008; Souza et al., 2018).

Embora os resultados registrados representem uma certa segurança nos níveis de FA que podem ser incluídos nas dietas, existem dificuldades na utilização comercial do FA na formulação e processamento de rações por conta das variações na composição química e no valor energético do farelo associados às diferentes formas de processamento da semente para a obtenção do óleo, o que dificulta a formulação das rações (Paiano et al., 2008, 2014). Os elevados teores de fibra, com 17,92 % FDA, 25,15% FDN e 13,96 % de fibra bruta (NRC, 2011), são características, em geral, de ingredientes com baixos conteúdos em energia digestível para não ruminantes (Pozza et al., 2003; Fracalossi et al., 2012). Dessa forma, o processamento que elimine a presença do gossipol e reduza a porcentagem de fibra presente

nestes ingredientes pode ser uma alternativa para aumentar as inclusões nas dietas e reduzir as possíveis alterações fisiológicas por eles provocadas.

Os métodos utilizados para desenvolver um concentrado proteico incluem a precipitação com álcool, precipitação isoeletrica, precipitação com álcool e solução alcalina com precipitação isoeletrica (Liu et al., 2001; Yu et al., 2007). Um dos primeiros processamentos registrados para a produção do concentrado proteico de algodão foi desenvolvido e publicado através de uma patente em 1976¹, como ilustrado na Figura 1.

Figura 1. Esquema adaptado de produção do concentrado proteico de algodão.

O desenvolvimento do concentrado proteico de algodão data do final dos anos 1970, mas as técnicas empregadas para a obtenção do produto permanecem basicamente inalteradas. O produto final obtido (CPA) foi desenvolvido como fonte proteica alternativa voltada à nutrição humana, de forma que não foram realizados testes para avaliar a eficiência dessa fonte proteica na nutrição animal, peixes em particular. Dessa forma, não existem informações relacionadas à digestibilidade do CPA para peixes, espécies carnívoras em particular, da mesma forma que pouco se sabe sobre como a inclusão deste ingrediente na dieta afeta o desempenho zootécnico, a integridade das células intestinais, as condições hematológicas, bem como a viabilidade econômica da utilização deste ingrediente nas dietas.

¹ Gardner Jr., H.K., Hron Sr., R.J., Vix, H.L., and Ridlehuber, J.M. 1976. U.S. Patent No. 3.972.861. U.S. Patent and Trademark Office, Washington, DC, USA.

2.2.2. Concentrado proteico de soja (CPS)

A soja é uma das principais fontes de proteína e energia dietéticas e, atualmente, um dos principais produtos produzidos pela agricultura no mundo, sendo utilizada na alimentação animal em diversas formas: crua, farelos, isolados, concentrados proteicos (Butolo, 2002). A utilização de soja em dietas para peixes pode apresentar algumas complicações relacionadas à estrutura globular de suas proteínas, que pode dificultar a ação de enzimas digestivas (proteolíticas), exigindo assim que esta seja processada antes de ser fornecida. Apesar desta característica, o farelo de soja (FS), principal coproduto da soja utilizado na nutrição de peixes, apresenta digestibilidade entre 80 a 90 % para as espécies onívoras e entre 67 a 90 % para as carnívoras nativas (Côrrea, 2016). Esta variação está diretamente relacionada à qualidade do FS utilizado nas formulações, o nível de inclusão nas dietas, a sensibilidade específica do animal e também a quantidade e caracterização dos fatores antinutricionais presentes no produto (Francis et al., 2001; Borghesi et al., 2009; NRC, 2011).

Entre os componentes caracterizados como FANs dos derivados de soja utilizados como ingredientes proteicos, estão incluídos: β -amilase, lectina, lipoxigenase, urease, inibidor de Kunitz (inibidor de tripsina) e inibidor de Bowman-Birk (inibidor de tripsina), além de metabólitos secundários como isoflavonas, saponinas, ácido fítico, oligossacarídeos e goitrógenos. Além disso, a soja é rica em fósforo de baixa disponibilidade, uma vez que cerca de 70% deste está ligado ao ácido fítico e este não pode ser aproveitado pelos organismos aquáticos (Butolo, 2002; Côrrea, 2016).

Ingredientes pouco processados têm baixa digestibilidade, principalmente para peixes carnívoros, que não conseguem aproveitar de maneira eficaz os nutrientes presentes neste tipo de alimento (Gonçalves e Carneiro, 2003). O processamento térmico é um dos mais aplicados nos coprodutos de soja, no entanto, esse tipo de processamento pode reduzir a disponibilidade de aminoácidos. A lisina, por exemplo, é um aminoácido essencial que quando exposto a altas temperaturas pode sofrer a reação de Maillard, formando complexos com carboidratos e gerando a fructil-lisina, ou ainda sendo convertido para formas que não podem ser aproveitadas pelos peixes (L- ou D- lisina) (Butolo, 2002; NRC, 2011).

A necessidade de processamento adicional, para que não ocorram problemas com não ruminantes, levou ao desenvolvimento de diversos tipos de processamento e produtos daí oriundos (Peisker, 2001). O desenvolvimento do concentrado proteico de soja (CPS) representa um grande avanço em direção à possibilidade de inclusão de soja em dietas de peixes,

principalmente quando se considera os peixes carnívoros. Os concentrados proteicos vegetais, especificamente o de soja (CPS), ganham importância em relação ao farelo, principalmente pela qualidade do produto final. O mercado também está respondendo de forma positiva a estes ingredientes, como exemplo, as previsões para o ano de 2020 indicam que serão utilizados $2,8 \times 10^6$ t de CPS somente para formulação e processamento de rações para organismos aquáticos (“aquafeeds”) (FAO, 2013).

Para a obtenção do CPS, o óleo é removido da fração proteica não solúvel em água, por meio de lavagens com etanol ou hexano, que atrai os açúcares não digestíveis (rafinose e estaquiose) presentes na soja. A lavagem com solução de etanol propicia a remoção e a desnaturação dos fatores antinutricionais da soja, além da eliminação de lipídios residuais do processo de extração do óleo (Figura 2) (Carvalho, 2011).

Figura 2. Esquema de produção do concentrado proteico de soja, adaptado de Peisker (2001).

Apesar das variações entre as formas de obtenção e também dos solventes utilizados para chegar ao produto final, este tipo de processamento, quando bem executado, consegue remover boa parte dos fatores antinutricionais presentes na soja (Butolo, 2002). Alguns dos fatores antinutricionais já descritos como resistentes, principalmente ao processamento térmico, como os goitrogênios, fito estrógenos, saponina e fitatos, geralmente são também removidos de

maneira eficaz (Butolo, 2002). Para os animais não ruminantes em geral, e especialmente para os peixes, a presença desses compostos no alimento limita sensivelmente a digestibilidade dos nutrientes e pode também aumentar o tempo de trânsito gastrointestinal, resultando em menor consumo de ração (Pastore et al., 2012). Apesar dos diversos benefícios, a soja apresenta deficiências relacionadas aos aminoácidos sulfurados e, logicamente, o CPS apresenta as mesmas deficiências (Kaushik et al., 1995). Baixos níveis de metionina em dietas para peixes são diretamente relacionados à piora no desempenho dos animais, assim, quando níveis elevados de CPS são adicionados às dietas, faz-se necessária a suplementação com os aminoácidos deficientes ou fazer “combinações” de ingredientes com composições complementares para que se obtenham os melhores resultados (Mambrini et al., 1999; Boonyoung, Haga e Satoh, 2012; Portz e Furuya, 2012).

A resposta fisiológica apresentada pelos peixes quando alimentados com ingredientes vegetais está relacionada ao hábito alimentar, às exigências nutricionais de cada espécie e ao tempo de exposição a determinado FANs (NRC, 2011). Portanto, é importante que estudos sejam realizados para quantificar níveis seguros de inclusão para cada espécie. Resultados da inclusão do CPS em substituição à FP nas dietas, principalmente em relação aos efeitos no ritmo de crescimento, foram relatados para algumas espécies de peixes e camarões e demonstram o bom potencial do CPS para ser utilizado como sucedâneo proteico (Tabela 1).

Tabela 1. Compilação de estudos de desempenho, onde houve a inclusão da proteína do CPS em substituição a FP, em diferentes espécies comerciais para a aquicultura.

Espécie	Peso inicial	Melhor substituição	Suplementação	Referência
	g	%		
Tilápia-do-Nilo (<i>O. niloticus</i>)	0,21	100	-	Ribeiro (2012)
Tilápia-do-Nilo (<i>O. niloticus</i>)	24,5	100	-	Ribeiro (2012)
Salmão do Atlântico (<i>Salmo salar</i>)	100,0	35	-	Storebakken; Shaerer e Roem (1998)
Truta arco-íris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	7,2	49	Metionina	Boonyoung, Haga e Satoh (2013)
Truta arco-íris (<i>O. mykiss</i>)	106,0	50	Metionina	Mambrini et al. (1999)
Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)	1,6	100	Metionina	Zhao et al. (2010)
Beijupirá (<i>Rachycentron canadum</i>)	-	50	MOS	Salze (2010)
Pargo (<i>Sparus aurata</i> L.)	26,8	40	Metionina	Kokou et al. (2016)
Linguado (<i>Platichthys stellatus</i>)	12,8	40	Metionina, Lisina e betaína	Li et al. (2015)
Dourado (<i>Salminus brasiliensis</i>)	101,3	37	Metionina	Corrêa (2016)
Camarão tigre (<i>Penaeus monodon</i>)	1,5	50	-	Paripatananont (2001)
Camarão branco (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	3,36	61	Metionina	Sá et al. (2013)
Camarão branco (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	2,48	28	Metionina	Bauer (2012)

A utilização de farelo de soja como substituto a FP apresenta bons resultados com substituições até 60% (Gatlin III et al., 2007), mas quando se utiliza o CPS em dietas para tilápia a substituição pode ser total, sem necessidade de suplementação com aminoácidos sulfurados (Zhao et al., 2010; Ribeiro 2012). Entretanto quando ocorre a substituição da FP em dietas para carnívoros, esta proporção normalmente é reduzida para valores inferiores a 50% (ver Tabela 1). Os valores de substituição discriminados na Tabela 1 indicam que o CPS pode substituir a farinha de peixe em pelo menos 37% para o dourado, que foi o carnívoro que permitiu a menor inclusão para manutenção do desempenho, mesmo havendo suplementação com aminoácidos sulfurados. Apesar de inferior à inclusão permitida para espécies onívoras, a inclusão de CPS descrita para as espécies carnívoras representa um grande avanço, principalmente quando se considera não recomendável incluir mais que 10% de FS em dietas para peixes carnívoros (Urán et al., 2009; Bowyer et al., 2013). Quando realizadas substituições totais da FP em dietas para carnívoros, mesmo utilizando derivados refinados como CPS, observa-se, na maioria dos casos, declínio no ritmo de crescimento, ainda que haja suplementação com aminoácidos sulfurados (metionina) (Salze et al., 2010; Boonyoung, Haga e Satoh, 2012). Sendo a deficiência em

aminoácidos sulfurados dos ingredientes derivados de soja um dos principais fatores que limitam o crescimento dos peixes, a suplementação com aminoácidos sintéticos parece não ser suficiente para permitir substituições superiores a 37%. É provável que, nestes casos, o crescimento dos peixes carnívoros esteja refletindo a depleção de algum nutriente ou que a presença de FANs, mesmo em porcentagens menores, esteja limitando de alguma forma o crescimento desses animais (Côrrea, 2016).

Se o concentrado proteico de soja apresenta potencial para ser avaliado como fonte de proteína na nutrição carnívoros, é interessante então estudar a inclusão deste ingrediente na dieta do dourado (*S. brasiliensis*), avaliando sua digestibilidade e o seu efeito no desempenho zootécnico, na integridade das células intestinais, nas condições hematológicas e as possíveis implicações econômicas, comparativamente aos resultados obtidos com a inclusão do concentrado proteico de algodão para a espécie.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado em três ensaios executados no Laboratório de Nutrição de Peixes, Setor de Piscicultura do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ). O projeto de pesquisa foi realizado sob aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-ESALQ), conforme o protocolo 2016-19 (Apêndice A).

Em um primeiro ensaio, foram avaliados os coeficientes de digestibilidade aparente da proteína de quatro ingredientes para o dourado: farelo de algodão (FA), farelo de soja (FS), concentrado proteico de algodão (CPA) e concentrado proteico de soja (CPS). No segundo ensaio, níveis crescentes de concentrado proteico de algodão (CPA) e concentrado proteico de soja (CPS) foram adicionados a uma dieta basal prática em substituição à farinha de peixe (FP), que foi administrada a juvenis de dourado a fim de estudar o efeito do uso dos sucedâneos proteicos no desempenho zootécnico, parâmetros hematológicos, integridade de vilosidades intestinais de juvenis de dourado e ao termino do ensaio foi realizada a análise da viabilidade econômica da inclusão destes ingredientes nas dietas para a espécie. No terceiro ensaio, realizado com auxílio do laboratório de Laboratório de Microscopia Eletrônica aplicada à Pesquisa Agropecuária (NAP/MEPA) da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, foi avaliada por meio de microscopia eletrônica de varredura, a integridade do intestino de juvenis de dourado alimentados com concentrado proteico de algodão (CPA) em função do tempo de exposição ao ingrediente.

3.1. Concentrados proteicos utilizados

Os concentrados proteicos utilizados neste estudo foram fornecidos pela empresa Maxprotein Pesquisa Indústria e Comércio Ltda. (Piracicaba, SP), empresa incubada no sistema ESALQTec. Contemplada com recursos da linha de financiamento Pesquisa Inovativa em Pequenas Empresas (PIPE) da Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado de São Paulo (FAPESP), Processo 2014/50609-4, a empresa desenvolve produtos voltados à alimentação animal cuja principal característica é a alta solubilidade conseguida por processamento desenvolvido especificamente com este propósito. No ano de 2017 a empresa foi considerada uma das 100 “startups” mais promissoras do país, a primeira na categoria agronegócio. Os passos do processamento utilizados pela empresa ocorrem sob segredo industrial, mas a composição em aminoácidos dos concentrados utilizados nos estudos, gentilmente informada pela empresa, é apresentada no apêndice B.

3.2. Digestibilidade da proteína de farelos e concentrados proteicos de algodão e soja para o dourado (*Salminus brasiliensis*)

3.2.1. Dietas experimentais

O coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) foi determinado através do método indireto, com o uso de óxido de cromo (Cr_2O_3 ; 0,1%) como marcador inerte. A dieta referência foi formulada com ingredientes práticos, extrudada em matriz de 3 mm, seca em estufa (45°C) por 24 horas e armazenada em câmara fria (-5°C) até sua utilização (Tabela 2). As dietas-teste foram obtidas pela substituição de 30% da dieta referência por farelos de algodão e soja e concentrados proteicos de algodão e soja.

Tabela 2. Formulação e composição centesimal (% de matéria natural) da dieta referência utilizada no ensaio de digestibilidade.

Ingredientes	Inclusão %
Farelo de soja	23,20
Farinha de peixe	30,00
Farelo de milho	8,00
Farelo de trigo	14,98
Amido	16,70
Óleo de soja	5,00
Metionina	0,50
Lisina	0,50
Pré mistura mineral e vitamínica §	1,00
BHT ‡	0,02
Óxido de cromo	0,10
Composição centesimal	
Proteína bruta (%)	40,72
Extrato etéreo (%)	7,96
Fibra bruta (%)	3,44
Energia bruta (kcal kg ⁻¹)	4271,10

§ pré mistura mineral e vitamínica (Premix Nutrifish Guabi®, Campinas, SP) – enriquecimento por kg do produto: Fe 15.000 mg; Cu 15.000 mg; Zn 12.500 mg; I 375 mg; Mn 12.500 mg; Se 87.5 mg; Co 125 mg; vitamina A 2.500.0000 UI; vitamina D₃ 600.000 UI; vitamina E 37 500 UI; vitamina K 3 750 mg; vitamina C 50.000; vitamina B₁ 4.000 mg; vitamina B₂ 4.000 mg; vitamina B₆ 4.000 mg; vitamina B₁₂ 4.000 mg; ácido pantotênico 12.000 mg; biotina 15 mg; ácido fólico 1.250 mg; niacina 22.500 mg; BHT 15.000 mg

‡ butil-hidroxi-tolueno.

Os coeficientes de digestibilidade aparente da proteína bruta das dietas foram calculados utilizando a fórmula adaptada por Fracalossi et al., 2012:

$$CDA (\%) = 100 - \left[100 \left(\frac{\%Cr_2O_{3R}}{\%Cr_2O_{3F}} \right) \left(\frac{\%N_F}{\%N_R} \right) \right]$$

em que: CDA = coeficiente de digestibilidade aparente; $\%Cr_2O_3 R$ = porcentagem óxido de crômio na ração; $\%Cr_2O_3 F$ = porcentagem de óxido de crômio nas fezes; $\%N_F$ = porcentagem do nutriente nas fezes; e $\%N_R$ = porcentagem de nutriente na ração.

O cálculo da individual da digestibilidade da proteína dos ingredientes testados foi feito a partir da seguinte equação (NRC, 2011):

$$CDA_{ingr} = CDA_{teste} + \left[(CDA_{teste} - CDA_{ref}) \cdot \left(\frac{0,7 \times N_{ref}}{0,3 \times N_{ingr}} \right) \right]$$

em que: CDA_{ingr} = coeficiente de digestibilidade aparente do ingrediente; CDA_{teste} = coeficiente de digestibilidade aparente da dieta teste; CDA_{ref} = coeficiente de digestibilidade aparente da dieta referência; N_{ref} = porcentagem do nutriente na dieta referência; N_{ingr} = porcentagem do nutriente no ingrediente.

3.2.2. Peixes e condições experimentais

Juvenis de dourado ($30,3 \pm 0,5$ g) foram distribuídos em grupos de 30 indivíduos ($n = 3$) e estocados em gaiolas alojadas em caixas de polipropileno (1.000 L). Os animais foram adaptados à dieta experimental por um período de dez dias e a partir de então foram alimentados até a saciedade aparente em três refeições diárias (08h30m, 13h30m e 17h30m) com as dietas-teste. Após a terceira refeição, os peixes eram anestesiados (benzocaína $0,5 \text{ g } 10 \text{ L}^{-1}$) e transferidos para tanques cilíndrico-cônicos (200 L) onde eram mantidos por 12 horas para coleta de fezes por sedimentação. Durante o período de coleta o fotoperíodo foi ajustado para 12 h claro/escuro e todo o sistema mantido sob renovação de água e aeração constante. Os parâmetros de qualidade de água foram monitorados durante todo o período experimental com auxílio de uma sonda eletrônica multiparâmetros (Water Quality Monitor Horiba® U-52).

3.2.3. Coleta e análise de fezes

As fezes foram coletadas por sedimentação (sistema Guelph adaptado) em recipientes refrigerados, centrifugadas (3.000 g; 4 °C; 12 min.) e imediatamente armazenadas (-80 °C). Após liofilização e remoção manual das impurezas (e.g. escamas) com auxílio de lupa e pinça, as amostras das fezes e das dietas marcadas foram submetidas à análise centesimal de acordo com a metodologia estabelecida pela “Association of Official Analytical Chemists” (AOAC, 2000). A quantificação do óxido de cromo foi realizada por espectrometria de absorção atômica após digestão ácida.

3.3. Avaliação de níveis de inclusão de concentrado proteico de algodão e soja como fonte proteica em dietas para o Dourado (*Salminus brasiliensis*)

3.3.1. Dietas experimentais

As dietas utilizadas neste estudo foram formuladas para conter 41% de proteína bruta (PB) e 4600 kcal kg⁻¹ de energia bruta (EB), conforme a recomendação da literatura para a espécie (Borghesi et al., 2009; Teixeira et al., 2010; Cyrino, Fracalossi e Roubach, 2012). Foram formuladas onze dietas experimentais, sendo uma deita controle (0% de substituição) e cinco dietas contendo níveis crescentes de cada fonte de proteína (concentrado) (20%, 40%, 60%, 80% e 100%) em substituição à farinha de peixe (FP) (Tabela 3).

Para a composição das dietas, os ingredientes foram homogeneizados e as misturas extrudadas (Extrusora Imbramaq Labor PQ-30; 110 °C; matriz de 3 mm), secas em estufa de recirculação por 24 horas (45°C), e armazenadas em câmara fria (-5°C) até o momento da utilização. Amostras das dietas foram coletadas encaminhadas para o ESALQ-LAB (Departamento de Zootecnia ESALQ-USP) para realização das análises de composição centesimal.

Tabela 3. Formulação das dietas basais utilizadas no experimento de desempenho de dourados e composição centesimal das dietas (matéria natural).

Ingredientes	Dietas experimentais										
	Basal	20% CPA	40% CPA	60% CPA	80% CPA	100% CPA	20% CPS	40% CPS	60% CPS	80% CPS	100% CPS
	----- % -----										
CPS [¶]	-	-	-	-	-	-	7,10	14,20	21,30	28,40	35,50
CPA [°]	-	7,10	14,20	21,30	28,40	35,50	-	-	-	-	-
Far. de peixe	35,50	28,40	21,30	14,20	7,10	0	28,40	21,30	14,20	7,10	0
Glutenose [¶]	10,00	11,50	13,00	15,0	16,10	17,23	11,30	12,00	13,20	14,00	15,00
Far. vísceras	12,00	12,00	12,00	12,0	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00	12,00
Milho - Grão	21,00	23,12	24,54	23,82	23,77	20,50	24,03	24,03	23,83	23,08	20,68
Farelo de trigo	15,00	13,00	11,00	10,0	9,00	10,00	11,00	11,00	11,00	9,00	10,00
Óleo de soja	2,88	1,90	1,50	1,2	1,00	1,00	2,55	2,15	1,7	1,80	1,80
Lisina	0	0,05	0,21	0,36	0,51	0,65	0	0	0	0	0
Celulose	1,50	0,81	0,13	0	0	0	1,50	1,20	1,00	0,80	0,40
CaHPO ₄ [▲]	0	0	0	0	0	1,00	0	0	0,65	1,70	2,50
BHT [°]	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Premix [£]	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
NaCl	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Flavorizante [#]	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Composição química das dietas											
Matéria seca	92,50	92,80	93,10	93,20	93,00	93,20	94,40	94,50	94,40	93,90	94,00
Extrato etéreo	9,46	7,46	5,65	3,65	3,99	3,77	8,62	6,64	4,87	4,06	3,32
Proteína bruta	39,60	39,60	41,00	42,30	40,60	41,50	40,50	41,30	41,90	42,00	42,90
Matéria mineral	16,00	13,40	13,70	10,60	9,20	8,21	12,70	11,60	10,40	9,69	9,28
Energia bruta (kcal kg ⁻¹)	4761,1	4741,5	4699,5	4779,3	4819,6	4840,9	4695,4	4640,7	4766,1	4758,9	4740,5
Relação E/P [¤] (kcal g ⁻¹)	12,02	11,97	11,46	11,30	11,87	11,66	11,59	11,24	11,37	11,33	11,05

[¶] concentrado proteico de soja

[°] concentrado proteico de algodão

[¶] farelo de glúten (concentrado proteico) de milho, 60 % de proteína

[▲] fostato bicálcico

[°] butil-hidroxi-tolueno

[£] pré mistura mineral e vitamínica (Premix Nutrifish Guabi[®], Campinas, SP) – enriquecimento por kg do produto: Vit. A, 1.750.000 UI; Vit. D3, 375.000 UI; Vit. E, 20.000 UI; Vit. K₃, 500mg; Vit. B1, 2.000mg; Vit. B₂, 2.500mg; Vit. B₆, 2.500 mg; Vit. B₁₂, 5.000 mg; Ác. Fólico, 625mg; Pantotenato Ca, 7.500mg; Vit. C, 37.500mg; Biotina, 50mg; Inositol, 12.500mg; Niacina, 8.750mg; Colina, 100.000mg; Co, 50mg; Cu, 1.250mg; Fe, 15.000mg; I, 100mg; Mn, 3.750mg; Se, 75mg; Zn, 17.500mg.

[#] hidrolisado de fígado suíno (como “attractant” - estimulante do apetite; Sampaio-Oliveira e Cyrino, 2008; Lorenz, 2018)

[¤] relação energia:proteína

3.3.2. Delineamento experimental

Juvenis de dourado ($20,3 \pm 1,2$ g) foram agrupados aleatoriamente ($n = 15$) e alojados em 33 caixas de polietileno (300 L) abastecidas em fluxo contínuo por sistema de recirculação de água com filtragem biológica e mecânica, sob aeração contínua e com temperatura ($24,5$ °C) e fotoperíodo (12h claro : 12h escuro) controlados, em um delineamento experimental

inteiramente casualizado com 11 tratamentos ($n = 3$), e alimentados em duas refeições diárias (08h30m e 17h30m) até a saciedade aparente por 90 dias com as dietas experimentais. Temperatura da água, oxigênio dissolvido e pH foram aferidos diariamente através de uma sonda eletrônica multiparâmetros (“Water Quality Monitor” Horiba® U-52) e amônia total aferida semanalmente através de kit colorimétrico. As médias registradas para estes parâmetros foram: pH $6,9 \pm 0,3$; oxigênio dissolvido $5,5 \pm 0,4 \text{ mg L}^{-1}$; amônia total $< 0,02 \text{ mg L}^{-1}$, valores adequados ao conforto ambiental da espécie (Serafini, 2005).

3.3.3. Amostragem e análise bromatológica

Ao final do ensaio os peixes foram submetidos a um jejum de 12 horas e anestesiados em solução de benzocaína ($0,5 \text{ g } 10 \text{ L}^{-1}$) para a biometria. Três animais por unidade experimental foram eutanasiados (benzocaína $2,0 \text{ g } 10 \text{ L}^{-1}$) e então embalados e congelados para avaliação da composição química. A composição da carcaça foi avaliada no ESALQ-LAB (Departamento de Zootecnia), sob a metodologia estabelecida pela AOAC (2000): a matéria seca foi determinada pelo método gravimétrico, a 105°C até a manutenção do peso constante; a proteína bruta foi determinada pelo método de Kjeldhal; o extrato etéreo foi determinado por hidrólise ácida; a matéria mineral por incineração em mufla (600°C). Dois animais foram aleatoriamente amostrados de cada unidade experimental e eutanasiados (benzocaína $2,0 \text{ g } 10 \text{ L}^{-1}$) para a excisão de vísceras e fígado. Utilizando-se os dados coletados na biometria e na avaliação das vísceras e fígado, foram calculados os seguintes índices (Fracalossi et al., 2012): consumo de ração (g); ganho de peso [GP (g) = peso final – peso inicial]; conversão alimentar aparente (CAA = consumo de ração / ganho de peso); taxa de eficiência proteica [TEP (%) = $100 \times (\text{ganho de peso} / \text{proteína bruta consumida})$]; taxa de crescimento específico {TCE (g dia^{-1}) = $100 \times [(\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial}) / \text{número de dias}]$ }; sobrevivência [SOB (%) = $100 \times (\text{número de peixes final} / \text{número de peixes inicial})$]; relação hepatossomática [RHS (%) = $100 \times (\text{peso do fígado} / \text{peso corporal total})$]; relação víscerosomática [RVS (%) = $100 \times (\text{peso das vísceras} / \text{peso corporal total})$].

3.3.4. Análise econômica

A análise econômica dos dados foi realizada pelo método da maximização do lucro (Griffiths et al., 1993; Varian, 2006; Yamamoto et al., 2017; Donadelli et al., 2019). A função lucro foi definida como a diferença entre a receita obtida com a venda do produto e os custos de produção do sistema para cada tratamento, conforme a equação (1):

$$L_{ij} = R_{ij} - C_{ij} \quad (1)$$

em que: L_{ij} : função lucro; R_{ij} : receita obtida com a venda do produto; e C_{ij} : custos de produção do sistema, sendo i = substituição gradual da farinha de peixe na composição da ração, e j = número de repetições.

A receita foi igual ao preço de venda do peixe multiplicado por sua respectiva quantidade produzida, de acordo com equação (2):

$$R_{ij} = P \cdot Y_{ij} \quad (2)$$

em que: R_{ij} : é a receita obtida com a venda do produto; P : preço de venda do peixe; e Y_{ij} : quantidade produzida.

O custo considerado foi igual ao somatório dos preços de cada componente da ração multiplicado por suas respectivas quantidades consumidas, conforme equação (3):

$$C_{ij} = (W_{ij1} \cdot X_{ij1} + W_{ij2} \cdot X_{ij2} + \dots + W_{ijn} \cdot X_{ijn}) \quad (3)$$

em que: C_{ij} : custo; W_{ij} : preço do componente da ração; e X_{ij} : quantidade de ração consumida.

Desta forma, pôde-se reescrever a função lucro (L_{ij}) de acordo com a equação (4):

$$L_{ij} = P \cdot Y_{ij} - [(W_{ij1} \cdot X_{ij1} + W_{ij2} \cdot X_{ij2} + \dots + W_{ijn} \cdot X_{ijn})] \quad (4)$$

Finalmente, estimou-se uma função lucro em função do percentual de farinha de peixe introduzida na ração, conforme equação (5):

$$L_{ij} = f(i) \quad (5)$$

A forma funcional utilizada para o modelo foi a quadrática, estimada através de método de mínimos quadrados ordinários, segundo Gujarati e Porter (2011).

Para o cálculo do custo de produção das dietas consumidas foram considerados apenas os valores dos componentes que apresentavam variação nas dietas: farinha de peixe (R\$ 4,95), concentrado proteico de algodão (R\$ 2,20) e de soja (R\$ 3,50) (valores informados pela fornecedora dos concentrados). Assim, o custo das fontes proteicas utilizadas foi calculado como R\$ kg⁻¹ de ingrediente, valores de março de 2018, e o custo de venda considerado por kg de peso vivo de dourado produzido foi de R\$ 20,00.

3.3.5. Análise hematológica

Após o final dos procedimentos biométricos, três peixes de cada repetição foram amostrados para coleta de sangue, utilizando seringas de 1,0 mL com agulhas (0,60 x 25 mm) heparinizadas (5000 UI mL⁻¹) para coletar 500 µL de sangue por punção do vaso caudal. A contagem do número de eritrócitos foi realizada pelo método de hemocitômetro em câmara de Neubauer, utilizando um volume total de 10 µL de sangue suspenso em tampão formol citrato na proporção de 1:200 (v:v). A taxa de hemoglobina foi determinada colorimetricamente pelo método de cianometahemoglobina e a porcentagem de hematócrito foi determinada pelo método do microhematócrito. A leitura da proteína plasmática foi realizada com auxílio de um refratômetro manual de Goldberg. As análises foram realizadas e os índices hematimétricos calculados conforme Ranzani-Paiva et al. (2013), sendo:

- Volume corpuscular médio (VCM):

$$VCM = \frac{\% \text{ hematócrito} \times 10}{N^{\circ} \text{ eritrócitos}}$$

- Concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM):

$$CHCM = \frac{\text{hemoglobina} \times 100}{\% \text{ hematócrito}}$$

3.3.6. Análise histológica

Os intestinos amostrados foram divididos em três porções iguais, e a porção média (porção b, Figura 3) foi selecionada para ser avaliada em microscopia óptica. A fixação das amostras de tecidos intestinais foi realizada pela imersão das amostras por duas horas em solução de paraformaldeído 4% em tampão fosfato de sódio (PBS) 0,1 M, pH 7,2. Após fixação as amostras foram seccionadas em blocos de 3 mm e armazenadas em solução de paraformaldeído 4% em PBS a 3 °C por doze horas. Em seguida, os tecidos foram lavados com solução de PBS 0,1 M, pH 7,2, desidratados em soluções com concentrações crescentes de etanol (30, 50, 70, 90 e 100%), pré-infiltrados em soluções de etanol e resina (3:1; 2:1 e 1:1) e infiltrados com 100% de resina glicol metacrilato (Technovit®, 7100, Kulzer). Os blocos foram então imersos em histomoldes com resina adicionada de endurecedor e mantidos em anaerobiose a 3 °C durante sete dias. Em seguida os excessos de resina foram removidos e os blocos polidos, fixados em suportes de madeira, seccionados em cortes longitudinais não

sequenciais (5 μ m; micrótomo manual EasyPath) e corados com hematoxilina e eosina. A leitura das lâminas foi realizada em microscópio óptico, acoplado a um analisador de imagem Bel Photonics (BIO3T) para realização das medidas de: altura de vilosidade, largura de vilosidade, camada serosa e camada muscular (Côrrea, 2016; Cruz, 2018).

Figura 3. Trato gastrointestinal de dourado, iniciando no estômago (Y), seguido pelos cecos pilóricos (CP) e intestino anterior (a), intestino médio (b) e intestino posterior (c).

3.3.7. Análise estatística

Os dados foram submetidos à verificação de normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e Liliefors e de homogeneidade pelo teste de Levene. Cumpridas as exigências de normalidade, os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de médias de Tukey ($\alpha = 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas em aplicativo Statistica® 7.0 (STASOFT, 2004), segundo fundamentos metodológicos e bibliográficos de Pimentel-Gomes (2009), Snedcor e Cochran (1989) e Steel e Torrie (1980).

3.4. Integridade do intestino médio de dourados alimentados com dietas contendo concentrado proteico de algodão

3.4.1. Dietas e delineamento experimental

Juvenis de dourado ($20,3 \pm 1,6$ g) foram agrupados aleatoriamente ($n = 25$), alojados em quatro tanques de polipropileno (300 L), abastecidos em fluxo contínuo por sistema de recirculação de água com filtragem biológica e mecânica, sob aeração contínua e com temperatura ($26,1$ °C) e fotoperíodo (12h claro : 12h escuro) controlados, e alimentados em duas refeições diárias (08h30m e 17h30m) até saciedade aparente por três semanas com dietas práticas contendo farinha de peixe ou concentrado proteico de algodão como principal fonte proteica (Tabela 4). Ao longo do período de alimentação, subgrupos foram amostrados aleatoriamente para coleta e análise histológica comparativa de tecido do trato gastrintestinal.

Tabela 4. Formulação das dietas basais utilizadas no experimento de avaliação da estrutura intestinal de dourados (matéria natural).

Dietas experimentais		
Ingredientes	100% FP	100% CPA
	----- % -----	
CPA [◊]	-	35,50
Glutenose [¶]	10,00	17,23
Far. de peixe	35,50	-
Far. vísceras	12,00	12,0
Milho - Grão	21,00	20,50
Farelo de trigo	15,00	10,0
Óleo de soja	2,88	1,00
Lisina	-	0,65
Celulose	1,50	0
CaHPO ₄ [▲]	-	1,00
BHT [⊙]	0,02	0,02
Premix [£]	1,00	1,00
NaCl	0,10	0,10
Flavorizante [#]	1,00	1,00

[◊] concentrado proteico de algodão

[¶] farelo de glúten (concentrado proteico) de milho, 60 % de proteína

[▲] fostato bicálcico

[⊙] butil-hidroxi-tolueno

[£] pré mistura mineral e vitamínica (Premix Nutrifish Guabi®, Campinas, SP) – enriquecimento por kg do produto: Vit. A, 1.750.000 UI; Vit. D₃, 375.000 UI; Vit. E, 20.000 UI; Vit. K₃, 500mg; Vit. B₁, 2.000mg; Vit. B₂, 2.500mg; Vit. B₆, 2.500 mg; Vit. B₁₂, 5.000 mg; Ác. Fólico, 625mg; Pantotenato Ca, 7.500mg; Vit. C, 37.500mg; Biotina, 50mg; Inositol, 12.500mg; Niacina, 8.750mg; Colina,

100.000mg; Co, 50mg; Cu, 1.250mg; Fe, 15.000mg; I, 100mg; Mn, 3.750mg; Se, 75mg; Zn, 17.500mg
 # hidrolisado de fígado suíno (como “attractant” - estimulante do apetite; Sampaio-Oliveira e Cyrino, 2008; Lorenz et al., 2018)

3.4.2. Coleta e preparação de amostras

A amostragem de tecido do trato gastrointestinal foi realizada aos 7, 14 e 21 dias a contar do início da alimentação. Para tanto, dois peixes de cada unidade experimental foram aleatoriamente coletados, eutanasiados (benzocaína; 2,0g 10 L⁻¹) e laparatomizados. O trato intestinal excisado, isolado, arbitrariamente dividido em três porções, conforme sugerido por Rodrigues e Menin (2008) (ver Figura 3), sendo a porção média (b) coletada para consequente avaliação. A porção coletada foi aberta longitudinalmente sobre papel filtro, lavada em soro fisiológico (0,9 %) e em solução tampão fosfato-salino (PBS), e em seguida subdividida em segmentos de 3 mm que foram armazenadas em tubos Eppendorf (1,0 mL) em fixador Karnovsky (2,5% glutaraldeído, cacodilato de sódio 0,1 M e CaCl₂ 0,001M) a 3 °C (Ribeiro, Reis Filho e Grötzner, 2012). Após fixação, as amostras foram processadas e analisadas no Laboratório de Microscopia Eletrônica aplicada à Pesquisa Agropecuária (NAP/MEPA) da ESALQ/USP. Para tanto, as amostras foram removidas do fixados, lavadas com tampão cacodilato de sódio 0,1 M duas vezes por 10 minutos, desidratadas em soluções de etanol em concentrações crescentes (30, 50, 70 e 90 %; 10 minutos), finalizando com dois banhos de quinze minutos em solução de etanol 100%. As amostras foram então secas com o auxílio de um aparelho de secagem de ponto crítico (Leica CPD300), aderidas a suportes metálicos (*stubs*) recobertos com papel alumínio, e metalizadas com ouro paládio (40 nm) a vácuo. Os blocos foram armazenados em frascos desumidificados (sílica gel) para posterior análise ao microscópio eletrônico de varredura (LEO VP-435, Carl Zeiss). A caracterização morfológica dos segmentos foi feita a partir da captura e análise de vinte imagens por amostra de segmento.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Digestibilidade da proteína do farelo algodão e soja e concentrado proteico de algodão e soja para dourado

A função primordial da inclusão dos concentrados proteicos nas dietas é servir como fonte de proteína, logo, o ingrediente dietético que deve ser mais bem aproveitado pelos peixes. Os farelos de algodão e soja diferiram ($P < 0,05$) quanto aos coeficientes de digestibilidade aparente da proteína (CDA_{PB}), mas o processamento dessas fontes (concentrado X farelo) não teve grande influência nesse resultado. Não existem dados que permitam uma avaliação comparativa do CDA_{PB} do CPA, logo a avaliação da digestibilidade do FA é o ponto de comparação para a espécie. Apesar de o CDA_{PB} do FA e o CPA não diferir ($P > 0,05$), a proteína digestível (PD) foi 9,9 % maior ($P < 0,05$) no CPA em comparação ao FA (Tabela 5).

Tabela 5. Composição centesimal (matéria natural) dos concentrados proteicos farelos de algodão e soja e coeficiente de digestibilidade aparente da proteína dos ingredientes para juvenis de dourado ($30,3 \pm 0,5$ g) (valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem, $P < 0,05$).

Fonte proteica	PB [¶]	EE [⊙]	EB [§]	MM [▲]	CDA_{PB} ^Π	PD [⊠]
	%	%	kcal kg ⁻¹	%	%	%
CPA [⊙]	56,0	3,7	5014	6,6	92,6 (1,0) ^b	51,80 (1,5) ^b
Farelo de algodão	46,1	4,6	4751	4,4	90,9 (3,4) ^b	41,90 (1,4) ^c
CPS [‡]	58,4	4,4	5525	5,5	96,8 (0,8) ^a	55,48 (0,5) ^a
Farelo de soja	47,1	5,2	4685	2,8	98,7 (1,2) ^a	46,46 (0,6) ^d
<i>P-value</i>	-	-	-	-	0,0038	0,0012

[⊙] concentrado proteico de algodão

[‡] concentrado proteico de soja

[¶] proteína bruta

[⊙] extrato etéreo

[§] energia bruta

[▲] matéria mineral

^Π coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta

[⊠] proteína digestível

Concentrações de gossipol livre inferiores a 60 mg kg⁻¹ de ingrediente são consideradas não tóxicas para peixes (NRC, 2011). A concentração de gossipol livre no FA utilizado foi de 1.386,1 mg kg⁻¹ e no CPA esse valor foi reduzido para 65,1 mg kg⁻¹. A redução na concentração de gossipol registrada nestes ingredientes pode ser utilizada como um bom indicador da capacidade de remoção de FANs proporcionada pelo processamento dos farelos (de soja) em concentrados proteicos. A avaliação da digestibilidade de ingredientes em peixes define a inserção de novos ingredientes no mercado de rações para a piscicultura (Sugiura et al., 1998;

Davies et al., 2011). O coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) mede a eficácia com que um determinado organismo é capaz de digerir e absorver nutrientes (NRC, 2011). A proteína é o nutriente mais limitante no crescimento dos peixes: é à base da deposição de músculo e também uma importante fonte de energia (Kaushik e Seiliez, 2010). O bom aproveitamento da proteína dos derivados de algodão avaliados serve como bom indicador da qualidade da proteína presente nestes ingredientes e da capacidade de aproveitamento de ingredientes vegetais apresentada pelo dourado. Avaliando a digestibilidade do farelo de algodão (30,88% PB) para tilápia-do-Nilo (*O. niloticus*), Pezzato et al. (2002) registraram um CDA de 74,87% para a proteína bruta. Da mesma forma, a digestibilidade da fração proteica do FA (38,90% PB) para o pacu (*P. mesopotamicus*) foi de 86,00% (Abimorad e Carneiro, 2004). A partir dessas observações, infere-se que conforme ocorreu o aumento na fração proteica do ingrediente testado, houve também aumento no CDA_{PB} para o farelo de algodão, como ocorreu no presente estudo, onde o FA (46,10% PB) e o CPA (56,00% PB) apresentaram CDA_{PB} mais elevados, 90,9% e 92,6%, respectivamente. O bom aproveitamento da proteína dos ingredientes derivados de algodão pelo dourado também deve ser ressaltado, considerando que espécies carnívoras normalmente não apresentam bom aproveitamento de proteína de origem vegetal (Tacon, 1995; Hardy, 2010).

Comparativamente, o FS e o CPS apresentaram CDA_{PB} superior ($P < 0,05$) aos registrados para os derivados de algodão. Bons resultados de digestibilidade de CPS em dietas também foram relatados para peixes carnívoros como o salmão do atlântico (*Salmo salar*) (85,1%), a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (92,7%) e o linguado (*Scophthalmus maximus*) (83%) (Storebakken, 1998; Mambrini et al., 1999; Day e Gonzalez, 2000). A elevação no teor proteico registrado nos concentrados é atribuída, principalmente, à remoção de grande parte dos carboidratos presentes nestes ingredientes (Singh et al., 2008). Nesse sentido, alguns FANs presentes no grão de soja possuem base proteica e poderão ser encontrados em concentrações mais elevadas no concentrado do que em ingredientes menos processados, como o FS (Oetterer et al., 2006). Entretanto, a concentração desses FANs derivados de soja pode ser bastante variável e esta variação está intimamente relacionada às oscilações registradas para os valores de CDA_{PB} para algumas espécies (Hart; Bharadwaj e Brown, 2010). Além disso, apesar dos concentrados apresentarem uma redução considerável no teor de carboidratos e fibras (Lusas e Riaz, 1995; NRC 2011), alguns compostos podem ser conservados no processamento e interferir de modo negativo na digestibilidade do alimento, dificultando o processo de digestão pelos animais (Côrrea, 2016).

Apesar da semelhança no CDA_{PB} dos ingredientes avaliados, a proteína digestível apresentou os melhores resultados para os concentrados proteicos. Logo, pode-se recomendar a utilização tanto do CPA quanto do CPS como fontes de proteína digestível em dietas para o dourado. A presença de FANs de origem proteica, principalmente, nos ingredientes derivados de soja, não afetou a digestibilidade da proteína. Por outro lado, estudos de digestibilidade têm um período de duração curto, de forma que possíveis efeitos negativos gerados pela presença desses FANs nestes ingredientes não são usualmente detectados, assim, estes efeitos são mais bem descritos em estudos de desempenho, que permitem avaliar tais efeitos em um período de exposição prolongado.

4.2. Avaliação de desempenho de dourado alimentado com concentrados proteicos de algodão e soja em substituição à farinha de peixe

4.2.1. Desempenho zootécnico

As médias para os parâmetros de qualidade de água monitorados durante o período experimental foram: pH $6,9 \pm 0,3$; oxigênio dissolvido $5,5 \pm 0,4 \text{ mg L}^{-1}$, e amônia total $< 0,02 \text{ mg L}^{-1}$. A variação dos parâmetros monitorados é considerada adequada ao conforto ambiental da espécie (Serafini, 2005).

A baixa sobrevivência durante as fases iniciais de desenvolvimento é considerada um grande entrave na produção comercial do dourado (Ribeiro e Nuñez, 2008). O elevado canibalismo apresentado pela espécie nestas fases é extremamente prejudicial para a avaliação do desempenho, uma vez que definir qual o alimento realmente consumido pelos animais – dieta seca ou itens da atividade predatória – fica muito difícil ou mesmo impossível. Geralmente, em ambientes confinados o canibalismo está relacionado à heterogeneidade do lote, mas também pode ser induzido por fatores ambientais ou externos como densidade de estocagem, fotoperíodo e, principalmente, qualidade e quantidade do alimento (Schütz e Nuñez, 2007).

A utilização de farelo de soja como substituto total da farinha de peixe em dietas para o baiacu (*Takifugu obscurus*) não afeta negativamente a sobrevivência dos peixes (Ye et al., 2019). Avaliando a inclusão de concentrado proteico de soja para dourado (peso inicial 101,3 g) em substituição a farinha de peixe, Corrêa (2016) relatou que a sobrevivência foi superior a 90%, quando a substituição foi inferior a 80%, e provavelmente por conta do peso inicial dos animais, não foram registrados casos de canibalismo. Entretanto, Lorenz et al. (2018) relataram a ocorrência de canibalismo, e consequentemente, redução da sobrevivência, quando a farinha

de peixe foi substituída por hidrolisados proteicos na dieta de juvenis de dourados (4,5 g). A sobrevivência dos animais neste experimento foi variou de 91,1 a 100% e também não foram registrados casos de canibalismo, provavelmente devido à homogeneidade dos lotes de peixes, às condições experimentais (e.g. densidade, fotoperíodo e qualidade de água) em que os animais foram mantidos, o porte inicial médio ($20,3 \pm 0,3$ g) e as dietas utilizadas.

Não foram registradas diferenças ($P > 0,05$) para os parâmetros de peso final (PF), ganho de peso individual (GPI), taxa de crescimento específico (TCE), taxa de eficiência proteica (TEP) e conversão alimentar aparente (CAA) (Tabela 6). O ganho de peso registrado não diferiu ($P > 0,05$) entre os tratamentos, porém as médias observadas demonstram um comportamento que sugere melhores respostas com o aumento na substituição da FP pelo CPA; já no caso do CPS, uma combinação entre os ingredientes (FP e CPS) proporciona as melhores médias observadas para este parâmetro (Figura 4).

Tabela 6. Parâmetros de desempenho zootécnico de dourados [μ (SEM); $n = 3$] alimentados com dietas contendo níveis crescentes de concentrado proteico de algodão (CPA) ou soja (CPS) em substituição à farinha de peixe (FP).

Tratamentos	PF	GPI	TCE	TEP	CAA	Sobrevivência
	g	g	%	%		%
Controle	51,0 (1,7)	31,3 (1,3)	1,6 (0,1)	7,3 (0,3)	1,6 (0,1)	97,8 (2,2)
20% CPA	51,0 (1,8)	31,3 (1,6)	1,9 (0,1)	7,3 (0,4)	1,6 (0,1)	97,8 (2,2)
40% CPA	53,7 (2,3)	33,4 (1,8)	1,9 (0,1)	7,8 (0,4)	1,6 (0,1)	97,8 (2,2)
60% CPA	56,5 (2,2)	36,1 (1,9)	1,7 (0,1)	8,4 (0,4)	1,6 (0,1)	93,3 (3,8)
80% CPA	55,6 (2,1)	35,1 (1,6)	1,8 (0,1)	8,2 (0,4)	1,7 (0,1)	95,6 (2,2)
100% CPA	58,6 (0,9)	38,7 (0,4)	1,9 (0,1)	9,0 (0,1)	1,6 (0,1)	95,6 (4,4)
20% CPS	56,1 (2,7)	35,5 (2,5)	1,5 (0,1)	8,2 (0,6)	1,6 (0,1)	91,1 (2,2)
40% CPS	56,5 (4,4)	36,4 (4,5)	1,8 (0,1)	8,5 (1,0)	1,5 (0,1)	97,8 (2,2)
60% CPS	57,4 (1,1)	37,1 (0,8)	1,9 (0,1)	8,6 (0,2)	1,5 (0,1)	97,8 (2,2)
80% CPS	59,7 (1,9)	39,2 (1,7)	1,9 (0,1)	9,1 (0,4)	1,6 (0,1)	95,6 (4,4)
100% CPS	57,3 (0,6)	37,0 (0,6)	2,0 (0,1)	8,6 (0,1)	1,6 (0,1)	100,0 (0)
<i>P-value</i>	0,172 ^{ns}	0,161 ^{ns}	0,204 ^{ns}	0,162 ^{ns}	0,703 ^{ns}	0,658 ^{ns}

^{ns} não significativo ($P = 0,05$)

Figura 4. Ganho de peso individual [μ (SEM); $n = 3$] de juvenis de dourado alimentados com dieta contendo concentrado proteico de algodão (CPA) e concentrado proteico de soja (CPS) em substituição à farinha de peixe (FP).

A formulação de dietas para peixes carnívoros é um processo complexo que exige conhecimento de diversas características da espécie, principalmente em relação às limitações de níveis adequados de inclusão de nutrientes (Tacon, 1995). O dourado, apesar de carnívoro por excelência, apresenta boas respostas produtivas quando alimentado com ingredientes vegetais de caráter energético: farelo de trigo, farelo de milho e farelo de arroz (Braga, 2009). Entretanto, as respostas apresentadas pela espécie quando alimentada com dietas contendo fontes de proteína de origem vegetal, principalmente o farelo de soja, demonstram limitações nos níveis de inclusão que, em geral, não devem ser superiores a 30% (Borghesi et al., 2009). As dietas formuladas para utilização neste estudo foram baseadas nessa recomendação e o máximo nível de inclusão dos concentrados testados nas dietas foi fixado em 35,5% da dieta basal (100% de substituição da FP; ver Tabela 3).

Alguns peixes carnívoros, salmonídeos em especial, são altamente sensíveis à inclusão de soja em suas dietas, sendo que níveis de inclusão superiores a 10% podem causar redução do desempenho e respostas inflamatórias (Urán, 2009; Krogdahl et al., 2010). Por outro lado, a substituição total (56% da dieta basal) de farinha de peixe por concentrado proteico de soja não causou alterações na resposta de crescimento de juvenis de esturjão híbrido (*Acipenser schrenckii* ♀ $\times$ *Acipenser baerii* ♂) (Wang et al., 2016), o que indica que a resposta à inclusão de um determinado ingrediente nas dietas é altamente dependente da espécie utilizada como modelo e do processo de manufatura pelo qual o ingrediente testado foi obtido ou ao tratamento a que foi submetido. A avaliação de coprodutos do algodão como fonte proteica para o dourado

foi pouco explorada, sendo que os relatos de inclusão de farelo de algodão nas dietas para peixes demonstram que este apresenta algumas limitações como fonte proteica, permitindo porcentagens de inclusão semelhantes ao registrado para o farelo de soja. Avaliando a inclusão de FA para a herbívora carpa capim (*Ctenopharingodon idella*), Zheng et al. (2012), por exemplo, relataram um bom desempenho até o nível de 35% de substituição da farinha de peixe; Bu et al., (2017) utilizando farelo de algodão em dietas para o “ussuri catfish” *Pseudobagrus ussuriensis*, relataram limitação ao nível de 25% de inclusão na dieta para manutenção do desempenho, e que valores superiores podem ocasionar redução de ganho de peso e alterações no sistema imune e no funcionamento do fígado. Finalmente, a substituição da farinha de peixe por concentrados proteicos em dietas para truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) pode ser realizada em até 30%, sem causar danos ao desempenho e as estruturas intestinais (Moniruzzaman et al., 2018).

Assim, a resposta registrada no ganho de peso dos dourados está também relacionada ao melhor conteúdo proteico, à remoção da fibra e à menor concentração de fatores antinutricionais nos concentrados testados. O desempenho registrado nos animais alimentados com CPA em substituição à FP demonstra melhora no ritmo crescimento concomitante à inclusão do CPA na dieta. Em geral, o entrave descrito no uso de farelo de algodão como fonte proteica está relacionado ao elevado teor de fibras que contém. Porém a presença do fator antinutricional gossipol, que tem impacto negativo principalmente no fígado, na pigmentação muscular, nos parâmetros hematológicos e nas gônadas, pode também causar redução nos parâmetros produtivos.

O ritmo de crescimento dos animais alimentados com as dietas contendo CPS indica que níveis superiores a 80% de substituição da FP por CPS podem ocasionar redução do ganho de peso. Levando em consideração que alguns dos FANs presentes na soja, como inibidores de proteases, lectinas e hemaglutininas, são compostos classificados como proteicos (NRC, 2011), a remoção destes através do processo de obtenção de um concentrado proteico é limitada (Singh et al., 2008). Logo, a diminuição da resposta produtiva registrada nos animais alimentados com as dietas com maior inclusão de CPS pode estar relacionada às maiores concentrações destes FANs no CPS.

A substituição total da FP por ingredientes vegetais nas dietas para peixes carnívoros, em muitos casos, não é recomendada, tanto por sua qualidade nutricional quanto pelos problemas derivados da elevada inclusão de ingredientes vegetais (e.g. fatores antinutricionais e palatabilidade) (Refstie et al., 2001). Avaliando o consumo de ração do salmão do Atlântico, Espe et al. (2006) defendem a farinha de peixe como ingrediente essencial na formulação de

dietas para esta espécie, e advertem que dietas isentas de FP podem causar redução de até 13% o consumo de ração dos animais.

A redução do consumo de ração pelos peixes quando alimentados com dietas contendo porcentagens mais elevadas de ingredientes vegetais, geralmente está associada à baixa palatabilidade e à deficiência em proteína ou aminoácidos essenciais específicos. Essa diminuição nas taxas de ingestão de alimento pode, também, ser uma resposta do organismo para prevenir ou retardar a ocorrência de alterações fisiológicas e/ou metabólicas em função da presença de fatores antinutricionais (Krogdahl et al., 2010). O consumo de ração pelos dourados não foi influenciado pelo aumento nos níveis de inclusão de CPA e CPS em substituição à FP. De maneira geral, o uso de um flavorizante como estimulante do apetite (e.g. hidrolisado de fígado suíno; Lorenz, 2018) por conta da substituição total da farinha de peixe nas dietas (Sampaio-Oliveira e Cyrino, 2008), parece ter sido um fator determinante para a manutenção do consumo da ração. Utilizando o hidrolisado de fígado suíno como substituto da FP para dourado, Lorenz et al., (2018) sugerem que a inclusão do hidrolisado aumentou atratividade nas dietas, principalmente como resultado da presença dos peptídeos livres presentes neste ingrediente. A relação entre o consumo de ração e o ganho de biomassa total registrada durante o período experimental, demonstra que o consumo de ração foi estável entre os tratamentos e diretamente proporcional ao ganho de biomassa total para os animais alimentados com CPA (Figura 5). O consumo de ração aumentou com a inclusão de CPS na dieta, entretanto, o ganho de biomassa total apresentou tendência semelhante ao registrado para o ganho de peso individual (Figura 6).

Figura 5. Consumo de ração e ganho de biomassa total de dourados alimentados com dietas contendo níveis crescentes de concentrado proteico de algodão em substituição à farinha de peixe.

Figura 6. Consumo de ração e ganho de biomassa total de dourados alimentados com dietas contendo níveis crescentes de concentrado proteico de soja em substituição à farinha de peixe.

A conversão alimentar (aparente; CAA) não diferiu entre os tratamentos ($P > 0,05$) e apresentou valores entre 1,5 e 1,7. A conversão alimentar de dourados em fases iniciais do ciclo de produção é bastante variável, dependendo principalmente da qualidade das dietas utilizadas e das condições experimentais. Variando os níveis de proteína em dietas baseadas em farinha de peixe para o dourado (peso inicial 5,63 g.), Teixeira et al. (2010) registraram melhores CAAs (1,37) para os peixes alimentados com as dietas contendo 41,18% de PB. Quando dourados (peso inicial 26,98 g) foram alimentados com dietas contendo FS como substituto da FP, Dairiki (2009) registrou valores de CAA entre 1,8 e 2,2 e utilizando CPS em substituição à FP para o dourado (peso inicial 101,3 g), Corrêa (2016) registrou piora gradativa na CAA (1,2 para 2,5) concomitante ao aumento da substituição da FP pelo CPS. Em concordância ao descrito por estes autores, a conversão alimentar registrada nesse estudo pode ser considerada satisfatória. Entretanto, ao contrário do relatado por Corrêa (2016), nesse estudo o uso dos concentrados nas dietas não prejudicou a conversão alimentar, mesmo nos níveis mais elevados de inclusão.

A proteína dietética é um dos fatores que tem maior impacto no desempenho de peixes em confinamento (NRC, 2011). A qualidade e a quantidade da proteína fornecida em uma dieta influenciam diretamente o desempenho dos animais. Apesar dos esforços para minimizar a diferença do teor proteico entre os ingredientes testados (e.g. farinha de peixe e os concentrados) e manter os níveis de substituição, a diferença na proteína bruta das dietas

(Tabela 3) pode ter afetado diretamente o ganho de peso, proporcionando as menores médias para o tratamento controle, que também apresentou o menor valor de proteína bruta na dieta (39,60%). De acordo com as alterações no teor proteico, a relação energia:proteína (EB:PB – kcal g⁻¹ PB da dieta) foi reduzida linear e proporcionalmente à inclusão dos concentrados na dieta, apresentando valores entre 12,2 e 11,05 (Tabela 3). Esta variação está diretamente relacionada ao conteúdo proteico dos ingredientes avaliados, sendo influenciada principalmente pelos concentrados proteicos, que apresentam maior teor de proteína em relação à FP utilizada. Borghesi (2009) avaliou a melhor relação energia:proteína pra juvenis de dourado (5,65 g.) e relatou melhor desempenho para os peixes alimentados com a dieta de relação EB:PB = 10,65 (45,08% de PB e 4.600,00 kcal de EB). Entretanto o mesmo autor estimou através de regressão segmentada que a relação EB:PB que apresentaria melhor conversão alimentar para o dourado seria de 10,92. O excesso de energia não proteica registrado em dietas com alta relação EB:PB pode levar a redução no consumo do alimento, prejudicando a ingestão adequada de proteína pelo animal, já que o consumo é determinado, essencialmente, pela energia disponível na dieta (NRC, 2011; Portz e Furuya, 2012). Assim, a relação EB:PB utilizada estava próxima ao considerado ideal para a espécie; entretanto, conforme esta relação se aproximou do valor descrito por Borghesi (2009), houve um aumento nas médias registradas para ganho de biomassa e consumo de ração, como registrado nas Figuras 5 e 6.

A diferença no conteúdo proteico das dietas experimentais é, claramente, um reflexo do teor proteico dos concentrados testados. Porém, mesmo as dietas com maior teor proteico não influenciaram as respostas de desempenho ($P > 0,05$). A proteína ingerida em excesso ou desbalanceada, será utilizada como fonte de energia para os peixes, já que estes apresentam um rota metabólica naturalmente ajustada para utilização da proteína como fonte de energia (Lovell, 1989; Kaushik et al., 2010; Portz e Furuya, 2012), gerando metabólitos nitrogenados que são excretados sem custo energético (Cai, Wermerskirchen e Adelman, 1996). Esse desbalanço proteico ou de aminoácidos, quando não evidenciado no desempenho dos animais, pode se refletir principalmente no conteúdo lipídico das carcaças e no índice hepatossomático (IHS). A composição centesimal e os índices hepatossomático e viscerossomático (IVS) não diferiram ($P > 0,05$) entre os tratamentos (Tabela 7).

Tabela 7. Composição centesimal (matéria natural) e índices hepatossomático e viscerossomático de dourados alimentados com dietas contendo níveis crescentes de concentrados proteicos de algodão (CPA) e soja (CPS) em substituição a farinha de peixe (FP) [μ (SEM); n=6].

Tratamento	Nutrientes				Parâmetros metabólicos	
	MS ‡	MM °	EE ▲	PB ◎	IVS §	IHS ¶
	----- % -----					
Controle	34,8 (1,2)	5,2 (0,1)	8,1 (1,2)	21,2 (0,1)	4,71 (0,1)	1,48 (0,09)
20% CPA	34,5 (2,0)	5,5 (0,3)	8,2 (0,5)	23,2 (0,7)	4,83 (0,2)	1,49 (0,06)
40% CPA	31,9 (0,6)	5,0 (0,3)	5,9 (0,6)	20,0 (0,1)	4,36 (0,1)	1,28 (0,08)
60% CPA	33,1 (1,2)	5,0 (0,2)	6,6 (0,7)	21,1 (0,6)	4,55 (0,2)	1,33 (0,14)
80% CPA	32,9 (1,0)	5,2 (0,3)	5,5 (0,3)	21,2 (0,9)	4,46 (0,1)	1,25 (0,06)
100% CPA	33,8 (1,0)	4,8 (0,3)	7,1 (0,2)	20,5 (0,7)	4,41 (0,1)	1,28 (0,07)
20% CPS	33,8 (1,0)	5,2 (0,3)	7,7 (0,9)	20,6 (0,3)	4,22 (0,1)	1,26 (0,05)
40% CPS	33,9 (0,5)	4,6 (0,1)	6,8 (0,6)	20,1 (0,6)	4,61 (0,2)	1,34 (0,08)
60% CPS	32,8 (1,2)	5,1 (0,6)	5,3 (0,2)	20,8 (1,0)	4,56 (0,1)	1,37 (0,08)
80% CPS	34,0 (1,0)	5,2 (0,3)	6,2 (1,1)	22,1 (0,5)	4,33 (0,2)	1,31 (0,06)
100% CPS	34,1 (0,9)	4,9 (0,1)	7,3 (0,6)	21,5 (0,7)	4,41 (0,2)	1,30 (0,07)
<i>P-value</i>	0,0655 ^{ns}	0,2267 ^{ns}	0,1470 ^{ns}	0,2505 ^{ns}	0,4327 ^{ns}	0,2026 ^{ns}

‡ matéria seca

° matéria mineral

▲ extrato etéreo

◎ proteína bruta

§ índice viscerossomático

¶ índice hepatossomático

^{ns} não significativo (P = 0,05)

Os valores de extrato etéreo determinados na carcaça dos peixes apresentaram uma redução nos valores intermediários de substituição para ambos os concentrados (Figura 7). O aumento registrado no conteúdo de extrato etéreo na carcaça pode indicar que parte da proteína consumida tenha sido utilizada como fonte de energia pelos animais, quando estes foram alimentados com dietas com pelo menos 60% de concentrado. Avaliando exigências de proteína dietética para o dourado, Borghesi (2009) relatou o aumento do extrato etéreo na carcaça quando os animais foram alimentados com baixas porcentagens de proteína na dieta. A inclusão de farelo de algodão em dietas para tilápias-do-Nilo, não influenciou na deposição de gordura na carcaça (Hassan et al., 2019), bem como a substituição da FP por concentrados proteicos em dietas para truta arco-íris não influenciou na composição centesimal dos animais (Moniruzzaman et al., 2018). De maneira geral, a ausência de FP nas dietas pode ter causado um desbalanço no perfil de aminoácidos, a provável e principal causa desta alteração.

Figura 7. Porcentagem de extrato etéreo na carcaça de dourados alimentados com dietas contendo níveis crescentes de concentrado proteico de algodão (CPA) e concentrado proteico de soja (CPS) em substituição à farinha de peixe.

Entretanto, os teores de proteína na carcaça não diferiram ($P > 0,05$), mesmo com as alterações de fonte proteica na dieta, indicativo do bom aproveitamento da proteína dietética, mesmo aquela de origem vegetal. De fato, alimentando dourados com FS em substituição à FP, Dairiki (2009) não registrou diferenças ($P > 0,05$) na composição dos peixes, da mesma forma que os concentrados proteicos de algodão e soja não afetaram a composição dos animais nesse estudo.

A manutenção do IHS em valores constantes conforme a inclusão dos concentrados é um bom indicador da característica proteica apresentada pelos ingredientes; teores elevados de carboidratos dietéticos tendem aumentar o tamanho do fígado de peixes (Moro et al., 2016). Em geral, o IHS é utilizado para quantificar reservas energéticas e alterações metabólicas, bem como indicador de possíveis efeitos nocivos em peixes. Utilizando farelo de soja em dietas para truta arco-íris (*O. mykiss*), Voorhees et al. (2019) registraram maiores valores de IHS nos tratamentos em que houve a combinação das fontes de proteína (FS e FA). Moro et al. (2016) avaliando a relação amido:lipídeos para o dourado, relatou que o índice hepatossomático aumentou de forma linear conforme houve o aumento da relação amido:lipídeo, e atribuiu esta alteração ao maior acúmulo de lipídeos ou glicogênio armazenados neste tipo de tecido. Não foram registradas diferenças ($P > 0,05$) no IHS de dourados alimentados com diferentes relações EB:PB; entretanto, o aumento do conteúdo de energia nas dietas parece influenciar neste índice

(Borghesi, 2009). O equilíbrio do valor energético nas dietas testadas, mesmo com a diferença observada na relação EB:PB, foi determinante para que não houvesse diferença no índice hepatossomático dos dourados neste estudo, sendo que a inclusão dos concentrados proteicos parece não influenciar neste parâmetro.

4.2.2. Avaliação econômica

A substituição da farinha de peixe por concentrados proteicos não influenciou diretamente o consumo de ração e ganho de biomassa pelos peixes (ver Figuras 5 e 6). A determinação do ponto máximo de lucro é uma forma de avaliação importante em estudos que envolvem testes de substituição, inclusão, processamento e diversos outros aspectos relativos ao manejo alimentar e nutrição em aquicultura.

O uso de fontes proteicas de origem vegetal como sucedâneos da farinha de peixe é uma prática já consolidada da indústria de alimentação animal, apesar dos pontos negativos relacionados a alguns componentes presentes nestes ingredientes. Um dos fenômenos decorrentes da substituição da FP nas dietas é a redução do consumo de ração pelos peixes (Espe et al., 2006) e, por consequência, uma redução no crescimento dos animais, afetando a lucratividade da atividade, como registrado para o dourado por Yamamoto et al., (2017) e Donadelli et al. 2019, em avaliações econômicas da substituição da FP por FS e hidrolisado de pena de aves, respectivamente. Neste experimento o consumo de ração se manteve estável durante o período de avaliação, favorecendo o crescimento e gerando mais lucro nas dietas que continham os concentrados proteicos, economicamente mais interessantes que a FP. A partir dos preços, dos parâmetros de ganho de biomassa e consumo de ração, foi calculada a receita, os custos com ração gerando assim os dados de lucro bruto (Figuras 8 e 9).

Figura 8. Regressão linear das médias de lucro (com erro padrão) ($y = 0,0278x + 7,6387$; $R^2 = 0,9271$) em função da participação do concentrado proteico de algodão em substituição à farinha de peixe na dieta de juvenis de dourado.

Figura 9. Regressão linear das médias de lucro (com erro padrão) ($y = -0,0003x^2 + 0,0531x + 7,697$; $R^2 = 0,9701$) em função da participação do concentrado proteico de soja em substituição à farinha de peixe na dieta de juvenis de dourado.

A diminuição da inclusão de FP nas dietas resultou em aumento no lucro (Figura 8), o ponto máximo de lucro ocorrendo com a substituição total da FP pelo CPA (R\$ 10,64) (Tabela 8). A substituição da FP pelo CPS apresentou uma tendência polinomial para os dados, e

aplicando uma análise de regressão para determinar o nível de substituição que geraria mais lucro, obteve-se o valor de 88,5% de substituição gerando um lucro de R\$ 10,05 (Figura 9). O ponto máximo de lucro registrado para os dois concentrados ocorreu nos níveis mais elevados de substituição (100% CPA e 88,5% CPS), um indicativo que a farinha de peixe pode ser substituída com segurança por esses dois ingredientes sem prejudicar a lucratividade da produção. A manutenção do consumo de ração, bem como o ganho de biomassa semelhante apresentado pelos peixes durante o período experimental, gerou maior lucro nos animais arraoados/suplementados com as dietas com menor contribuição da FP.

Tabela 8. Valores calculados para receita (R\$), custo (R\$) e lucro (R\$) para os concentrados proteicos de algodão (CPA) e soja (CPS) utilizados, participação da farinha de peixe (FP) nas dietas e outros ingredientes (OI).

Dietas	FP	CPA	CPS	OI	Biomassa	Ração	Receita	Custo	Lucro
	----- % -----				----- g -----		----- R\$ -----		
Controle, R1	35,5	0	0	64,50	456,90	830,00	9,14	1,02	8,12
Controle, R2	35,5	0	0	64,50	413,50	692,20	8,27	0,85	7,42
Controle, R3	35,5	0	0	64,50	510,20	847,90	10,20	1,04	9,17
20% CPA, R1	28,4	7,1	0	64,50	430,10	762,90	8,60	0,87	7,74
20% CPA, R2	28,4	7,1	0	64,50	479,83	851,00	9,60	0,97	8,63
20% CPA, R3	28,4	7,1	0	64,50	464,97	797,20	9,30	0,90	8,40
40% CPA, R1	21,3	14,2	0	64,50	447,62	814,20	8,95	0,85	8,10
40% CPA, R2	21,3	14,2	0	64,50	469,36	809,40	9,39	0,84	8,54
40% CPA, R3	21,3	14,2	0	64,50	556,56	844,20	11,13	0,88	10,25
60% CPA, R1	14,2	21,3	0	64,50	595,78	813,90	11,92	0,77	11,14
60% CPA, R2	14,2	21,3	0	64,50	526,57	927,50	10,53	0,88	9,65
60% CPA, R3	14,2	21,3	0	64,50	469,94	864,90	9,40	0,82	8,58
80% CPA, R1	7,1	28,4	0	64,50	582,77	1024,30	11,66	0,88	10,77
80% CPA, R2	7,1	28,4	0	64,50	523,61	906,10	10,47	0,78	9,69
80% CPA, R3	7,1	28,4	0	64,50	441,35	787,20	8,83	0,68	8,15
100% CPA, R1	0	35,5	0	64,50	557,82	995,20	11,16	0,77	10,39
100% CPA, R2	0	35,5	0	64,50	571,02	935,70	11,42	0,72	10,70
100% CPA, R3	0	35,5	0	64,50	573,31	831,50	11,47	0,64	10,83
20% CPS, R1	28,4	0	7,1	64,50	507,49	859,20	10,15	1,04	9,11
20% CPS, R2	28,4	0	7,1	64,50	517,53	885,20	10,35	1,07	9,28
20% CPS, R3	28,4	0	7,1	64,50	427,26	737,60	8,55	0,89	7,65
40% CPS, R1	21,3	0	14,2	64,50	389,67	701,20	7,79	0,84	6,95
40% CPS, R2	21,3	0	14,2	64,50	645,15	988,20	12,90	1,18	11,72
40% CPS, R3	21,3	0	14,2	64,50	579,16	907,60	11,58	1,09	10,50
60% CPS, R1	14,2	0	21,3	64,50	561,82	875,80	11,24	1,04	10,20
60% CPS, R2	14,2	0	21,3	64,50	586,26	917,20	11,73	1,09	10,64
60% CPS, R3	14,2	0	21,3	64,50	520,48	894,50	10,41	1,06	9,35
80% CPS, R1	7,1	0	28,4	64,50	545,33	956,00	10,91	1,12	9,79
80% CPS, R2	7,1	0	28,4	64,50	503,51	831,60	10,07	0,97	9,10
80% CPS, R3	7,1	0	28,4	64,50	637,22	1019,90	12,74	1,19	11,55
100% CPS, R1	0	0	35,5	64,50	562,90	941,90	11,26	1,09	10,17
100% CPS, R2	0	0	35,5	64,50	560,71	942,70	11,21	1,09	10,13
100% CPS, R3	0	0	35,5	64,50	535,51	966,50	10,71	1,12	9,59

4.2.3. Condições hematológicas

O perfil hematológico de peixes em confinamento espelha seu estado fisiológico, assim, avaliações hematológicas combinadas com outras avaliações de rotina podem ser utilizadas para auxiliar detectar condições de estresse ou mesmo patologias (Tavares-Dias e Moraes,

2004; Fazio, 2019). As diferenças apresentadas no perfil hematológico de peixes podem ser causadas por diversos fatores (Clauss et al., 2008) e podem variar de acordo com: espécie (Ikechukwu e Obinnaya, 2010), temperatura (Magill e Sayer, 2004), idade (Jamalzadeh e Ghomi, 2009), estresse (Cnaani et al., 2004), estado nutricional (Lim e Klesius, 2003), condição de higiene (Vazquez e Guerrero, 2007), qualidade da água (Ranzani-Paiva et al., 2000), porte, alimentação e densidade de estocagem (Vazquez e Guerrero, 2007). A variedade de fatores que podem interferir na definição de um padrão hematológico considerado como adequado para cada espécie, pode ser um entrave na aplicação destas avaliações em produções aquícolas. Assim sendo, a avaliação do estado fisiológico baseado nas variações hematológicas, para uma espécie que, quando em condições de criação, não tem um padrão hematológico definido, como é o caso do dourado, deve ser realizado com cautela.

Não foram detectadas diferenças ($P > 0,05$) para os valores de hematócrito e concentração de hemoglobina corpuscular (CHCM) dos peixes alimentados com as dietas contendo os diferentes níveis de concentrados proteicos (Tabela 9). De acordo com Larsson et al. (1976), espécies de peixes mais ativas tendem a apresentar valores mais elevados de hematócrito, em geral como resultado do elevado consumo de oxigênio exigido pela atividade do animal. O dourado é um peixe migrador, extremamente ativo e, desta forma, tende a apresentar altos valores de hematócrito. Avaliando o perfil hematológico de dourados capturados no estado de São Paulo, Ranzani-Paiva et al. (2001) relataram valores médios de 43,6% de hematócrito para machos e fêmeas de dourado. Os valores para hematócrito de dourado nesse estudo foram inferiores, sendo semelhantes aos descritos por Dairiki (2009) (32,17~42,92%) e Lorenz et al. (2018) (38,25~44,21%) também para condições experimentais. O ambiente de criação pode ser uma possível explicação para a redução deste parâmetro. De fato, segundo Fazio (2019), o ambiente em que o animal está inserido tem influência direta sobre os parâmetros hematológicos, principalmente por conta de fatores estressores e da alimentação. A adição de níveis crescentes de farelo de algodão em dietas para a carpa capim (*C. idella*) reduziu os valores de hematócrito (45,90~28,20%) concomitantemente ao aumento dos níveis de inclusão de FA nas dietas (Zheng et al., 2012). A inclusão do CPA, no entanto, parece não exercer o mesmo efeito nos dourados, que não apresentaram alterações no hematócrito. Entretanto, os valores registrados para hemoglobina apresentaram redução conforme houve a inclusão do concentrado proteico de algodão.

Tabela 9. Parâmetros hematológicos [μ (SEM); n=6] de dourados alimentados com dietas contendo níveis crescentes dos concentrados proteicos de algodão (CPA) e soja (CPS) em substituição à farinha de peixe (FP). Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem estatisticamente ($P < 0,05$).

Tratamentos	Hemoglobina	Hematócrito	Proteína plasmática	Eritrócitos	VCM [¶]	CHCM [§]
	g dL ⁻¹	%	mg dL ⁻¹	10 ⁴ μ L ⁻¹	fL	g dL ⁻¹
Controle	0,2491 (0,0089) ^{abc}	36,68 (3,11)	5,65 (0,09) ^{abc}	142,58 (3,23) ^d	286,28 (13,73) ^a	0,62 (0,01)
20% CPA	0,2542 (0,0045) ^{abc}	39,45 (3,66)	5,85 (0,07) ^{abc}	162,67 (8,26) ^{cd}	269,08 (16,33) ^{ab}	0,54 (0,02)
40% CPA	0,2388 (0,0060) ^{abc}	41,08 (0,92)	5,64 (0,11) ^{abc}	158,71 (8,76) ^{cd}	266,26 (14,10) ^{ab}	0,58 (0,01)
60% CPA	0,2397 (0,0067) ^{abc}	40,36 (1,11)	5,45 (0,11) ^c	180,17 (7,36) ^{abc}	227,06 (10,59) ^{bc}	0,59 (0,01)
80% CPA	0,2383 (0,0065) ^{abc}	40,75 (1,41)	5,47 (0,11) ^c	172,29 (6,62) ^{bcd}	241,05 (13,35) ^{abc}	0,59 (0,01)
100% CPA	0,2235 (0,0055) ^c	38,42 (1,23)	5,47 (0,09) ^c	175,41 (6,70) ^{bcd}	222,64 (12,90) ^{bc}	0,58 (0,01)
20% CPS	0,2299 (0,0095) ^{bc}	38,27 (1,91)	5,42 (0,11) ^c	161,71 (14,29) ^{cd}	243,10 (17,75) ^{abc}	0,59 (0,01)
40% CPS	0,2546 (0,0049) ^{abc}	42,64 (1,27)	5,44 (0,19) ^c	215,63 (4,47) ^a	199,82 (8,19) ^c	0,60 (0,01)
60% CPS	0,2621 (0,0067) ^a	40,36 (3,78)	5,98 (0,09) ^a	204,54 (8,02) ^{ab}	216,50 (13,55) ^{bc}	0,60 (0,01)
80% CPS	0,2563 (0,0053) ^{ab}	43,25 (0,51)	5,95 (0,06) ^{ab}	214,83 (7,09) ^a	203,38 (6,32) ^c	0,59 (0,01)
100% CPS	0,2494 (0,0062) ^{abc}	41,55 (1,55)	5,56 (0,11) ^{abc}	216,63 (6,40) ^a	192,79 (8,49) ^c	0,61 (0,01)
<i>P-value</i>	0,0007*	0,5758 ^{ns}	0,0001*	0,0001*	0,0043*	0,3552 ^{ns}

[§] volume corpuscular médio

[¶] concentração de hemoglobina corpuscular média

* valores seguidos de mesma letra não diferem estatisticamente ($P < 0,05$)

^{ns} não significativo ($P = 0,05$)

Os valores de hemoglobina diferiram entre os tratamentos ($P < 0,05$), o menor valor (0,22) sendo registrado para a dieta 100%CPA, indicando uma redução linear ($y = -0,0002x + 0,2531$ $R^2 = 0,7792$) desse parâmetro pela presença de CPA nas dietas. A concentração de gossipol, apesar de reduzida no CPA testado (65,1 mg kg⁻¹), possivelmente tenha sido o principal motivo desta alteração, indicando que a espécie é altamente sensível à presença desse composto. A redução severa da hemoglobina em peixes é normalmente associada a casos de anemia (Tavares-Dias et al. 2002). Apesar desta resposta apresentada pelo dourado, dietas que contêm derivados de algodão na sua composição, em geral não afetam negativamente a hematologia de alguns peixes, a exemplo do bagre-do-canal, *Ictalurus punctatus* (Barros et al., 2002). Assim a alteração na hemoglobina deve ser um fator a ser registrado em avaliações de inclusão de derivados algodão nas dietas para o dourado, apesar de não ter causado dano aparente à homeostase do animal durante o período experimental.

A utilização de soja e seus derivados em dietas para peixes, entretanto, parece induzir respostas hematológicas variadas, conforme o produto que está sendo avaliado e o peixe utilizado como modelo para a pesquisa. A utilização de 6% de lecitina de soja (fosfolípido) na dieta de esturjão (*Acipenser stellatus*) afetou positivamente as respostas imunológicas e a

contagem de células vermelhas (Jafari et al., 2018), corroborando afirmações de Krogdahl et al. (2010) referentes ao uso de derivados de ingredientes vegetais como estimulantes do sistema imune. Nesse estudo, a contagem de eritrócitos apresentou valores mais elevados ($P < 0,05$) nos peixes alimentados com dietas contendo CPS. Alterações hematológicas registradas em peixes que receberam derivados de soja em suas dietas, em geral, são relacionadas à presença de hemaglutininas nestes ingredientes (Fazio, 2019). Dessa forma, o aumento nos valores de eritrócitos pode ser entendido como uma resposta do animal ao aumento da inclusão de soja nas dietas e, este aumento, provavelmente associado à presença de hemaglutininas.

4.2.4. Histologia do trato intestinal

A avaliação das estruturas intestinais para carnívoros submetidos a desafios alimentares, com alimentação baseada em ingredientes vegetais, permite a definição de níveis de inclusão mais seguros, que proporcionem bons resultados de crescimento e manutenção do bem-estar do animal (Buddington; Krogdahl e Bakke-McKellep, 1997). As dobras intestinais do dourado foram descritas por Corrêa (2016) como longas e simples, geralmente desprovidas de ramificações. A presença de grande número de células caliciformes também foi descrita para a espécie (Nordi, 2015; Corrêa, 2016; Cruz, 2018). Na avaliação histológica não foram registradas diferenças ($P > 0,05$) para as medidas de altura da dobra, espessura da dobra e submucosa; entretanto a espessura da camada muscular diferiu entre os tratamentos ($P < 0,05$) (Tabela 10). Dourados alimentados com derivados de algodão em suas dietas parecem apresentar, em geral, respostas inflamatórias ou alterações morfofisiológicas do intestino quando os ingredientes alimentares contêm altos teores de fibra (Cruz, 2018). A observação das dobras intestinais e a manutenção das medidas de altura e espessura apresentadas tanto pelo tratamento controle quanto pelos demais tratamentos com inclusão de CPA, sugere que a incorporação desse ingrediente em dietas para a espécie não afeta negativamente a morfofisiologia do intestino médio da espécie (Figura 10).

Tabela 10. Análise das vilosidades intestinais de dourado [μ (SEM); n=9] alimentados com dietas contendo níveis crescentes de concentrados proteicos de algodão (CPA) e soja (CPS) em substituição a farinha de peixe (FP). Valores seguidos de letras diferentes nas colunas diferem estatisticamente ($P < 0,05$).

Tratamento	Altura da dobra	Espessura da dobra	Submucosa	Muscular
----- μm -----				
Controle	1100,04 (48,49)	218,37 (13,43)	85,45 (11,98)	139,42 (10,16) ^b
20% CPA	1022,68 (52,73)	228,89 (16,32)	74,67 (6,64)	158,01 (8,29) ^{ab}
40% CPA	1175,02 (59,60)	198,47 (9,24)	72,23 (9,45)	164,36 (9,53) ^{ab}
60% CPA	950,64 (34,70)	218,69 (9,85)	78,40 (6,24)	173,77 (6,56) ^{ab}
80% CPA	933,89 (39,92)	224,07 (13,22)	80,90 (7,43)	179,68 (11,01) ^{ab}
100% CPA	1136,15 (44,28)	200,97 (16,30)	67,82 (5,47)	146,96 (9,62) ^b
20% CPS	1024,62 (77,08)	226,83 (19,01)	73,41 (5,43)	181,24 (7,80) ^{ab}
40% CPS	976,42 (119,88)	243,72 (23,27)	63,05 (4,40)	172,90 (16,98) ^{ab}
60% CPS	975,60 (57,31)	232,03 (8,63)	82,59 (5,99)	203,83 (12,04) ^a
80% CPS	1024,49 (99,71)	196,84 (22,41)	81,65 (12,44)	163,27 (10,12) ^{ab}
100% CPS	1016,86 (69,54)	223,25 (25,39)	80,85 (6,62)	133,59 (15,60) ^b
<i>P-value</i>	0,2717 ^{ns}	0,6423 ^{ns}	0,6663 ^{ns}	0,0009 [*]

* valores seguidos de mesma letra não diferem estatisticamente ($P < 0,05$)

^{ns} não significativo ($P > 0,05$)

Figura 10. Fotomicrografia do intestino médio de dourados alimentados com a dieta 100%CPA apresentando dobras longas (*) intercaladas por dobras menores(X).

Alterações na altura das dobras estão frequentemente ligadas ao “turnover” de enterócitos, que pode ser acelerado quando em contato com FANs, fazendo com que as vilosidades passem a ser formadas basicamente por células jovens e imaturas, o que pode ocasionar alterações na formação das vilosidades (Chikiwati et al., 2013). Respostas inflamatórias e alterações severas na morfologia intestinal de salmonídeos quando alimentados com dietas contendo produtos derivados de soja foram descritos por Urán et al. (2009) e Krogdahl et al. (2010). Os mesmos autores defendem que inclusões superiores a 10% de produtos baseados em soja nas dietas de salmonídeos podem causar estas alterações na morfologia intestinal das espécies. No caso dos dourados alimentados com o CPS, não foram registradas respostas inflamatórias ou alterações na altura das dobras, mesmo nos animais alimentados com as dietas com a maior inclusão de soja (Figura 11).

Figura 11. Fotomicrografia do intestino médio de dourados alimentados com a dieta 100% CPS apresentando dobras longas (*) intercaladas por dobras menores (X).

Dietas contendo derivados de soja podem reduzir a espessura da camada de muco que protege o intestino, alterando a composição da microbiota e a homeostase do sistema imunológico de peixes (Bansemer et al., 2015; Corrêa, 2016). O registro de resposta inflamatória em salmões alimentados com dietas contendo FS foi descrito por Heikkinen et al. (2006). Entretanto, quando alimentados com dietas contendo FS como fonte proteica, tanto o bagre-do-canal, quanto o robalo (*Dicentrarchus labrax*) ou o “turbot” (linguado ou pregado)

(*Psetta máxima*) não apresentaram esse tipo de resposta inflamatória (Evans et al., 2005; Bonaldo et al., 2008, 2011). Analisando a inclusão de CPS em dietas para o dourado, Corrêa (2016) relatou que a altura das dobras do intestino posterior dos animais diminuiu ($P < 0,05$) com o aumento do nível do concentrado na dieta. No mesmo estudo, a camada muscular também diminuiu com o aumento do nível do concentrado na dieta, porém essa alteração foi bastante modesta ($P > 0,05$).

Na avaliação da camada muscular, os peixes alimentados com as dietas que não apresentavam combinação de ingredientes principais (Controle, 100%CPA e 100%CPS) exibiam as menores médias para este parâmetro e o tratamento que continha 60% de CPS apresentou as maiores médias ($P < 0,05$). A camada muscular é responsável pelo movimento peristáltico e sua espessura pode variar de acordo com a espécie, hábito alimentar e a composição da proteína dietética (Cao e Wang, 2009). O aumento na espessura da camada muscular do intestino de dourados alimentados com FS foi relatado por Cruz (2018) aos 40 dias de alimentação, entretanto, os animais que foram alimentados com FA apresentaram uma redução na espessura da camada muscular. O aumento da espessura registrada na camada muscular pode indicar que a combinação de ingredientes gerou uma maior necessidade de movimento no intestino, com a intenção de facilitar a absorção ou acelerar a passagem do quimo.

4.3. Integridade do intestino médio de dourados alimentados com concentrado proteico de algodão

A característica predominante durante a avaliação foi a presença de dobras altas, contínuas e intercaladas por uma ou mais camadas de dobras mais baixas com protuberâncias arredondadas, e em direção ao lúmen. Ramificações nas dobras contínuas também foram visualizadas (Figura 12). O epitélio intestinal foi caracterizado principalmente pelo padrão hexagonal, formado na superfície do lúmen pelas células colunares e evaginações apresentados pela formação dos enterócitos e algumas áreas de extrusão de células caliciformes.

Figura 12. Dobra principal (vermelho) com ramificações (azul) e dobra secundária contínua (em amarelo) no intestino médio de dourado.

A predominância de dobras altas no intestino médio sugere uma boa manutenção da área de superfície intestinal em função do hábito alimentar e tipo do alimento ingerido, acarretando em melhor condição de absorção dos nutrientes da dieta na porção avaliada. A manutenção do arranjo da mucosa fica ainda mais importante quando se considera a menor extensão do intestino de carnívoros, como o dourado, comparativamente aos herbívoros e onívoros (Becker et al., 2010). A alta densidade de dobras registrada na porção avaliada é uma característica comum e importante entre os peixes de hábito alimentar carnívoro, a exemplo da truta como descrito por Khoasteh et al. (2009).

O arranjo das dobras intestinais relaciona-se diretamente à quantidade e velocidade de transporte do alimento pelo intestino (Seixas Filho et al., 2001; Moraes e Almeida, 2015). Seguindo este raciocínio, o padrão das dobras serve para diminuir a velocidade de passagem do quimo em sentido aboral, possibilitando melhor aproveitamento e digestão dos nutrientes, bem como para auxiliar na distensão das paredes intestinais conforme ocorre a passagem do alimento através do trato gastrointestinal. Conforme registrado, a alteração da fonte de proteína principal na dieta não influenciou na disposição das dobras intestinais, indicando assim que a eficiência na passagem do alimento foi mantida durante o período avaliado.

A análise em microscopia eletrônica de varredura não revelou grandes diferenças morfológicas entre os epitélios intestinais dos peixes do tratamento controle e aqueles alimentados com CPA aos sete dias do período alimentar (Figura 13). Os intestinos dos peixes de todos os tratamentos não apresentaram alterações nos padrões de distribuição e evaginações.

Figura 13. (A) Disposição dos enterócitos no intestino médio de dourado alimentado com a dieta controle por sete dias (barra = 30µm); (B) Disposição dos enterócitos no intestino médio de dourado alimentado com a dieta contendo CPA por sete dias (barra = 30µm).

Na avaliação aos 14 dias após o início da alimentação, foi registrada diferença na morfologia do intestino (Figura 14). Nesta avaliação não foi possível verificar o padrão de

distribuição e evaginações dos enterócitos para os animais que recebiam a dieta contendo CPA. No tratamento controle a observação deste padrão se manteve semelhante ao registrado na avaliação anterior.

Figura 14. (A) Disposição dos enterócitos no intestino médio de dourado alimentado com a dieta controle por 14 dias (barra = 10μm) (seta= célula caliciforme); (B) Padrão irregular dos enterócitos no intestino médio de dourado alimentado com a dieta contendo CPA por 14 dias (barra = 20 μm).

No vigésimo primeiro dia de avaliação, as diferenças registradas com 14 dias na morfologia dos enterócitos eram bem menos visíveis, tornando as observações bastante semelhantes, indicando assim a possível adaptação intestinal do animal à dieta vegetal (Figura

15). Externamente ao epitélio foram observadas zonas de extrusão celular (Figura 16), indicando renovação celular, porém esse processo parece não ter sido influenciado pelas dietas testadas, corroborando fenômeno também relatado por Nordi et al. (2017) estudando o efeito de dietas contendo colostro bovino liofilizado na morfologia do intestino do dourado.

Figura 15. (A) Disposição dos enterócitos no intestino médio de dourado alimentado com a dieta controle por 21 dias (barra = 30µm); (B) Disposição dos enterócitos no intestino médio de dourado alimentado com a dieta contendo CPA por 21 dias (barra = 30 µm).

Figura 16. Processo de extrusão celular (seta) de células caliciformes no intestino médio de dourado (Barra = 20 μ m).

A presença de fatores antinutricionais estimula a renovação das células nas dobras intestinais e, como consequência, a mucosa passa a ser composta principalmente por células imaturas, que podem ter a organização alterada, prejudicando a absorção (Chikiwati et al. 2013). A taxa de renovação das células do intestino de peixes é bastante variável, dependendo da espécie, dieta e temperatura. O tempo de renovação celular, sem desafios digestivos ou metabólicos (e.g., temperatura), registrado no intestino médio para o salmão do Atlântico (*Salmo salar*) é de até 22 dias (Chikiwati et al. 2013). Entretanto, para a carpa comum (*Cyprinus carpio*), por exemplo, esse processo pode ocorrer em três dias (Hemmer et al. 1998). O aumento na velocidade de renovação das células intestinais pode ser diretamente relacionado à alteração na dieta (Chikiwati et al., 2013), ou desafio alimentar observado neste estudo.

Conforme registrado, os animais alimentados com as dietas contendo CPA apresentaram alteração na conformação da superfície intestinal, dificultando a observação do padrão definido para a conformação dos enterócitos, provavelmente devido à necessidade de adaptação ao alimento fornecido. As alterações fisiológicas geradas em peixes podem ser decorrentes da adaptação a uma nova dieta, e podem ser classificadas como reversíveis ou irreversíveis (Moraes e Almeida, 2014). Neste estudo, as alterações registradas podem ser classificadas como reversíveis, considerando que na avaliação final, as estruturas intestinais dos animais que receberam as dietas contendo o concentrado proteico de algodão eram semelhantes àquela dos animais que receberam a dieta controle. Essa observação nos indica uma adaptação importante

apresentada pela espécie para melhorar sua capacidade de aproveitar a proteína vegetal que está sendo fornecida. A utilização de CPA como fonte principal de proteína em dietas para dourado não causou danos às estruturas do intestino, entretanto gerou a necessidade de uma rápida adaptação das células intestinais, provavelmente para a manutenção das características de distribuição das dobras, de forma que o processo de aproveitamento da dieta não fosse prejudicado.

5. CONCLUSÃO

Os coeficientes de digestibilidade da proteína apresentado pelo dourado quando alimentado com os concentrados foi de 92,6% para o concentrado proteico de algodão e de 96,8% para o concentrado proteico de soja, indicando que ambos os concentrados apresentam teores de proteína altamente digestíveis para a espécie. Os concentrados proteicos de algodão e soja podem substituir totalmente a farinha de peixe sem afetar negativamente os parâmetros de desempenho zootécnico do dourado. A inclusão de concentrado proteico de algodão promoveu a redução na hemoglobina registrada nos juvenis de dourado, sendo necessário avaliar esse parâmetro com cautela na utilização de derivados de algodão, principalmente os que apresentarem níveis de gossipol superiores a 60 mg kg⁻¹, em dietas para peixes.

A inclusão de concentrado proteico de soja aumentou a contagem de eritrócitos. Não foram registradas alterações histológicas no trato digestório dos peixes alimentados com fontes de proteína de origem vegetal, indicando o baixo potencial causador de enterite ou demais alterações nas estruturas avaliadas pelos concentrados, mas as avaliações morfológicas das estruturas intestinais indicam que houve a necessidade de adaptação de microestruturas por conta da inclusão de concentrado proteico de algodão nas dietas e que esse período de adaptação ocorreu entre o 7º e o 21º dia de alimentação. A geração de lucro através substituição da farinha de peixe por concentrado proteico de algodão foi maior do que o registrado para o concentrado proteico de soja; considerando que os produtos derivados de soja apresentam valor de mercado mais elevado, o uso do concentrado proteico de algodão na formulação e processamento de dietas para organismos aquáticos se torna mais atrativo.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os produtos derivados de algodão representam uma fração menor do mercado de ingredientes quando comparados aos de soja. Não somente possuem a produção em menor quantidade, como, na maioria dos casos, essa produção é regional. De acordo com os resultados obtidos neste estudo, a inclusão do concentrado proteico de algodão promoveu o crescimento dos peixes sem afetar negativamente os parâmetros hematológicos e histológicos avaliados, além de proporcionar maior receita. Alguns estudos vêm sendo conduzidos avaliando a substituição de derivados de soja por diversos coprodutos de algodão. Esses estudos são justificados pelos elevados custos que o farelo de soja vem alcançando no mercado internacional, tornando os derivados de algodão mais atrativos. De fato, conforme registrado neste estudo, a utilização de concentrado proteico de algodão possibilitou teve uma receita maior. Logo, considerando os diversos fatores que regem a valoração da soja no mercado internacional, em situações de escassez ou de aumento no preço, a utilização do algodão como sucedâneo proteico pode ser aplicada, como forma de manter a qualidade da dieta e manutenção dos custos operacionais.

Em geral, o algodão é utilizado na alimentação de não ruminantes na forma de farelo, e pode ou não apresentar tratamento para a redução de gossipol livre. O gossipol livre pode atuar diretamente na concentração de hemoglobina, reduzindo drasticamente os valores registrados, e em casos de exposição prolongada, anemia. Contando que tenha concentração de gossipol livre inferior a 60 mg kg^{-1} , o farelo de algodão aparece como bom substituto para o farelo de soja, e o concentrado proteico de algodão pode ser utilizado tanto como substituto da farinha de peixe quanto do concentrado proteico de soja.

REFERÊNCIAS

- Abimorad, E.G. and Carneiro, D.J., 2004. Métodos de coleta de fezes e determinação dos coeficientes de digestibilidade da fração proteica e da energia de alimentos para o pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). Revista Brasileira de Zootecnia, 33(5), pp. 1101-1109.
- Arruda, L. F. D., 2004. Aproveitamento do resíduo do beneficiamento da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) para obtenção de silagem e óleo como subprodutos (tese de doutorado, Universidade de São Paulo).
- Association of Official Analytical Chemists, 2000. Official Methods of Analysis. of AOAC International. 17th. II.
- Bansemmer, M. S., Forder, R. E. A., Howarth, G. S., Suitor, G. M., Bowyer, J., & Stone, D. A. J., 2015. The effect of dietary soybean meal and soy protein concentrate on the intestinal mucus layer and development of subacute enteritis in Yellowtail Kingfish (*Seriola lalandi*) at suboptimal water temperature. Aquaculture Nutrition, 21(3), pp. 300-310.
- Barros, M. M., Lim, C., & Klesius, P. H., 2002. Effect of soybean meal replacement by cottonseed meal and iron supplementation on growth, immune response and resistance of Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsville ictaluri* challenge. Aquaculture, 207(3-4), pp. 263-279.
- Bauer, W., Prentice-Hernandez, C., Tesser, M. B., Wasielesky Jr, W., & Poersch, L. H., 2012. Substitution of fishmeal with microbial floc meal and soy protein concentrate in diets for the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture, 342, pp. 112-116.
- Becker, A. G., Gonçalves, J. F., Garcia, L. O., Behr, E. R., Graça, D. L., Kurtz Filho, M., & Baldisserotto, B., 2010. Morphometric parameters comparisons of the digestive tract of four teleosts with different feeding habits. Ciência Rural, 40(4), pp. 862-866.
- Bhosale, S. V., Bhilave, M. P., & Nadaf, S. B., 2010. Formulation of fish feed using ingredients from plant sources. Research Journal of Agricultural Sciences, 1(3), pp. 284-287.
- Bonaldo, A., Parma, L., Mandrioli, L., Sirri, R., Fontanillas, R., Badiani, A., & Gatta, P. P., 2011. Increasing dietary plant proteins affects growth performance and ammonia excretion but not digestibility and gut histology in turbot (*Psetta maxima*) juveniles. Aquaculture, 318(1-2), pp. 101-108.
- Bonaldo, A., Roem, A. J., Fagioli, P., Pecchini, A., Cipollini, I., & Gatta, P. P., 2008. Influence of dietary levels of soybean meal on the performance and gut histology of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) and European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Aquaculture Research, 39(9), pp. 970-978.
- Boonyoung, S., Haga, Y., & Satoh, S., 2013. Preliminary study on effects of methionine hydroxy analog and taurine supplementation in a soy protein concentrate-based diet on the

- biological performance and amino acid composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research*, 44(9), pp. 1339-1347.
- Borghesi, R., Dairiki, J. K., & Cyrino, J. E. P., 2009. Apparent digestibility coefficients of selected feed ingredients for dourado *Salminus brasiliensis*. *Aquaculture Nutrition*, 15(5), pp. 453-458.
- Borghetti, J. R.; Canzi, C. & Fernandez, D. R., 1990. A influência de diferentes níveis de proteína no crescimento do dourado (*Salminus maxillosus*). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 33(3), pp. 683-689.
- Bowyer, J. N., Qin, J. G., Smullen, R. P., Adams, L. R., Thomson, M. J., & Stone, D. A., 2013. The use of a soy product in juvenile yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) feeds at different water temperatures: 2. Soy protein concentrate. *Aquaculture*, 410, pp. 1-10.
- Braga, L. G. T., Borghesi, R., & Cyrino, J. E. P., 2008. Apparent digestibility of ingredients in diets for *Salminus brasiliensis*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43(2), pp. 271-274.
- Bu, X., Chen, A., Lian, X., Chen, F., Zhang, Y., Muhammad, I., & Yang, Y., 2017. An evaluation of replacing fish meal with cottonseed meal in the diet of juvenile Ussuri catfish *Pseudobagrus ussuriensis*: Growth, antioxidant capacity, nonspecific immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*, 479, pp. 829-837.
- Buddington, R.K., Krogdahl, A. and Bakke-McKellep, A.M., 1997. The intestines of carnivorous fish: structure and functions and the relations with diet. *Acta Physiologica Scandinavica. Supplementum*, 638, pp. 67-80.
- Butolo, J.E., 2002. Qualidade de Ingredientes na alimentação animal. Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal.
- Cai, Y., Wermerskirchen, J., & Adelman, I. R., 1996. Communications: Ammonia Excretion Rate Indicates Dietary Protein Adequacy for Fish. *The Progressive Fish-Culturist*, 58(2), pp. 124-127.
- Cao, X. J., & Wang, W. M., 2009. Histology and mucin histochemistry of the digestive tract of yellow catfish, *Pelteobagrus fulvidraco*. *Anatomia, histologia, embryologia*, 38(4), pp. 254-261.
- Carvalho, R.A.P.D.L., 2011. Desenvolvimento de um sistema de recirculação para estudos sobre digestibilidade em condições de alto desempenho para camarões marinhos: avaliação de ingredientes protéicos alternativos à farinha de peixe em diferentes níveis de inclus (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).
- Chikwati, E. M., Gu, J., Penn, M. H., Bakke, A. M., & Krogdahl, Å., 2013. Intestinal epithelial cell proliferation and migration in Atlantic salmon, *Salmo salar* L.: effects of temperature and inflammation. *Cell and tissue research*, 353(1), pp. 123-137.
- Clauss, T. M., Dove, A. D., & Arnold, J. E., 2008. Hematologic disorders of fish. *Veterinary clinics of North America: Exotic animal practice*, 11(3), pp. 445-462.

- Cnaani, A., Tinman, S., Avidar, Y., Ron, M., & Hulata, G., 2004. Comparative study of biochemical parameters in response to stress in *Oreochromis aureus*, *O. mossambicus* and two strains of *O. niloticus*. *Aquaculture Research*, 35(15), pp. 1434-1440.
- Corrêa, R. D. O., 2016. Substituição da farinha de peixe pelo concentrado proteico de soja em dietas para pacus (*Piaractus mesopotamicus*) e dourados (*Salminus brasiliensis*) (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).
- Cruz, T. M. P. D., 2018. Alterações histológicas no epitélio intestinal de juvenis de dourado *Salminus brasiliensis* alimentados com dietas contendo fontes proteicas vegetais (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).
- Cyrino, J. E. P., Bicudo, Á. D. A., Sado, R. Y., Borghesi, R., & Dairiki, J. K., 2010. A piscicultura e o ambiente—o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(1), pp. 68-87.
- Cyrino, J. E. P., Fracalossi, D. M., & Roubach, R., 2012. Avanços na alimentação e nutrição de peixes carnívoros de água doce. *Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira*, pp. 283-294.
- Dairiki, J. K., 2009. Exigência em aminoácidos e farelo de soja na nutrição de juvenis de dourado *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816) (Doctoral dissertation, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”).
- Davies, S.J., Abdel-Warith, A.A. and Gouveia, A., 2011. Digestibility characteristics of selected feed ingredients for developing bespoke diets for Nile tilapia culture in Europe and North America. *Journal of the World Aquaculture Society*, 42(3), pp. 388-398.
- Day, O. J., & Gonzalez, H. P., 2000. Soybean protein concentrate as a protein source for turbot *Scophthalmus maximus* L. *Aquaculture Nutrition*, 6(4), pp. 221-228.
- Della Flora, M. A., Maschke, F., Ferreira, C. C., & de Araújo Pedron, F., 2010. Biologia e cultivo do dourado (*Salminus brasiliensis*). *Acta Veterinaria Brasilica*, 4(1), pp. 7-14.
- Donadelli, R. A., Aguilar, F. A. A., Sonoda, D. Y., & Cyrino, J. E. P., 2019. Poultry by-product meal as dietary protein source for dourado, *Salminus brasiliensis*: an economic appraisal. *Scientia Agricola*, 76(3), pp. 190-197.
- El-Sayed, A. F. M., 1999. Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, *Oreochromis spp.* *Aquaculture*, 179(1-4), pp. 149-168.
- Espe, M., Lemme, A., Petri, A., & El-Mowafi, A., 2006. Can Atlantic salmon (*Salmo salar*) grow on diets devoid of fish meal? *Aquaculture*, 255(1-4), pp. 255-262.
- Esteves, K.E. e Pinto Lobo, A.V., 2001. Feeding pattern of *Salminus maxillosus* at Cachoeiras de Emas, Mogi Guaçu river (São Paulo State Southeast Brazil). *Revista Brasileira Biologia*, 61, pp. 267-276.
- Evans, J. J., Pasnik, D. J., Peres, H., Lim, C., & Klesius, P. H., 2005. No apparent differences in intestinal histology of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fed heat-treated and non-heat-treated raw soybean meal. *Aquaculture nutrition*, 11(2), pp. 123-129.

- Fabregat, T. E. H. P.; Pereira, T. S., Boscolo, C. N., Alvarado, J. D., e Fernandes, J. B. K., 2011. Substituição da farinha de peixe pelo farelo de soja em dietas para juvenis de curimba. Boletim do Instituto de Pesca, 37, pp. 289-294.
- Fazio, F., 2019. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: A review. Aquaculture, 500, pp. 237-242.
- Food and Agriculture Organization Of The United Nations. 2013. Food outlook: biannual report on global food markets. Rome: FAO, 134.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. Trade and Markets Division. 2014. Food Outlook: Biannual Report on Global Food Markets, October 2014. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Fracalossi, D. M., Rodrigues, A. P. O., & Rosa, M. C. G., 2012. Carboidratos e fibra. Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para aquicultura brasileira. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, pp. 101-120.
- Fracalossi, D.M., Rodrigues, A.P.O., Silva, T.S.D.C. e Cyrino, J.E.P., 2012. Técnicas experimentais em nutrição de peixes. Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira, pp. 37-64 .
- Francis, G., Makkar, H. P., & Becker, K., 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. Aquaculture, 199(3-4), pp. 197-227.
- Galdioli, E. M.; Hayashi, C., de Faria, A. C. E. A., e Soares, C. M., 2008. Substituição parcial e total da proteína do farelo de soja pela proteína dos farelos de canola e algodão em dietas para alevinos de piavuçu, *Leporinus macrocephalus* (Garavello e Britski, 1988). Acta Scientiarum. Animal Sciences, 23, pp. 841-847.
- Garcia-Abiado, M. A., Mbahinzireki, G., Rinchard, J., Lee, K. J., & Dabrowski, K., 2004. Effect of diets containing gossypol on blood parameters and spleen structure in tilapia, *Oreochromis sp.*, reared in a recirculating system. Journal of Fish Diseases, 27(6), pp. 359-368.
- Gatlin III, D. M., Barrows, F. T., Brown, P., Dabrowski, K., Gaylord, T. G., Hardy, R. W., & Overturf, K., 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. Aquaculture research, 38(6), pp. 551-579.
- Gonçalves, E. G., e Carneiro, D. J., 2003. Coeficientes de digestibilidade aparente da proteína e energia de alguns ingredientes utilizados em dietas para o pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*). Revista Brasileira de Zootecnia, 32(4), pp. 779-786.
- Griffiths, W., Carter Hill, R., & Judge, G. G., 1993. Learning and practicing econometrics (No. 330.18/G871).
- Gujarati, D. N., & Porter, D. C., 2011. Econometria Básica-5. Amgh Editora.
- Hardy, R. W. 2010. Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. Aquaculture Research, 41(5), pp. 770-776.

- Hart, S. D., Bharadwaj, A. S., & Brown, P. B., 2010. Soybean lectins and trypsin inhibitors, but not oligosaccharides or the interactions of factors, impact weight gain of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 306(1-4), pp. 310-314.
- Hassaan, M. S., El-Sayed, A. I. M., Soltan, M. A., Iraqi, M. M., Goda, A. M., Davies, S. J., ... & Ramadan, H. A., 2019. Partial dietary fish meal replacement with cotton seed meal and supplementation with exogenous protease alters growth, feed performance, hematological indices and associated gene expression markers (GH, IGF-I) for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 503, pp. 282-292.
- Heikkinen, J., Vielma, J., Kemiläinen, O., Tirola, M., Eskelinen, P., Kiuru, T., & von Wright, A., 2006. Effects of soybean meal-based diet on growth performance, gut histopathology and intestinal microbiota of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 261(1), pp. 259-268.
- Hemmer, N., Steinhagen, D., Drommer, W., & Körting, W., 1998. Changes of intestinal epithelial structure and cell turnover in carp *Cyprinus carpio* infected with *Goussia carpelli* (Protozoa: Apicomplexa). *Diseases of aquatic organisms*, 34(1), pp. 39-44.
- Ikechukwu, O. A., & Obinnaya, C. L., 2010. Haematological profile of the African lungfish, *Protopterus annectens* (Owen) of Anambra River, Nigeria. *Journal of Animal Sciences*, 6(2), pp. 123-130.
- Jafari, F., Agh, N., Noori, F., Tokmachi, A., & Gisbert, E., 2018. Effects of dietary soybean lecithin on growth performance, blood chemistry and immunity in juvenile stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*). *Fish & shellfish immunology*, 80, pp. 487-496.
- Jamalzadeh, H. R., & Ghomi, M. R., 2009. Hematological parameters of Caspian salmon *Salmo trutta caspius* associated with age and season. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 42(1), pp. 81-87.
- Kaushik, S. J., 1989. Use of alternative protein sources for intensive rearing of carnivorous fishes, in "Progress in Fish Nutrition" (ed. by SY Shiau), Marine Food Science Series No. 9.
- Kaushik, S. J., Cravedi, J. P., Lalles, J. P., Sumpter, J., Fauconneau, B., & Laroche, M., 1995. Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 133(3-4), pp. 257-274.
- Kaushik, S.J. and Seiliez, I., 2010. Protein and amino acid nutrition and metabolism in fish: current knowledge and future needs. *Aquaculture Research*, 41(3), pp. 322-332.
- Khojasteh, S. B., Sheikhzadeh, F., Mohammadnejad, D., & Azami, A., 2009. histological, histochemical and ultrastructural study of the intestine of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *World Applied Sciences Journal*, 6(11), pp. 1525-1531.
- Kleemann, G. K.; Barros, M. M., e Pezzato, L. E., 2009. Valor nutricional do farelo de algodão para a tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*). *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 31(1), pp. 87-94.

- Kokou, F., Rigos, G., Kentouri, M. and Alexis, M., 2016. Effects of DL-methionine-supplemented dietary soy protein concentrate on growth performance and intestinal enzyme activity of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture international*, 24(1), pp. 257-271.
- Kraugerud, O. F., & Svihus, B., 2011. Effects of online pretreatment of plant ingredients on processing responses and physical properties in extruded fish feed. *Animal feed science and technology*, 168(3-4), pp. 250-256.
- Kroghdahl, Å., Penn, M., Thorsen, J., Refstie, S., & Bakke, A. M., 2010. Important antinutrients in plant feedstuffs for aquaculture: an update on recent findings regarding responses in salmonids. *Aquaculture research*, 41(3), pp. 333-344.
- Larsson, Å., Johansson-Sjöbeck, M. L., & Fänge, R., 1976. Comparative study of some haematological and biochemical blood parameters in fishes from the Skagerrak. *Journal of Fish Biology*, 9(5), pp. 425-440.
- Lee, K. J.; Dabrowski, K., Blom, J. H., Bai, S. C., e Stromberg, P. C., 2002. A mixture of cottonseed meal, soybean meal and animal byproduct mixture as a fish meal substitute: growth and tissue gossypol enantiomer in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 86(7-8), pp. 201-213.
- Li, P.Y., Wang, J.Y., Song, Z.D., Zhang, L.M., Zhang, H., Li, X.X. and Pan, Q., 2015. Evaluation of soy protein concentrate as a substitute for fishmeal in diets for juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*). *Aquaculture*, 448, pp. 578-585.
- Lim, C., & Klesius, P. H., 2003. Influence of feed deprivation on hematology, macrophage chemotaxis, and resistance to *Edwardsiella ictaluri* challenge of channel catfish. *Journal of Aquatic Animal Health*, 15(1), pp. 13-20.
- Lim, S. J., & Lee, K. J., 2009. Partial replacement of fish meal by cottonseed meal and soybean meal with iron and phytase supplementation for parrot fish *Oplegnathus fasciatus*. *Aquaculture*, 290(3-4), pp. 283-289.
- Lima, M. R. D.; Ludke, M. D. C. M. M., Holanda, M. C. R. D., Pinto, B. W. C., Ludke, J. V., e Santos, E. L., 2012. Performance and digestibility of Nile tilapia fed with pineapple residue bran. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 34(1), pp. 41-47.
- Liu, D. C.; Zhang, W. N., E Hu, X. H., 2001. The research on preparation and functional properties of peanut protein. *Journal of Wuhan Polytechnic University*, 4(1-3), pp. 10.
- Lorenz, E. K., Barone, R. S. C., França, W. G., Sabioni, R. E., Koch, J. F. A., & Cyrino, J. E. P., 2018. Performance, hematology and immunology of *Salminus brasiliensis* fed diets containing swine liver hydrolysate. *Aquaculture*, 483, pp. 46-52.
- Lovell, T., 1989. *Nutrition and feeding of fish* (Vol. 260). New York: Van Nostrand Reinhold.
- Lusas, E. W., & Riaz, M. N., 1995. Soy protein products: processing and use. *The Journal of nutrition*, 125(3), pp. 573-580.

- Magill, S. H., & Sayer, M. D. J., 2004. Abundance of juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) in the shallow rocky subtidal and the relationship to winter seawater temperature. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 84(2), pp. 439-442.
- Mai, M.G., 2004. Efeito da idade de estocagem em tanques externos no desempenho da larvicultura do dourado *Salminus brasiliensis*. Dissertação (Mestrado em Aquicultura), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC).
- Mambrini, M., Roem, A. J., Carvedi, J. P., Lalles, J. P., & Kaushik, S. J., 1999. Effects of replacing fish meal with soy protein concentrate and of DL-methionine supplementation in high-energy, extruded diets on the growth and nutrient utilization of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Animal Science*, 77(11), pp. 2990-2999.
- Marques A.A.B. 2002. Lista de Referência da Fauna Ameaçada de Extinção no Rio Grande do Sul. Decreto nº 41.672, de 10 de Junho de 2002. Porto Alegre: FZB/MCT – PUCRS/PANGAEA, pp. 52.
- Martin, S. D., 1990. Gossypol effects in animal feeding can be controlled. *Feedstuffs*, Minnetonka, 62, pp. 14-17.
- Moniruzzaman, M., Bae, J. H., Won, S. H., Cho, S. J., Chang, K. H., & Bai, S. C., 2018. Evaluation of solid-state fermented protein concentrates as a fish meal replacer in the diets of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Nutrition*, 24(4), pp. 1198-1212.
- Moraes, G., & Almeida, L. C., 2014. Nutrição e aspectos funcionais da digestão de peixes. Baldisseroto, B.; Cyrino, JEP; Urbinati, EC *Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de agua doce*. FUNEP, UNESP. Jaboticabal, pp. 233-252.
- Moro, G. V., Silva, T. S. C., & Cyrino, J. E. P., 2017. Feed processing affected the digestibility of carbohydrate sources for dourado *Salminus brasiliensis*. *Aquaculture nutrition*, 23(1), pp. 40-45.
- Moro, G. V., Silva, T. S. C., Zanon, R. B., & Cyrino, J. E. P., 2016. Starch and lipid in diets for dourado *Salminus brasiliensis* (Cuvier 1816): growth, nutrient utilization and digestive enzymes. *Aquaculture nutrition*, 22(4), pp. 890-898.
- National Research Council., 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. National academies press.
- Naylor, R. L., Hardy, R. W., Bureau, D. P., Chiu, A., Elliott, M., Farrell, A. P., & Nichols, P. D., 2009. Feeding aquaculture in an era of finite resources. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(36), pp. 15103-15110.
- Ngandzali, B. O.; Zhou, F., Xiong, W., Shao, Q. J., e Xu, J. Z., 2011. Effect of dietary replacement of fish meal by soybean protein concentrate on growth performance and phosphorus discharging of juvenile black sea bream, *Acanthopagrus schlegelii*. *Aquaculture nutrition*, 17(5), pp. 526-535.
- Nordi, W. M., 2015. Desenvolvimento dos tecidos entérico, hepático e muscular de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg 1887) e dourado (*Salminus brasiliensis*, Cuvier

- 1816) alimentados com dieta contendo colostro bovino liofilizado (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).
- Nordi, W.M., Moretti, D.B., da Cruz, T.M.P., Cyrino, J.E.P. and Machado Neto, R., 2017. Cellular activity and development of enteric, hepatic and muscle tissues of juvenile pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg 1887) fed with lyophilized bovine colostrum. *Aquaculture research*, 48(3), pp. 1099-1109.
- Oetterer, M., D'arce, M. A. B. R., & Spoto, M. H. F., 2006. Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos. Editora Manole Ltda.
- Oliva-Teles, A., Gouveia, A.J., Gomes, E. and Rema, P., 1994. The effect of different processing treatments on soybean meal utilization by rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 124(1-4), pp. 343-349.
- Paiano, D., Moreira, I., Carvalho, P.L.D.O., Furlan, A.C., Silva, M.A.A., Kutschenko, M. and Voorsluys, T., 2014. Farelo de algodão na alimentação de suínos (30-90 kg). *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 15(3), pp. 790-800.
- Paiano, D.; Moreira, I., da Silva, M. A. A., Sartori, Y. M., Martins, R. M., e Vieira, F., 2008. Farelos de algodão com diferentes níveis de proteína na alimentação de suínos na fase inicial: digestibilidade e desempenho. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 28(4), pp. 415-422.
- Paripatananont, T., Boonyaratpalin, M., Pengseng, P., & Chotipuntu, P., 2001. Substitution of soy protein concentrate for fishmeal in diets of tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Aquaculture research*, 32, pp. 369-374.
- Pastore, S. C. G., Gaiotto, J. R., Ribeiro, F. A. S., & Nunes, A. J. P., 2012. Formulação de rações e boas práticas de fabricação. *Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira*. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, pp. 295-346.
- Peisker, M., 2001. Manufacturing of soy protein concentrate for animal nutrition. *Cahiers Options Mediterraneennes*, 54, pp. 103-107.
- Pezzato, L.E., Barros, M.M. and Furuya, W.M., 2009. Valor nutritivo dos alimentos utilizados na formulação de rações para peixes tropicais. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38, pp. 43-51.
- Pezzato, L.E., Miranda, E.C.D., Barros, M.M., Pinto, L.G.Q., Furuya, W.M. and Pezzato, A.C., 2002. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, 31, pp. 1595-1604.
- Pimentel-Gomes, F., Curso de Estatística Experimental. 2009. Piracicaba: Fealq-Usp.
- Portz, L., & Furuya, W. M., 2012. Energia, proteína e aminoácidos. *Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para aquicultura brasileira*. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 65-77.

- Pozza, P.C., Gomes, P.C., Rostago, H.S., Lopes, J., Donzele, M.S.D.S. and Ferreira, R.A., 2003. Avaliação da perda endógena de aminoácidos, em função de diferentes níveis de fibra para suínos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 32(6), pp. 1354-1361.
- Ranzani-Paiva, M. J. T., Souza, Â. T. S., Cezar, G., Pavanelli, R. M. T., & das Eiras, A. C., 2000. Hematological evaluation in commercial fish species from the floodplain of the upper Paraná River, Brazil. *Acta Scientiarum*, 22(2), pp. 507-513.
- Ranzani-Paiva, M. J. T., Rodrigues, E. D. L., Veiga, M. L. D., & Eiras, A. C. D. 2001. Association between the hematological characteristics and the biology of the “dourado” *Salminus maxillosus* Valenciennes, 1840 from Mogi-Guaçu River, state of São Paulo, Brazil. *Maringá*, 23(2), 527-533.
- Ranzani-Paiva, M. J. T., Pádua, S. D., Tavares-Dias, M., & Egami, M. I., 2013. Métodos para análise hematológica em peixes. Maringá: Eduem, 140p.
- Refstie, S., Storebakken, T., Baeverfjord, G., & Roem, A. J., 2001. Long-term protein and lipid growth of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with partial replacement of fish meal by soy protein products at medium or high lipid level. *Aquaculture*, 193(1-2), pp. 91-106.
- Ribeiro, C.O., Reis Filho, H.S. and Grotzner, S.R., 2012. Técnicas e métodos para utilização prática em microscopia. São Paulo: GEN-Grupo Editorial Nacional, Editora Santos, 1, p.440.
- Ribeiro, D. F. O., & de Oliveira Nuñez, A. P., 2008. Feed preferences of *Salminus brasiliensis* (Pisces, Characidae) larvae in fish ponds. *Aquaculture*, 274(1), pp. 65-71.
- Ribeiro, M., J., P., 2012. Concentrado proteico de soja em rações para tilápia-do-nilo . (Dissertação de mestrado, APTA- Instituto de Pesca).
- Rinchard, J.; Lee, K. J., Dabrowski, K., Ciereszko, A., Blom, J. H., e Ottobre, J. S., 2003. Influence of gossypol from dietary cottonseed meal on haematology, reproductive steroids and tissue gossypol enantiomer concentrations in male rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition*, 9(4), pp. 275-282.
- Rocha, C. M. C. D., Resende, E. K. D., Routledge, E. A. B., & Lundstedt, L. M., 2013. Avanços na pesquisa e no desenvolvimento da aquicultura brasileira. *Pesquisa agropecuária brasileira*, 48(8), pp. 4-11.
- Rodrigues, L.S., Cavalcanti, I.M., Capanema, L.X.D.L., Morch, R.B., Magalhães, G., Lima, J.F., Burns, V.A.C., Alves Júnior, A.J. and Mungioli, R.P., 2012. Panorama da aquicultura no Brasil: desafios e oportunidades. *BNDES Setorial*, n. 35, mar. 2012, pp. 421-463.
- Rodrigues, S. S., & Menin, E., 2008. Anatomia do tubo digestivo de *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1817) (Pisces, Characidae, Salmininae). *Biotemas*, 21(2), pp. 65-75.
- Sá, M. V. C., Sabry-Neto, H., Cordeiro-Júnior, E., & Nunes, A. J. P., 2013. Dietary concentration of marine oil affects replacement of fish meal by soy protein concentrate in practical diets for the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition*, 19(2), pp. 199-210.

- Salaro, A. L., Pezzato, L. E., Barros, M. M., & Vicentini, C. A., 1999. Performance and spermatogenesis of Nile tilapia fingerlings fed with cottonseed meal or cottonseed flour. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 34(3), pp. 449-457.
- Salze, G., McLean, E., Battle, P. R., Schwarz, M. H., & Craig, S. R., 2010. Use of soy protein concentrate and novel ingredients in the total elimination of fish meal and fish oil in diets for juvenile coho, *Rachycentron canadum*. *Aquaculture*, 298(3-4), pp. 294-299.
- Sampaio-Oliveira, A. M. B. M., & Cyrino, J. E. P., 2008. Digestibility of plant protein-based diets by largemouth bass *Micropterus salmoides*. *Aquaculture Nutrition*, 14(4), pp. 318-323.
- Schütz, J. H., & Nuñez, A. P. D. O., 2007. Growth and survival of dorado *Salminus brasiliensis* (Pisces, Characidae) post-larvae cultivated with different types of food and photoperiods. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 50(3), pp. 435-444.
- Seixas Filho, J. T. D., Brás, J. D. M., Gomide, A. T. D. M., Oliveira, M. G. D. A., Donzele, J. L., & Menin, E., 2001. Anatomia funcional e morfometria do intestino no Teleostei (Pisces) de água doce Surubim (*Pseudoplatystoma coruscans*. Agassiz, 1829). *Revista Brasileira de Zootecnia*, 30(6), pp. 1670-80.
- Serafini, R. D. L., 2005. Efeito do oxigênio dissolvido e da amônia na sobrevivência e crescimento de juvenis de dourado, *Salminus brasiliensis*. (Dissertação de mestrado – UFSC- Universidade Federal de Santa Catarina).
- Singh, P., Kumar, R., Sabapathy, S. N., & Bawa, A. S., 2008. Functional and edible uses of soy protein products. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 7(1), pp. 14-28.
- Snedecor, G.W. and Cochran, W.G., 1989. *Statistical methods*, 8th Edn. Ames: Iowa State Univ. Press Iowa.
- Souza, S., Hayashi, C., Soares, T. and Andrade, L., 2018. Avaliação do efeito de diferentes níveis de farelo de algodão sobre o desempenho e a composição corporal de alevinos de piaçu (*Leporinus macrocephalus*). *Boletim do Instituto de Pesca*, 30(2), pp. 127-134.
- STATSOFT INC. (2004). *Statistica* (data analysis software system), version 7.0.
- Steel, R.G. and Torrie, J.H., 1980. *Principles and procedures of statistics, a biometrical approach* (No. Ed. 2). McGraw-Hill Kogakusha, Ltd.
- Storebakken, T., Shearer, K. D., & Roem, A. J., 1998. Availability of protein, phosphorus and other elements in fish meal, soy-protein concentrate and phytase-treated soy-protein-concentrate-based diets to Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture*, 161(1-4), pp. 365-379.
- Sugiura, S.H., Dong, F.M., Rathbone, C.K. and Hardy, R.W., 1998. Apparent protein digestibility and mineral availabilities in various feed ingredients for salmonid feeds. *Aquaculture*, 159(3-4), pp. 177-202.
- Tacon, A.G., 1995. Feed ingredients for carnivorous fish species: alternatives to fishmeal and other fishery resources. *Sustainable fish farming*, pp. 89-114.

- Tavares-Dias, M., & de Moraes, F. R., 2004. Hematologia de peixes teleósteos. Marcos Tavares-Dias.
- Tavares-Dias, M., Melo, J. F. B., Moraes, G., & Moraes, F. R. D., 2002. Características hematológicas de teleósteos brasileiros: IV. Variáveis do jundiá *Rhamdia quelen* (Pimelodidae). *Ciência Rural*, 32(4), pp. 693-698.
- Teixeira, B., Machado, C., & Fracalossi, D., 2010. Exigência proteica em dietas para alevinos do dourado (*Salminus brasiliensis*). *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 32(1), pp. 33-38.
- Urán, P. A., Schrama, J. W., Jaafari, S., Baardsen, G., Rombout, J. H. W. M., Koppe, W., & Verreth, J. A. J., 2009. Variation in commercial sources of soybean meal influences the severity of enteritis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture Nutrition*, 15(5), pp. 492-499.
- Varian, H. R., 2006. Microeconomia-princípios básicos. Elsevier Brasil.
- Vázquez, G. R., & Guerrero, G. A., 2007. Characterization of blood cells and hematological parameters in *Cichlasoma dimerus* (Teleostei, Perciformes). *Tissue and cell*, 39(3), pp. 151-160.
- Vega-Orellana, O.M., 2003. Larvicultura do dourado (*Salminus brasiliensis*): desenvolvimento ontogenético de proteinases digestórias e transição alimentar. Dissertação (Mestrado em Aquicultura), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC).
- Voorhees, J. M., Barnes, M. E., Chipps, S. R., & Brown, M. L., 2019. Bioprocessed soybean meal replacement of fish meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets. *Cogent Food & Agriculture*, 5(1), 1579482.
- Waldroup, P.W.; Kersey, J.H., 2002. Nutrient composition of cottonseed meal surveyed. *Feedstuffs*, 4, pp. 11-2.
- Wang, L., Xu, Q., Wang, C.A., Li, J., Chen, D., Zhao, Z., Luo, L. and Du, X., 2016. Effects of dietary α -ketoglutarate supplementation on the growth performance, glutamine synthesis and amino acid concentrations of juvenile hybrid sturgeon *Acipenser schrenckii*♀ × *Acipenser baerii*♂ fed high levels of soy protein concentrate. *Animal feed science and technology*, 211, pp. 199-207.
- Weingartner, M. and Zaniboni-Filho, E., 2010. Biologia e cultivo do dourado. *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*, pp. 245-281.
- Weingartner, M. e Zaniboni-Filho, E., 2005. Dourado. In: *Espécies nativas para a piscicultura no Brasil*. pp. 257-286.
- Yamamoto, F., Sonoda, D.Y. & Cyrino, J.E.P., 2017. Maximização do lucro na substituição de fontes proteicas na ração de juvenis de dourado. *Revista IPecego*, 3(1), pp. 49-58.
- Ye, H., Xu, M., Liu, Q., Sun, Z., Zou, C., Chen, L., ... & Ye, C., 2019. Effects of replacing fish meal with soybean meal on growth performance, feed utilization and physiological status of juvenile obscure puffer, *Takifugu obscurus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 216, pp. 75-81.

- Yu, J., Ahmedna, M. and Goktepe, I., 2007. Peanut protein concentrate: Production and functional properties as affected by processing. *Food chemistry*, 103(1), pp. 121-129.
- Zhao, H., Jiang, R., Xue, M., Xie, S., Wu, X., & Guo, L., 2010. Fishmeal can be completely replaced by soy protein concentrate by increasing feeding frequency in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* GIFT strain) less than 2 g. *Aquaculture Nutrition*, 16(6), pp. 648-653.
- Zheng, Q., Wen, X., Han, C., Li, H., & Xie, X., 2012. Effect of replacing soybean meal with cottonseed meal on growth, hematology, antioxidant enzymes activity and expression for juvenile grass carp, *Ctenopharyngodon idellus*. *Fish physiology and biochemistry*, 38(4), pp. 1059-1069.

APÊNDICES

APÊNDICE A.

Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA
www4.esalq.usp.br – fone (19)34294400

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Concentrado proteico de algodão na dieta pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e dourado (*Salminus brasiliensis*): aspectos zootécnicos e fisiológicos.", registrada com o nº 2016-19, sob a responsabilidade do Prof. José Eurico Possebon Cyrino, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal-CONCEA, e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Escola de Agricultura Luiz de Queiroz-ESALQ/USP, em reunião 19/09/2016.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01 de novembro de 2016 a 30 de novembro de 2017
Espécie/Linhagem/raça	Peixe dourado/pacu
Nº de animais	Juvenil
Peso/Idade	30g
Sexo	M+F
Origem	Piscicultura Águas Claras, Mococa, SP

CERTIFICATE

This is to certify that study "Growth and physiological status of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) and dourado (*Salminus brasiliensis*) fed graded levels of cottonseed protein concentrate", protocol number 2016-19, under the responsibility of Prof. José Eurico Possebon Cyrino, has been approved by the Institutional Animal Care and Use Committee, College of Agriculture "Luiz de Queiroz", Piracicaba, SP, Brazil, University of São Paulo.

Piracicaba, 19 de setembro de 2016.

Prof. Dr. Gerson Barreto Mourão
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais

APÊNDICE B. Perfil de aminoácidos de concentrado proteico de algodão (CPA) e soja (CPS) fornecidos para a realização deste estudo.

Aminoácido	CPA	CPS
Ácido aspártico	5,05	6,02
Ácido glutâmico	11,21	10,66
Serina	2,39	2,93
Glicina	2,13	2,41
Histidina	1,41	1,35
Arginina	6,41	4,17
Treonina	1,76	2,4
Alanina	1,98	2,12
Prolina	1,94	2,89
Tirosina	1,64	2,15
Valina	2,37	2,76
Metionina	0,65	0,6
Cistina	0,79	0,7
Isoleucina	1,68	2,54
Leucina	2,93	4,1
Fenilalanina	3,04	3,02
Lisina	2,29	3,63