Universidade de São Paulo

Instituto Oceanográfico

Rafael Tsuyoshi Inoe Coelho

**Suplementação de enzimas exógenas (fitase e
protease) em dietas com substituição de farinha de
peixe para juvenis do peixe marinho bijupirá
(*Rachycentron canadum*)**

São Paulo

2017

Rafael Tsuyoshi Inoe Coelho

**Suplementação de enzimas exógenas (fitase e
protease) em dietas com substituição de farinha de
peixe para juvenis do peixe marinho bijupirá
(*Rachycentron canadum*)**

Versão Original

Dissertação apresentada ao
Instituto Oceanográfico da
Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em
Ciências, Programa de
Oceanografia, área de
Oceanografia Biológica.

Orientador: Daniel Eduardo
Lavanholi de Lemos

São Paulo

2017

Nome: Coelho, Rafael Tsuyoshi Inoe

Título: Suplementação de enzimas exógenas (fitase e protease) em dietas com substituição de farinha de peixe para juvenis do peixe marinho bijupirá (*Rachycentron canadum*)

Dissertação apresentada ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Profa. Dra. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof.Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Agradecimentos:

Agradeço primeiramente a minha esposa, Sandra, com quem decidi passar todos os bons e mals momentos que virão a ocorrer em minha vida, por todo apoio, dedicação e carinho.

Agradeço a todos de minha família, meus pais Edna e Orpheu, meus irmãos Leandro e Bruno, por toda a ajuda, não só durante a produção deste exemplar, mas por toda uma vida de companheirismo, apoio, e sustentação nos momentos mais difíceis.

Já aproveitando os agradecimentos e dedicações a família, deixo meu já muito obrigado aos filhos que um dia irão chegar e rechear ainda mais de alegria o nosso convívio.

Gostaria de fazer um agradecimento especial também ao meu orientador Prof. Dr. Daniel Lemos pela disponibilização de toda estrutura necessária a realização deste trabalho, pela ótima discussão e acompanhamento durante o trabalho, pelo entusiasmo que demonstra ao ver resultados aparecendo e experimentos dando certo.

Ao Prof. Dr. Vicente Gomes que sempre disponibiliza ajuda intelectual e material para os experimentos.

A Zezé que está sempre ajudando com materiais e dicas e principalmente puxando a orelha, buscando corrigir os incorrigíveis, um dia você consegue!

Ao pessoal Laboratório de Aquicultura, Fanny, Thiago, Rodrigo, Ricardo e Luis Felipe, pela ajuda nos trabalhos de campo, ajuda com pesquisas, metodologias e tudo o mais que se possa imaginar, muito obrigado.

A todo o pessoal da Base de Ubatuba, sem a ajuda de vocês a engrenagem não funcionaria.

Por fim, a todos as amizades feitas durante a graduação e o mestrado no Instituto Oceanográfico, o meu muito obrigado!

RESUMO

COELHO, R. T. I. 2017. Suplementação de enzimas exógenas (fitase e protease) em dietas com substituição de farinha de peixe para juvenis do peixe marinho bijupirá (*Rachycentron canadum*) 108f. Dissertação (Mestrado) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

Foram realizados dois experimentos distintos com juvenis de bijupirá (*Rachycentron canadum*) alimentados com dietas com substituição parcial da farinha de peixe e suplementadas com enzimas exógenas na (1) fase de berçário em sistema recirculante com duração de sete semanas e na (2) fase de engorda em tanques-rede no mar, com duração de dez semanas, para avaliação de desempenho, retenção copororal e digestibilidade de nutrientes. Foram formuladas e testadas dietas com substituições parciais de farinha de peixe (FM) por farelo de soja (FS), concentrado proteico de soja (CPS) e farinha de vísceras de frango (FV), e suplementadas com duas enzimas exógenas, fitase e protease. No experimento de engorda no mar (peso inicial 240 g; final 500 g), foram testadas cinco dietas, sendo um controle (49% FM) e quatro com substituições de 50 e 60% FM por diferentes níveis de inclusão FS e FV, sendo duas suplementadas com fitase (750 FTU) e protease (600 ppm) e duas somente com fitase (750 FTU). Não foram encontradas diferenças significativas no crescimento, sobrevivência, índice hepatossômico e na digestibilidade de matéria seca, proteína e fósforo para as cinco dietas ($p>0.05$). O fator de conversão alimentar (FCA) foi melhor com a dieta controle (1,7) do que com suplementação de fitase e protease (2,12) ($p<0,05$). No experimento com juvenis em fase de berçário cultivado em sistema de tanques recirculante (peso inicial 14 g; final 100 g), foram testadas oito dietas. Em duas dietas-base com substituições de FM por CPS e FV foram adicionados fitase e/ou protease ou fosfato bicálcico, resultando em 7 diferentes combinações, além da uma dieta controle com 49% FM. Ganho de peso, sobrevivência e índice hepatossômico não apresentaram diferenças significativas, enquanto FCA e taxa de aproveitamento de proteína foram significativamente melhores para as dietas com inclusão de CPS do que o controle e as dietas com FV. A adição de fitase, mas não de protease, nas dietas aumentou a digestibilidade de matéria seca, proteína bruta, energia e fósforo nas dietas com ingredientes vegetais. Fitase e protease adicionadas simultaneamente nas dietas aumentaram a digestibilidade dos nutrientes analisados, comparado com a dieta sem suplementação. A adição de enzimas também influenciou na composição corporal dos peixes, principalmente, aumentando a retenção de fósforo e matéria mineral ($p<0,05$). Os resultados obtidos sugerem a possibilidade de substituições parciais de farinha de peixe nas rações de juvenis de bijupirá por ingredientes vegetais, como o concentrado proteico de soja, ou por ingredientes animais, como a farinha de vísceras, sem implicar em detrimento no desempenho zootécnico dos peixes. Além disso, a adição de enzimas exógenas em dietas com ingredientes vegetais pode trazer ganhos relevantes na digestibilidade e retenção de nutrientes para juvenis de bijupirá, em fase de berçário.

Palavras-chave: bijupirá; digestibilidade; enzimas; fitase; protease; fitato

ABSTRACT

COELHO, R. T. I. **Exogenous enzymes (phytase and protease) supplementation in diets with fish meal replacement for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*)** 2017. 108f. Master's Dissertation – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

In the present study, growth, body composition, and nutrient digestibility were assessed in juvenile cobia (*Rachycentron canadum*) fed diets with partial fish meal replacement and exogenous enzymes supplementation. One trial was carried out in recirculated nursery phase for seven weeks and another in the growout phase in net pens in the sea for ten weeks. Test diets were formulated with partial replacement of fish meal (FM) for soybean meal (SBM), soy protein concentrate (SPC), and poultry by-product meal (PBM), and supplemented with phytase and protease. In the growout trial (mean initial weight 240 g; mean final weight 500 g), five diets were tested, one control (49% FM) and four with 50 and 60% FM replacement with different inclusion levels of SBM and PBM, and two supplemented with both phytase (750 FTU) and protease (600 ppm) and two only with phytase (750 FTU). No significant difference was observed in growth, survival, hepatosomatic index and digestibility of dry matter, crude protein and phosphorus ($p>0.05$). Better feed conversion ratio (FCR) was observed in the control diet (1.7) than with the phytase and protease supplementation (2.12) ($p<0.05$). Eight test diets were tested in the nursery phase trial (mean initial weight 14 g; mean final weight 100 g). Phytase and/or protease or dicalcium phosphate were added in two base diets with FM replacement with SPC and PBM, resulting in seven different combinations plus a control diet (49% FM). No significant difference was observed in weight gain, survival and hepatosomatic index, whereas FCR and protein retention were enhanced with SPC diet than control or PBM diets. Supplementation with phytase, but not protease, enhanced digestibility of dry matter, crude protein, energy and phosphorus of diets with plant ingredients. Simultaneous supplementation of phytase and protease enhanced nutrient digestibility compared to unsupplemented diets. Furthermore, enzyme supplementation influenced fish body composition, increasing phosphorus and mineral retention ($p<0.05$). Results suggest the possible partial replacement of FM in the diets for juvenile cobia for plant ingredients, such as SPC, or other animal ingredient, as PBM, with no reduction in fish growth. Also, the addition of exogenous enzymes in diets with plant ingredients may enhance nutrient digestibility and body retention in juvenile cobia in the nursery phase.

Keywords: cobia, digestibility, enzymes, phytase, protease, phytate

Lista de figuras

Figura 1 – Contribuição relativa da aquicultura e da pesca extrativa como fonte de pescado para consumo humano.....	14
Figura 2 - Alevinos de bijupirá (<i>Rachycentron canadum</i>) mantidos em sistema berçário até atingirem peso para utilização em experimento de engorda: sendo transferidos do transfish para o berçário (A), durante alimentação no tanque de berçário (B) e, vista superior do sistema berçário em tanque circular (C).....	23
Figura 3 - Processo de moagem e determinação do tamanho de partícula de ingredientes: moinho de martelos (A), moagem de farelo de soja (B) e, peneiras de separação granulométrica dos ingredientes em diferentes diâmetros (no detalhe: amostra de farinha de sangue)	27
Figura 4 – Processo de fabricação de dietas experimentais em laboratório: com detalhe para a mistura de ingredientes (A), processo de peletização (B) e secagem em bandejas (C).....	33
Figura 5 - Sistema experimental de cultivo de bijupirá em tanques-rede localizado no Saco da Ribeira (Ubatuba –SP, detalhe Base de Pesquisa do Instituto Oceanográfico ao fundo): visão geral da plataforma flutuante (A), vista interna do tanque rede (B) e visão superior do tanque e tampa de proteção (C).....	35
Figura 6 – Manejo experimental e troca de redes (no mar) de cultivo experimental de bijupirá em fase de engorda, em tanques-rede: retirada de rede para limpeza de incrustações após 2 semanas no mar (A); colocação de redes limpas (B) amostragem e pesagem de bijupirás com balança tipo dinamômetro (C e D).....	37
Figura 7 – Manejo profilático de bijupirás em tanques-rede no mar durante a fase de engorda: banho de água doce para eliminação de parasita (A), indivíduo com a presença de ectoparasitas, <i>Neobenedenia melleni</i> (B, C).....	38
Figura 8 – Método de coleta de fezes de juvenis de bijupirá por massagem abdominal (stripping) em indivíduos anestesiados em óleo de cravo: processo de anestesia em solução de água do mar (A), técnica de massageamento da região ventral do peixe (B) e coleta em potes do conteúdo fecal (C)	40
Figura 9 - Variação temperatura e salinidade durante o período de berçário de alevinos de bijupirá em tanque de fluxo aberto no laboratório. Valores correspondem à média de duas medições diárias.....	43

Figura 10 - Variação da saturação e teor de oxigênio dissolvido no sistema berçário de alevinos de bijupirá em tanque de fluxo aberto no laboratório. Valores correspondem a média de duas medições diárias.....	44
Figura 11 - Crescimento de juvenis de bijupirá em sistema berçário de fluxo aberto em tanque no laboratório e respectivo consumo de ração diário. Do início do cultivo até a ponto demarcado pela seta (18/01), animais alimentados com ração O.range Inve Nurse, a partir da seta animais alimentados com a dieta AquaMar.	45
Figura 12 – Variação de temperatura e da salinidade durante 70 dias de cultivo no mar (13/05 a 20/07/2015).....	46
Figura 13 – Variação do teor e da saturação de oxigênio dissolvido durante os 70 dias de cultivo no mar (13/05 a 20/07/2015).....	47
Figura 14 – Crescimento de juvenis de bijupirás alimentados com cinco dietas teste durante os 70 dias de cultivo em tanques-rede no mar. Valores apresentados em peso médio, barra de erros = d.p. (n=8 por réplica).....	48
Figura 15 – Consumo diário de alimento pelos juvenis de bijupirá durante 70 dias de experimento de engorda em tanques-rede no mar, de acordo com as diferentes dietas. Resultados expressos como média (n=3 por réplica), barras de erros = d.p.....	48
Figura 16 – Sistema experimental recirculante utilizado nos testes de dietas para juvenis de bijupirá: dispositivos de tratamento de água (caixas de decantação com filtro mecânico (perlon), skimmers e filtro biológico) à frente com as linhas de tanque ao fundo (A), vista superior dos 32 tanques experimentas (B) peixes recebendo alimentação (C) e vista do interior de um dos tanques experimentais (D).....	66
Figura 17 – Parâmetros de qualidade de água obtidos durante 20 dias de berçário com bijupirás.....	68
Figura 18 – Evolução do peso individual e consumo de ração (Inve O.range Nurse XL) de alevinos de bijupirá em sistema berçário.....	69
Figura 19 – Variação da temperatura e salinidade durante sete semanas de cultivo em sistema berçário recirculante para alevinos de bijupirás.....	70
Figura 20 – Variação do teor de oxigênio dissolvido, amônia total e nitrito no sistema recirculante berçário com alevinos de bijupirá. Valores no interior dos círculos vermelhos e verdes representam os valores obtidos para leituras de amônia total e nitrito em mg L ⁻¹ (kit comercial Alfakit).....	71

Figura 21 – Crescimento de juvenis de bijupirá, mantidos em sistema berçário recirculante, durante sete semanas, submetidos a diferentes tratamentos alimentares.....	72
Figura 22 – Consumo diário médio de alimento de juvenis de bijupirás em sistema berçário, alimentados com diferentes dietas, apresentado por colunas mais barras de erros. Valores calculados a partir da média diária semanal.....	73
Figura 23 – Ingestão total por tratamento, dividida entre os horários de alimentação.....	73

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Composição centesimal (% , material natural) das dietas utilizadas durante a fase de berçário de alevinos de bijupirá.....	24
Tabela 2 – Composição centesimal (% , matéria natural) dos macro ingredientes utilizados na fabricação de dietas para bijupirá.....	25
Tabela 3 - Frações granulométricas (%) dos ingredientes utilizados na fabricação de dietas experimentais para engorda de bijupirás antes e após uma moagem em moinho de martelo.....	28
Tabela 4 - Formulação e composição centesimal das dietas experimentais (% , matéria natural) utilizadas na engorda de bijupirás em tanques rede no mar, com a adição de enzimas fitase e protease.....	30
Tabela 5 – Desempenho de alevinos de bijupirá em sistema berçário (pré-engorda) no período de 3 meses (18/12/2014 a 19/02/2015).....	45
Tabela 6 –Crescimento e desempenho de juvenis de bijupirás em fase de engorda em tanques-rede no mar após 10 semanas alimentados por diferentes dietas. Valores expressos como média (d. p.).	50
Tabela 7 – Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) de proteína bruta e fósforo total em juvenis de bijupirá alimentados com dietas experimentais e criados em tanques-rede no mar. Valores expressos como média (desvio padrão).....	51
Tabela 8 – Composição centesimal (% , matéria natural) dos ingredientes e do suplemento utilizados na fabricação de dietas experimentais para o experimento com juvenis de bijupirá em fase de berçário.....	60
Tabela 9 - Frações granulométricas dos ingredientes utilizados na fabricação de dietas experimentais para a fase berçário de bijupirás antes e após o processo de moagem.....	61
Tabela 10. Formulação e composição centesimal das dietas experimentais (% , matéria natural) para juvenis de bijupirá em berçário recirculante.....	63
Tabela 11– Desempenho de alevinos de bijupirá (1200 indivíduos) em sistema de berçário com fluxo aberto, durante 20 dias.....	69

Tabela 12 – Crescimento e desempenho de juvenis de bijupirás sob as diferentes dietas experimentais mantidos durante sete semanas em sistema berçário recirculante.....	75
Tabela 13 – Coeficientes de digestibilidade aparente de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, energia e fósforo em juvenis de bijupirá mantido com 8 diferentes tratamentos alimentares.....	77
Tabela 14 – Composição inicial e após o período de sete semanas alimentados com oito diferentes tratamentos alimentares em sistema berçário recirculante (% matéria seca), utilização líquida de proteínas (%) e índice Hepatosomático.....	78
Tabela 15 – Teores de matéria mineral e fósforo nos ossos de bijupirás (% matéria seca) após sete semanas de alimentação com diferentes tratamentos alimentares.....	79
Tabela 16– Teores de proteína bruta, extrato etéreo e umidade de fígados de bijupirás (% matéria seca) após sete semanas de alimentação com diferentes tratamentos alimentares.....	79

Sumário

1.1 Introdução	14
1.2 Introdução a espécie estudada.....	18
2.1 Avaliação de diferentes dietas suplementadas com enzimas exógenas na alimentação de juvenis de bijupirá em fase de engorda em tanques rede no mar	21
2.2. Material e Métodos.....	22
2.2.1 Animais experimentais e manutenção em cultivo.....	22
2.2.2 Ingredientes experimentais.....	25
2.2.3 Desenho experimental e dietas experimentais.....	29
2.2.4 Sistema experimental de tanques rede instalados em plataforma no mar: manejo e protocolo alimentar.....	34
2.2.5 Diagnóstico de ectoparasitas e profilaxias.....	37
2.2.6 Coleta de fezes.....	38
2.2.7 Índice hepatossomático (IHS).....	40
2.2.8 Equações de desempenho e digestibilidade.....	40
2.2.9 Análises composicionais	41
2.2.10 Análises estatísticas.....	43
2.3 Resultados	43
2.3.1 Berçário.....	43
2.3.2 Parâmetros físicos obtidos na engorda de bijupirás em tanques rede	46
2.3.3 Desempenho durante a fase de engorda em tanques-rede.....	47
2.3.4 Coeficientes de digestibilidade aparente.....	50
2.4 Discussão.....	51
2.4.1 Berçário	51
2.4.2 Parâmetros físicos durante engorda de bijupirás em tanques-rede.....	53
2.4.3 Desempenho com as dietas teste.....	53
3.1 Avaliação do desempenho de juvenis de bijupirá em sistema berçário recirculante em função de dietas com substituição parcial de farinha de peixe e suplementadas com enzimas exógenas.....	58
3.2 Materiais e métodos.....	59

3.2.1 Animais experimentais e manejo inicial.....	59
3.2.2 Pré-tratamento e análises dos ingredientes utilizados.....	59
3.2.3 Motivação e dietas experimentais.....	62
3.2.4 Sistema experimental recirculante berçário de bijupirás: manejo e protocolo alimentar.....	64
3.2.5 Análises laboratoriais.....	67
3.2.6 Cálculos de desempenho e digestibilidade aparente.....	67
3.2.7 Índice hepatossomático (IHS).....	68
3.2.8 Análises estatísticas.....	68
3.3 Resultados.....	68
3.3.1 Qualidade de água e desempenho de bijupirás em berçário.....	68
3.3.2 Parâmetros físicos obtidos durante experimento com juvenis de bijupirás em sistema recirculante.....	70
3.3.3 Desempenho com as dietas teste.....	71
3.4 Discussão.....	80
3.4.1 Berçário pré-experimento.....	80
3.4.2 Parâmetros físicos durante o cultivo em sistema berçário recirculante	81
3.4.3 Desempenho com as dietas teste em fase de berçário.....	81
3.4.4 Fitases e proteases em dietas para juvenis de bijupirá.....	88
4 Conclusões.....	92
5 Referências	94

1.1 Introdução

Os oceanos, mares, rios, lagos, recursos hídricos em geral, são responsáveis pela extração e produção de uma das principais fontes de proteína consumida globalmente, o pescado (CARVALHO; LEMOS, 2009; BRASIL, 2014). A forma mais comum de obtenção desta fonte de proteína, a pesca extrativa encontra-se estagnada ou em declínio há muitos anos (BRASIL, 2014; PAULY; ZELLER, 2016), sendo que os estoques selvagens de pescados se encontram em grande parte sobre-explotados (FROESE et al., 2012). Como alternativa a atender a essa grande demanda alimentar por proteína de alta qualidade, a aquicultura é há muitos anos o setor produtor de alimentos que mais cresce (WAITE et al., 2014), com um incremento de cerca de 7% ao ano, e hoje já é responsável por cerca de 50% do total de pescado consumido pelo homem (Figura 1), provenientes de uma produção de mais de 73 milhões de toneladas (FAO; 2016).

Figura 1 – Contribuição relativa da aquicultura e da pesca extrativa como fonte de pescado para consumo humano.

Fonte: FAO, 2016

Com o crescimento da população mundial prevê-se que até o ano de 2050 seja necessário dobrar a quantidade de pescado produzido (LEMOS, 2011), seja por pesca ou criação. Uma vez que a pesca já se encontra próxima ao limite de captura, a aquicultura é a alternativa mais óbvia a ser explorada, devendo segundo expectativas atender ao menos 70% do volume de pescado consumido em poucos anos. O Brasil se destaca com grande potencial de crescimento na aquicultura devido a sua grande disponibilidade de recursos naturais hídricos, tanto em águas continentais, como em regiões costeiras e de mar aberto devido

a sua grande extensão litorânea (BRASIL, 2014), com mais de oito mil quilômetros de costa e uma área de 3,5 milhões de km² inseridos dentro de sua zona econômica exclusiva (ROCHA et al., 2013). O Brasil destaca-se também por sua ampla gama de espécies nativas, muitas destas com potencial produtivo, disponibilidade de matérias-primas para produção de rações com um sistema agropecuário consolidado, condições climáticas adequadas, e pela disponibilidade de recursos humanos, além de um grande mercado consumidor interno, que cresce ano a ano.

Dados da FAO (2016) apontam para um crescimento de 38,8% da aquicultura mundial até 2025, tendo como destaque particular as previsões de crescimento para a aquicultura brasileira, onde se prevê um aumento de mais de 100% na produção nacional, sendo este o maior crescimento dentre todos os países considerados nesse estudo. Embora em constante crescimento, a indústria nacional do pescado é ainda pequena frente aos grandes produtores mundiais (China, Indonésia, Índia, Vietnã, dentre outros). A produção brasileira atual é de cerca de 500 mil toneladas, oriundos principalmente da piscicultura em água doce (82%), carcinicultura (13%) moluscos (4%) e répteis e anfíbios (1%), enquanto números da piscicultura marinha são muito baixos, constando como inexistentes ou negligenciáveis no relatório da FAO (2016). A piscicultura no Brasil teve um breve início provavelmente no século XVII com engorda de peixes selvagens capturados e mantidos em cativeiro (CAVALLI; HAMILTON, 2009). Desde então, a evolução da piscicultura marinha foi relativamente baixa no país, sendo que apenas algumas criações pontuais e experimentais ocorreram, sem grandes avanços na produção. Em 2005 uma grande empresa do ramo aquícola voltou seus esforços para criação de peixes marinhos no país, mais precisamente o bijupirá (*Rachycentron canadum*). Teve início em Pernambuco o que foi considerado um primeiro passo para a piscicultura marinha em escala comercial. A empresa instalou seus tanques em mar aberto com previsão de grandes expansões e a produção de dez mil toneladas anuais. Entretanto, cerca de dois anos após os primeiros tanques irem ao mar, juntamente com a perda de grande parte dos investimentos, a área da empresa ligada a criação de bijupirás encerrou suas atividades, o que esteve relacionado a alguns fatores, principalmente à qualidade inadequada das rações fornecidas para engorda dos peixes em cativeiro e a falta de conhecimento no

manejo da espécie. A questão do alimento denotou a influência do conhecimento reduzido na produção de rações para peixes marinhos das indústrias nacionais à época do projeto.

Hoje, alguns anos após essa primeira grande empreitada no cultivo de bijupirás, a indústria de rações nacional já apresenta grandes avanços, com alimentos melhores produzidos e destinados exclusivamente a espécies marinhas, que conta com aparente aceitação por parte dos peixes e dos pequenos produtores que se arriscam e buscam a estabilidade da piscicultura marinha no cenário nacional. A indústria de rações aquícolas, em alguns casos juntamente com o setor acadêmico, evoluiu muito em suas pesquisas na produção de dietas para peixes marinhos, mais especificamente para o bijupirá, e dietas comerciais disponíveis no mercado nacional apresentam resultados promissores na engorda da espécie. Por outro lado, a formulação dessas rações ainda se encontra alicerçada em grandes inclusões de farinha de peixe, fonte de proteína de alta qualidade e palatabilidade, embora considerado um ingrediente não sustentável para a economia de escala das operações.

Um dos maiores gargalos da aquicultura e ponto de partida de um grande número de pesquisas é esta alta dependência de ingredientes oriundo da pesca extrativa, como a farinha e o óleo de peixe, na fabricação de rações, e a busca por potenciais substitutos a essas fontes de proteínas e gordura animal (ZHOU et al., 2005; LUNGER et al., 2006; SAADIAH et al., 2011; SUAREZ et al., 2013; CARUSO, 2015; RAGGI, 2016). O uso de pescados na fabricação de rações é criticado quanto à ética, a sustentabilidade e ao impacto ambiental (TACON; METIAN, 2008), por isso, busca-se cada vez mais a utilização de produtos e subprodutos de produções animais e vegetais terrestres, tais como as farinhas de sangue, vísceras de frango, carne e ossos, penas, trigo, soja, milho dentre outras. O uso dessas farinhas, por sua vez, está condicionado a alguns fatores, como a aceitação pela espécie, limitação de aminoácidos essenciais, sendo necessária a suplementação nas dietas, a presença de fatores antinutricionais, além de potenciais efeitos sobre a palatabilidade das rações. Outro fator importante é a geração de resíduos oriundos do cultivo, o que está relacionado à capacidade de o animal absorver os nutrientes presentes nos diferentes ingredientes utilizados na fabricação da ração, por exemplo, é comum o uso de

ingredientes adicionados como fonte de proteínas possuírem grandes quantidades de fatores antinutricionais e serem de baixa digestibilidade (CHARLTON, 1996).

Um dos principais fatores antinutricionais presente nos ingredientes vegetais comumente utilizados na fabricação de dietas é o mio-inositol hexafosfato, também chamado fitato. O fitato corresponde à forma predominante de armazenamento de fósforo em uma vasta quantidade de vegetais (NRC, 1994), sendo um composto praticamente indigerível para animais monogástricos, como os peixes, já que estes não possuem naturalmente a presença de fitases, enzimas que realizam a digestão do fitato (JACKSON et al., 1996). Sendo assim, praticamente todo fósforo fítico adicionado a rações a partir de ingredientes vegetais acaba passando diretamente pelo trato digestório dos animais, podendo ser lançado diretamente no meio de cultivo e causando danos (CAO et al., 2007), como florações algais. Não bastasse isso, o fitato apresenta cargas negativas em sua estrutura molecular que podem se ligar a compostos de carga positiva, como proteínas, amido, aminoácidos, minerais como: cálcio, magnésio, cobre, zinco, entre outros, formando complexos insolúveis e, portanto, indisponíveis para utilização dos peixes, diminuindo a digestibilidade destes nutrientes (SUGIURA et al., 2001). Outro fator negativo da presença de fitatos na ração é que esses compostos podem se combinar também com enzimas digestivas endógenas do animal, como as proteases, diminuindo a sua ação (RAVINDRAN, 1995), e mais uma vez diminuindo a digestibilidade e disponibilidade de nutrientes.

Devido a estes efeitos negativos causados pela presença de fitatos na fabricação de rações, muitos pesquisadores têm focado seus estudos na adição de fitases exógenas na formulação de suas dietas (KUMAR et al., 2011; CAO et al., 2007; LEMOS; TACON, 2016). A fitase (mio-inositol hexaquisfosfato fosfohidrolase) é uma enzima naturalmente presente em animais ruminantes sendo produzida por bactérias presentes em seu intestino (NAKASHIMA et al., 2007), essa enzima catalisa a hidrólise do fitato, liberando ao menos em parte inositol e fósforo inorgânico, tornando-os mais biodisponíveis para o organismo do animal. Diferente dos ruminantes, animais monogástricos e agástricos, tais como as aves, suínos e peixes, não possuem a fitase em seu organismo

naturalmente, porém, esta pode ser adicionada às rações para estes animais produzindo efeitos benéficos tanto na disponibilidade do fósforo fítico, como o aumento da digestibilidade de outros nutrientes, reduzindo a ação de efeitos antinutricionais provindos do fitato. Os benefícios da adição de fitases exógenas na aquicultura ainda é um campo aberto, com uso ainda pequeno, mas crescente nos alimentos para organismos aquáticos (LEMOS; TACON, 2016).

Diferente da fitase, a protease é uma enzima endógena aos peixes, isto é, ela é produzida e secretada naturalmente pelo organismo do animal atuando como catalisador na quebra de ligações peptídicas (BARRET, 1994). Em condições normais os animais produzem proteases em quantidades adequadas para digerir os alimentos encontrados na natureza. Entretanto, a utilização de rações com elevados níveis de proteínas, provindos das mais variadas fontes (ingredientes vegetais e animais, não comuns à dieta natural de peixes), visando o alto desempenho tanto em crescimento como em conversão alimentar, reduzem a capacidade de digestão deste nutriente nas dietas como um todo, uma vez que esses ingredientes normalmente possuem valores de digestibilidade menores que os encontrados para a farinha de peixe (SHI et al., 2016). Com isso, a suplementação de dietas com proteases exógenas vêm sendo testadas na alimentação de peixes. Drew et al. (2005) testaram dietas suplementadas com protease na alimentação de truta arco-íris, obtendo resultados positivos na conversão alimentar e na digestibilidade de proteína bruta, extrato etéreo, energia e matéria seca, semelhantemente, Chowdhury (2014) em estudos com três espécies de salmonídeos, verificou melhoras na digestibilidade de carboidratos e proteínas em rações com suplementação de protease.

1.2 Introdução à espécie estudada

O bijupirá, *Rachycentron canadum* Linnaeus 1766, é conhecido no Brasil por diferentes nomes, conforme a região. Além de bijupirá, é também chamado de beijupirá, pirambiju, parambiju e cação de escamas, e mundialmente é conhecido por cobia. É o único representante da família Rachycentridae, sendo um peixe de escamas muito pequenas, corpo alongado e subcilíndrico, possui a cabeça grande e achatada, as nadadeiras dorsal e anal são do mesmo tamanho. A nadadeira caudal tem o lobo superior muito maior que o inferior. A coloração

é marrom escura, sendo o ventre amarelado, apresenta duas faixas prateadas ao longo do corpo, podendo alcançar 2 metros de comprimento total e 68 kg, com uma idade máxima de 15 anos. É uma espécie que habita regiões neríticas e epipelágicas, realizam natação ativamente devido à ausência de vesícula gasosa, além de possuir comportamento migratório. O bijupirá é uma espécie que dificilmente nada em grandes cardumes, formando normalmente grupos de 2 a até 8 indivíduos, distribuindo-se por águas tropicais e subtropicais de todos os continentes, entre as latitudes 32 °N e 28 °S, com exceção da porção leste do Pacífico, sendo, portanto, naturalmente encontrada em todo o litoral brasileiro (SHAFFER; NAKAMURA, 1989; BROWN-PETERSON et al., 2001). Devido ao fato de não formar cardumes não existe uma pesca direcionada ao bijupirá como espécie alvo, sendo capturado ao acaso em linhas de mão, covos, e rede de emalhe, além da caça submarina, e que por ser um peixe selvagem, acredita-se que não suportaria a pressão de uma pesca exploratória direcionada (CAVALLI ; HAMILTON, 2009).

O bijupirá é uma espécie relativamente nova no cenário mundial da aquicultura, tendo suas atividades iniciadas em 1995 em Taiwan. A aceitação do mercado asiático fez com que a produção comercial crescesse, em conjunto com novas técnicas e formas de manejo para a espécie, sendo também conseguida a produção em massa de alevinos para a engorda em cativeiros (LIAO et al., 2004). Além da aceitação no mercado, e a relativa facilidade em obtenção de desova e produção de alevinos (SOUZA-FILHO; TOSTA, 2008), o fator de maior interesse na espécie para a aquicultura é a sua elevada taxa de crescimento (LIAO; LEAÑO, 2007), sendo capaz de alcançar entre 4 a 6 kg em um ano (BENETTI et al., 2008), e chegando a até 10 kg em 16 meses, sendo as taxas de conversão alimentar também muito atrativas, próximas a 1,5:1 (BENETTI et al., 2008). A espécie apresenta fácil aceitação a rações comerciais, com boa adaptação ao cativeiro (CRAIG et al., 2006). Um dos fatores mais importantes a ser mensurado na criação do bijupirá são as temperaturas do ambiente de cultivo e sua variação ao longo do ano, sendo que as temperaturas de maior crescimento, conversão alimentar e taxa de sobrevivência, ficam na faixa de 27 a 29 °C (SUN et al., 2006; LIAO; LEAÑO 2007), o que no Brasil só seria encontrado continuamente ao longo do ano na região nordeste. Para compensar temperaturas inferiores, a região sudeste se destaca como principal mercado

consumidor, sendo possível a obtenção de lucros com a criação nesta região devido à proximidade dos mercados (CAVALLI; HAMILTON, 2009). Dentre as espécies de peixes presentes nos mares brasileiro, o bijupirá é a que reúne o maior número de aspectos positivos com melhor potencial a ser explorado, sendo novamente destacadas as seguintes qualidades, obtidas por estudos nacionais: fácil desova, consolidada em laboratórios brasileiros, alta fecundidade, rusticidade a variações de qualidade da água, adaptação a alimentação artificial, altos níveis de crescimento e carne de excelente qualidade (NUNES, 2014).

Em 2010, a produção mundial de bijupirá foi estimada em 40 mil toneladas (FAO, 2012), sendo os principais produtores a China, Taiwan e o Vietnã. No Brasil, o bijupirá é cultivado principalmente por criadores artesanais, que usam, em grande parte, rejeitos de pesca para a alimentação, havendo, porém, opções de rações destinadas à espécie no mercado, mas que ainda apresentam resultados inferiores ao rejeito de pesca (RAGGI; 2016), sendo ainda a ração e o seu custo, tanto monetário como ambiental uma das maiores lacunas na criação do bijupirá nacional.

2.1 Avaliação de diferentes dietas suplementadas com enzimas exógenas na alimentação de juvenis de bijupirá em fase de engorda em tanques-rede no mar

Atualmente existem diferentes sistemas sendo utilizados para engorda de bijupirás, partindo do mais simples, em baías e enseadas abrigadas utilizando-se de balsas e plataformas construídas artesanalmente e com uso principalmente de rejeito de pesca como alimento, muito comuns em criações asiáticas (LIAO et al., 2004), até as mais sofisticadas, instaladas em regiões de mar aberto, com a utilização de gaiolas submergíveis com volume útil de mais de 3 mil m³, com alimentação automatizada e uso de grandes embarcações, presentes nas águas caribenhas (BENETTI et al., 2008). A engorda de bijupirás em tanques rede possui excelentes resultados no ganho de peso, com animais apresentando ganho de peso médio maiores do que 5 kg em um ano (GAUMET et al., 2007), e ganhos de 18 kg em um ano e meio de cultivo (WAHJUDI; MICHEL, 2007), sendo estes resultados intrinsicamente ligados a temperatura (SCHWARZ et al., 2007). O sistema de cultivo em tanque rede no mar para engorda da espécie é um dos mais utilizados (SAMPAIO et al., 2011), no sudeste brasileiro alguns pequenos cultivos em tanques rede estão localizados em áreas abrigadas na costa ou adjacentes as ilhas, com produções estimadas em cerca de 40 toneladas anuais (KUROKAWA et al., 2015), com a utilização de rações comerciais e por vezes rejeito de pesca (RAGGI, 2016), sendo a principal e talvez única forma de produção comercial atualmente na região.

Visto a importância do modelo de cultivo de engorda em tanques rede para a piscicultura regional, o presente estudo foi conduzido em sistema semelhante ao praticado atualmente, em pequenos tanques redes em enseada abrigada, porém, todo voltado a utilização e avaliação de rações fabricadas, sem a utilização do rejeito de pesca, sendo testadas diferentes dietas, formuladas a partir de uma dieta base de elevada inclusão de farinha de peixe, sendo realizadas substituições parciais dessa farinha por concentrado proteico de soja e farinha de vísceras, suplementadas com as enzimas exógenas fitase e a protease.

2.2. Material e Métodos

2.2.1 Animais experimentais e manutenção em cultivo

Foram adquiridos cerca de 1000 alevinos de bijupirás junto à fazenda reprodutora de peixes Redemar Alevinos (Ilhabela – SP), sendo todos os animais pertencentes a um mesmo lote de desova e com peso médio de 0.85 g. Os alevinos foram submetidos a um período de jejum de 24 horas antes de serem transferidos para a caixa de transporte. O transporte foi realizado em caixa d'água adaptada (tipo Transfish) com fornecimento de oxigênio puro durante todo o trajeto de Ilhabela até a Base do Instituto Oceanográfico em Ubatuba, com duração de cerca de 2h30 de viagem. Após a chegada, foram tomados os parâmetros de temperatura, oxigênio e salinidade do tanque de transporte e comparados ao tanque de cultivo preparado para a transferência e recebimento dos peixes. A água de transporte foi então trocada gradualmente pela água de cultivo, até que estas se equiparassem e a aclimatização fosse finalizada, transferindo então os alevinos ao tanque berçário (Figura 2A e Figura 2B).

Figura 2 - Alevinos de bijupirá (*Rachycentron canadum*) mantidos em sistema berçário até atingirem peso para utilização em experimento de engorda: sendo transferidos do transfish para o berçário (A), durante alimentação no tanque de berçário (B) e, vista superior do sistema berçário em tanque circular (C).

Fonte: Rafael Coelho

O sistema de berçário (Figura 2C) montado para receber os alevinos de bijupirá consistiu em um tanque circular com volume de água de 14 m³, com troca de água constante (sistema aberto) à uma vazão média de 9 litros por minuto, que correspondeu a troca de 92% da água por dia. Este tanque possuiu sistema de aeração da água por meio de pedras porosas e também por sistema de venturi que funciona a partir de bombas de água e diferença de pressão, injetando ar no sistema, o sistema de venturis confere também uma circulação constante da água do tanque. A limpeza do tanque foi realizada diariamente pela manhã mediante sifonamento do fundo e também da troca de 80% da água do tanque, baixando o nível de água e preenchendo-o novamente. O berçário possuiu ainda um skimmer de superfície para auxiliar na retirada de compostos orgânicos do sistema, esse atua em um equipamento em forma de coluna, com aeração constante da água, a qual restaura o balanço de oxigênio, gás carbônico e nitrogênio do sistema, ocasionando na formação de uma espuma negra e densa, que carrega consigo compostos orgânicos para fora do sistema. A

alimentação dos alevinos foi realizada 4 vezes ao dia até a saciedade aparente dos alevinos, com o intuito de evitar o canibalismo, inicialmente utilizando ração comercial (O.Range Nurse XL 1.2 mm – INVE Bélgica), sendo trocada gradualmente por dieta de fabricação própria do nosso laboratório (AquaMar – 2 mm de diâmetro, Laboratório de Aquicultura, Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo) (Tabela 1).

Tabela 2 – Composição centesimal (% , matéria natural) das dietas utilizadas durante a fase de berçário de alevinos de bijupirá.

	INVE O.Range Nurse XL ¹	AquaMar ²
Umidade	5,0	5,5 (0,51)
Proteína bruta	55,0	52,8 (0,23)
Extrato etéreo	13,0	14,1 (0,19)
Matéria mineral	13,5	16,9 (0,03)
Fósforo total	1,8	2,5 (0,02)
ELN+F ³	13,5	10,7

¹Valores de rótulo do produto

²Valores apresentados como média (desvio padrão) determinados em lote distinto, produzido com a mesma formulação e ingredientes.

³ Extrato livre de nitrogênio mais fibras, calculado pela diferença (ELN+F =100-Um+PB+EE+MM)

Diariamente foram medidos parâmetros de saturação e dissolução de oxigênio, salinidade e temperatura do tanque com uma sonda eletrônica YSI (Modelo 85, Yellow Springs –USA). Foram realizadas biometrias parciais de acompanhamento ao início e quinzenalmente de 35 indivíduos capturados aleatoriamente, previamente secos em papel absorvente e pesados em balança semi-analítica (Sartorius CPA 22025). Neste experimento, os peixes foram mantidos nesse sistema berçário desde a chegada (18/12/2015) até atingirem um peso médio de 100 g (após cerca de 70 dias), quando foram transferidos para um tanque-rede no mar de 9 m³ (3 x 3 x 1 m) e passaram a receber duas alimentações diárias (AquaMar – 6 mm de diâmetro), até a triagem para a utilização no experimento proposto.

2.2.2 Ingredientes experimentais

Para a preparação das dietas experimentais foram selecionados ingredientes de origem animal e vegetal disponíveis e utilizados pela indústria de produção de rações para a aquicultura brasileira. Entre os ingredientes animais foram utilizados farinha de peixes, farinha de vísceras, farinha de sangue, farinha de lula, óleo de peixe e hidrolisado de peixe, e, como ingredientes vegetais, foram escolhidos farinha de trigo, farelo de soja, glúten de trigo e a lecitina de soja, sendo que todos foram analisados (Tabela 2), e suas composições centesimais foram consideradas no desenho experimental das dietas. As análises dos ingredientes neste experimento foram realizadas pelo Laboratório de Nutrição Animal do Instituto de Zootecnia de Nova Odessa-SP (IZ-APTA): para determinação do teor de matéria seca foi considerado o resíduo da secagem da amostra em estufa a 103-105 °C; o teor de proteína bruta foi determinado pelo método de DUMAS (combustão da amostra, AOAC, 1997); o extrato etéreo pelos resíduos de substâncias solúveis em éter de petróleo (2003.05-AOAC), e a matéria mineral foi obtida pelo resíduo da incineração da amostra em forno tipo mufla a 500-550 °C (0942.05-AOAC).

Tabela 2 – Composição centesimal (% matéria natural) dos macro ingredientes utilizados na fabricação de dietas para bijupirá.

	Umidade	Proteína bruta	Extrato etéreo	Matéria mineral
Farinha de peixe ¹	7,00	58,61	7,03	25,01
Farinha de vísceras ²	6,00	49,70	9,86	23,90
Farinha de lula ³	11,70	77,53	3,31	3,43
Farinha de sangue ⁴	12,20	82,53	0,96	1,39
Farinha de trigo ⁵	11,80	12,20	1,87	1,54
Glúten de trigo ⁶	7,70	75,57	0,53	1,42
Farelo de soja ⁷	10,80	42,60	4,41	5,88
Óleo de peixe ⁷	-	0,32	99,45	-
Hidrolisado de peixe ⁸	-	24,54	10,02	5,60
Lecitina de soja ⁷	-	3,55	88,40	7,71

(-) componentes não analisados

Valores apresentados em médias de duas réplicas

¹Indústria de Farinha de Peixe Kenya Ltda, Itajaí, SC

²Ipala Ingredientes para alimentação animal Ltda, Guarulhos, SP

³ Proveedora de Productos Marinos SAC, Piura, Peru

⁴Frigorífico Friboi, Vilhena, RO

⁵Moinho Pacífico, Santos, SP

⁶Syral Belgium NV, Aalst, Bélgica

⁷Guabi Nutrição Animal Ltda, Campinas, SP

⁸Aquativ, Symrise AG, Elven, França

Para serem utilizados em dietas para peixes, recomenda-se que os ingredientes possuam a maior parte de suas partículas menores que 600-800 μm (BUREAU et al., 2000; GLENCROSS; HAWKINS, 2004) sendo que a moagem pode trazer uma série de benefícios que são incorporados às dietas, tais como o aumento de digestibilidade dos nutrientes, destruição de alguns fatores antinutricionais, melhorando a qualidade do alimento. Visto isso, os ingredientes utilizados foram previamente moídos em moinho de martelos (Figura 3A) (Modelo MCS 280, 5 cv, Moinhos Vieira, Tatuí, SP), para que o tamanho médio das partículas fosse reduzido, sendo otimizado para o uso na fabricação de alimentos para os peixes (Figura 3B). Os resultados de granulometria obtidos pré e pós moagem pela técnica de peneiramento de 10 minutos em peneira vibratória (ZANOTTO; BELLAVER, 1996) são apresentados na Tabela 3, o trigo e o glúten por possuírem já possuírem frações menores não foram moídos e o seu tamanho de partícula foi determinado por peneiramento manual.

Figura 3 - Processo de moagem e determinação do tamanho de partícula de ingredientes: moinho de martelos (A), moagem de farelo de soja (B) e, peneiras de separação granulométrica dos ingredientes em diferentes diâmetros (no detalhe: amostra de farinha de sangue).

Fonte: Rafael Coelho

Tabela 3 - Frações granulométricas (%) dos ingredientes utilizados na fabricação de dietas experimentais para engorda de bijupirás antes e após uma moagem em moinho de martelo.

Malha da peneira (mm)	Farelo de soja		Farinha de vísceras		Farinha de sangue		Farinha de peixe		Farinha de lula		Farinha de trigo	Glúten de trigo
	Original	Moído	Original	Moído	Original	Moído	Original	Moído	Original	Moído	Original	Original
>1,00	7,21	0,75	22,58	1,46	24,38	0,00	7,96	0,00	19,25	0,02	0,21	0,69
0,841 a 1,00	9,63	0,17	16,45	4,03	7,02	0,23	34,15	1,24	7,68	0,00	0,08	0,21
0,595 a 0,841	33,14	1,01	33,19	14,66	17,50	0,73	35,03	5,79	19,15	0,88	0,23	0,28
0,420 a 0,595	24,25	40,82	19,33	55,11	24,78	12,12	19,63	38,08	44,20	14,53	0,42	0,66
0,250 a 0,420	12,36	39,14	8,40	21,43	16,37	34,98	3,09	41,06	8,29	33,64	1,30	0,73
0,125 a 0,250	11,45	15,65	0,05	3,27	9,01	44,56	0,14	13,48	1,43	40,49	65,87	35,72
<0,125	1,96	2,45	0,00	0,04	0,94	7,38	0,00	0,36	0,00	10,45	31,88	61,70

2.2.3 Desenho experimental e dietas experimentais

A partir dos ingredientes disponíveis foram preparadas 5 dietas experimentais, sendo uma dieta controle (AquaMar – AM1) com testes prévios no laboratório que comprovaram sua eficiência na engorda de bijupirás, e quatro dietas experimentais nas quais foram incorporados diferentes níveis de farelo de soja e também farinha de vísceras, com a redução do uso da farinha de peixe (Tabela – 4). Nessas dietas testes, foram ainda adicionadas as enzimas exógenas fitase e protease, sendo a fitase adicionada às quatro dietas, em nível de 750 unidades de atividade de fitase (FTU) kg^{-1} na ração, a fim de verificar sua atuação na digestibilidade aparente do fósforo presente nas dietas. A protease foi adicionada a duas dietas teste (AM2-600 e AM3-600), enquanto as outras duas representaram o controle negativo (AM2-0 e AM3-0) da enzima, com o intuito de verificar ou não o aumento da digestibilidade aparente da proteína nas dietas pela adição da enzima.

Tabela 4 - Formulação e composição centesimal das dietas experimentais (% , matéria natural) utilizadas na engorda de bijupiras em tanques rede no mar, com a adição de enzimas fitase e protease.

	AM1	AM2-0	AM2-600	AM3	AM3-600
Farinha de vísceras	10	22.45	22.45	18	18
Farelo de soja	-	17.5	17.5	14	14
Farinha de trigo	10	2.55	2.55	15.4	15.4
Lecitina de soja	1	1	1	1	1
Fosfato bicálcico	-	-	-	0.6	0.6
Glúten de trigo	5	5	5	5	5
Farinha de peixe	49	24.5	24.5	19.5	19.5
Farinha de lula	10	10	10	10	10
Óleo de peixe	6	6	6	6.5	6.5
Farinha de sangue	3	5	5	4	4
Hidrolisado de peixe	4	4	4	4	4
Premix mineral e vitamínico ⁴	1	1	1	1	1
Taurina ⁵	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Óxido de cromo ⁶	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Protease ⁷	-	-	600 ppm	-	600 ppm
Fitase ⁸	-	750 FTU kg ⁻¹	750 FTU kg ⁻¹	750 FTU kg ⁻¹	750 FTU kg ⁻¹
Composição determinada (%) ²					
Umidade	5.42 (0.51)	4.78 (0.20)	8.91 (0.20)	5.87 (0.29)	4.68 (0.53)
Proteína bruta	52.78 (0.23)	52.10 (0.59)	50.69 (0.25)	46.36 (0.24)	46.53 (0.18)
Extrato etéreo	14.09 (0.19)	13.82 (0.19)	12.67 (0.57)	12.99 (0.56)	12.50 (0.17)
Cinzas	16.95 (0.03)	14.38 (0.15)	14.58 (0.15)	12.65 (0.07)	12.95 (0.09)
Cromo	0.32 (0.01)	0.36 (0.03)	0.29 (0.00)	0.35 (0.00)	0.32 (0.01)
Fósforo total	2.47 (0.02)	2.06 (0.03)	1.96 (0.04)	1.91 (0.02)	1.93 (0.01)
ENN + F ³	10,8	14,9	13,2	22,1	23,3

FTU (Unidade de atividade de fitase)

²Valores apresentados em média e desvio padrão(n=3 ,± desvio padrão).

³Extrato livre de nitrogênio + fibras, calculado pela diferença (ELN+F =100-Um+PB+EE+MM)

⁴DSM, São Paulo, SP – com a seguinte formulação (mg/kg premix) ácido ascorbido: 250.0; DL-pantotenato de cálcio125.0; cloreto de colina, 750.0; inositol, 400.0; ácido fólico 6.0; biotina, 0.6; niacina, 100; vitamina A (6000 UI/kg), ; vitamina D3 (2000 UI/kg), ; vitamina E, 350.0; vitamina K3, 5.0; vitamina B1, 35.0; vitamina B2, 25.0; vitamina B6, 35.0; vitamina B12, 0.1; Selenio, 0.5; Cromo, 0.5; Ferro, 100.0; Cobre, 10.0; Zinco, 150.0; Mg, 25.0; Iodo, 3.0; Cobalto, 0.5.

⁵Guabi Nutrição Animal Ltda, Campinas, SP

⁶Dinamica Química Contemporânea, Diadema, SP

⁷RONOZYME HiPhos GT, DSM, São Paulo, SP

⁸RONOZYME ProAct CT, DSM, São Paulo, SP

A dieta AM1 e a dieta AM2 foram formuladas para manter um alto valor de proteína bruta, próximo a 50 %, enquanto a dieta AM3 foi desenhada de modo a ter um valor inferior de proteína (44 %), que teria seu valor nutricional

incrementado pela adição das enzimas exógenas. A dieta controle (AM1) foi concebida de forma a atender de forma prática as exigências de uma espécie de peixe carnívora, ainda pouco domesticada, onde a maioria das matrizes reprodutoras ainda provém de captura em ambiente selvagem, sendo esse o motivo do alto teor de proteína animal provindo de farinha de peixe, ingrediente altamente digerível e palatável para peixes carnívoros. As dietas AM1 e AM2 possuem também quantidades maiores de ingredientes de origem animal em sua formulação, enquanto que a dieta AM3 tem uma inclusão maior de ingredientes vegetais. As três dietas possuem valores próximos de gordura total, fornecido principalmente pela adição do óleo de peixe. Com essas formulações, esperou-se verificar o efeito da adição das enzimas exógenas no desempenho e na digestibilidade por meio de ingredientes que substituam a farinha de peixe, atendendo às exigências nutricionais da espécie (NRC, 2011). A inclusão de taurina nas dietas é recomendada a uma taxa de 0,5% (LUNGER et al., 2007), enquanto o óxido de cromo III, também adicionado neste nível (RAMSAY, 2000), é utilizado como um marcador externo para a determinação da digestibilidade a partir da coleta de fezes, sendo este uma substância inerte e indigestível (TACON; RODRIGUES, 1984). O fosfato bicálcico foi adicionado às dietas AM3-0 e AM3-600 para compensar a quantidade menor de fósforo nas duas dietas, uma vez que a inclusão maior de farelo de soja diminui os níveis digestíveis deste.

Cada dieta foi preparada em uma batida única, para que se evitassem possíveis diferenças entre a composição delas, sendo preparados 20 kg de ração por batida, o suficiente para todo o período de experimento.

Os ingredientes foram pesados individualmente, sendo os macros ingredientes (> 5% de inclusão) em uma balança de bancada e os micros ingredientes (entre 5 e 0,5%) em balança semi-analítica e as enzimas em balança analítica. Para a batida e peletização da ração foi utilizada uma batedeira industrial (Modelo ES-600, Hobart) (Figura 4A), na qual foram adicionados os ingredientes seguindo a ordem, primeiramente os macros ingredientes menos a farinha de trigo, na qual eram adicionados os micros ingredientes (menos os líquidos) mais as enzimas. Os macros ingredientes eram batidos previamente (5 minutos), enquanto os menores mais a farinha eram

misturados manualmente, para enfim ser adicionada a mistura maior e novamente batidos (5 minutos). Por último eram adicionados os ingredientes líquidos, tais quais, o óleo de peixe, o hidrolisado e a lecitina de soja, além da água, que tinha uma adição de 4 a 5 litros por batida, sendo que esta era controlada seguindo a homogeneidade e o “ponto” da ração a ser peletizada, e então misturada novamente (5 minutos). Após a completa mistura dos ingredientes a ração foi então peletizada com um diâmetro de 5 mm (Figura 4B), e então levada a secadora (Figura 4C), onde ficou de um dia para o outro (18h), e posteriormente foram nominadas e armazenadas em freezer. O processo de peletização utilizado é denominado peletização a frio, uma vez que não é adicionado calor, a secagem é feita por ventilação, também a frio, sendo que em nenhum dos processos de fabricação da ração a temperatura ultrapassa os 40° C, sendo importante para manter a estabilidade das enzimas utilizadas.

Figura 4 – Processo de fabricação de dietas experimentais em laboratório: com detalhe para a mistura de ingredientes (A), processo de peletização (B) e secagem em bandejas (C).

Fonte: Rafael Coelho

2.2.4 Sistema experimental de tanques-rede instalados em plataforma no mar: manejo e protocolo alimentar

Para o experimento de engorda com as dietas propostas, foram instalados tanques-rede experimentais em uma plataforma flutuante (Figura 5) ancorada a cerca de 100 metros da praia, em frente à Base de Pesquisas do Instituto Oceanográfico na Enseada do Flamengo, Ubatuba-SP. Esta plataforma foi montada com blocos de polietileno de alta densidade (PEAD – PierPlas RS-Brasil) e possuiu duas aberturas de 9 m² onde foram instaladas armações de madeira de modo a promover a instalação de 16 nichos de tanques rede, sendo 15 utilizados para o experimento e um adicional para manutenção, todos esses nichos possuíram tampa evitando a exposição excessiva ao sol e, também proteção de predadores. Em cada nicho foram instalados tanque-redes de nylon com malha de 8 mm (Engepesca – SC - Brasil) e volume de 1m³ (1x1x1) os quais foram povoados com 8 indivíduos cada para o experimento, sendo que cada dieta foi oferecida a 3 tanques (réplicas). As redes foram trocadas a cada 2 semanas (Figura 6A, Figura 6B), secas ao sol e posteriormente limpas com aparelho de lavagem em alta pressão para retirada de incrustações. Parâmetros de salinidade, temperatura, saturação e dissolução de oxigênio foram registrados duas vezes ao dia, pela manhã (8h) e à tarde (16h).

Figura 5 - Sistema experimental de cultivo de bijupirá em tanques-rede localizado no Saco da Ribeira (Ubatuba –SP, detalhe Base de Pesquisa do Instituto Oceanográfico ao fundo): visão geral da plataforma flutuante (A), vista interna do tanque rede (B) e visão superior do tanque e tampa de proteção (C).

Fonte: Rafael Coelho

Os animais experimentais, após transferidos do berçário em terra para as redes instaladas na plataforma flutuante, ficaram nesse sistema por 40 dias para aclimação ao novo ambiente (correnteza, variações de temperatura, salinidade), sendo sempre alimentados com a dieta base AquaMar. Após esta aclimação, os peixes foram pesados e estocados separadamente nos tanques-rede experimentais (Figura 6B), com peso médio inicial de 240 gramas, passando a receber as dietas experimentais. Para realização das pesagens foi utilizada uma balança tipo dinamômetro digital (precisão 0,05 g), a fim de se

evitar erros devidos à movimentação do mar, uma vez que todo o trabalho foi realizado nas plataformas flutuantes.

A alimentação foi oferecida até a saciedade aparente (LOVELL, 1998), visando explorar o potencial máximo de crescimento dos animais, sendo realizada duas vezes ao dia, a primeira alimentação por volta das 8h e a segunda alimentação às 16h, todos os dias da semana, sempre por um mesmo indivíduo operador. Todas as alimentações foram pesadas para posterior cálculo do consumo de alimento para os diferentes tratamentos. Biometrias foram realizadas a cada duas semanas de experimento de engorda (Figura 6C, Figura 6D), que teve duração total de 10 semanas, além da biometria inicial e ao final do trabalho. Após esse período para avaliação do desempenho dos peixes, foram sacrificados 3 animais por tanque, para coleta de amostras de carcaça e órgãos internos.

Figura 6 – Manejo experimental e troca de redes (no mar) de cultivo experimental de bijupirá em fase de engorda, em tanques-rede: retirada de rede para limpeza de incrustações após 2 semanas no mar (A); colocação de redes limpas (B) amostragem e pesagem de bijupirás com balança tipo dinamômetro (C e D).

Fonte: Rafael Coelho

2.2.5 Diagnóstico de ectoparasitas e profilaxias

Após o início do experimento de engorda foi notada a presença de ectoparasitas visíveis nos animais experimentais, *Neobenedenia melleni* (Monogenea: Capsalidae) principalmente na região da cabeça e dos olhos (Figura 7B, 7C), que começavam a apresentar natação errática e princípio de cegueira. Com isso, logo a partir da primeira biometria e em todas as seguintes, foram realizados banhos profiláticos com água doce (Figura 7A), com duração

de 10 minutos, com o intuito de controlar e diminuir a presença de parasitas (KERBER et al., 2011), que apesar de eficaz, não era definitivo devido a recontaminação dos animais. Para isso foi instalada uma mangueira com água corrente diretamente na balsa de cultivo, fundeada por poitas no seu trajeto até o módulo flutuante.

Figura 7 – Manejo profilático de bijupirás em tanques-rede no mar durante a fase de engorda: banho de água doce para eliminação de parasita (A), indivíduo com a presença de ectoparasitas, *Neobenedenia melleni* (B, C).

Fonte: Rafael Coelho

2.2.6 Coleta de fezes

Para a determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente, utilizou-se o método de coleta de fezes denominado stripping (WINDELL et al., 1978), que consiste no massageamento da região ventral do peixe, na direção cabeça-cauda (Figura 8B e 8C), e a subsequente coleta do material fecal em potes. O

stripping foi realizado ao final do período experimental de 10 semanas, com os mesmos peixes utilizados no teste alimentar. Os indivíduos foram previamente anestesiados com eugenol (óleo de cravo) em baldes contendo 10 litros de água do mar e 0,5ml do anestésico (Figura 8A), dia sim, dia não, durante duas semanas, para evitar um estresse maior aos peixes, sendo que cada indivíduo foi amostrado por 6 vezes durante o período. Para isso, os peixes foram alimentados até a saciedade aparente com suas respectivas dietas com que foram avaliados no teste de desempenho, aguardou-se um período de 3 a 4 horas de digestão, e então foi realizado o procedimento. Após a coleta, o material foi armazenado em freezer para posterior análise.

Ao final do período de coleta, os 250 g de matéria fecal (peso úmido) por réplica de tratamento foram posteriormente utilizados na determinação da composição centesimal e também determinação de recuperação do marcador inerte (óxido de cromo).

Figura 8 – Método de coleta de fezes de juvenis de bijupirá por massagem abdominal (stripping) em indivíduos anestesiados em óleo de cravo: processo de anestesia em solução de água do mar (A), técnica de massageamento da região ventral do peixe (B) e coleta em potes do conteúdo fecal (C).

Fonte: Rafael Coelho

2.2.7 Índice hepatossomático (IHS)

Após o período experimental de 10 semanas, foram sacrificados 3 animais por tanque (réplica) de cada tratamento, para realização de análise visual e também para retirada do fígado e posterior utilização no cálculo do IHS.

2.2.8 Equações de desempenho e digestibilidade

As equações apresentadas a seguir foram utilizadas no cálculo do desempenho dos animais após as 10 semanas de testes com as dietas, em fatores como crescimento, conversão alimentar, digestibilidade e outros:

Crescimento C (g) = Peso final – peso inicial

Fator de conversão alimentar FCA = Ingestão por tanque/ crescimento total por tanque

SGR (Specific growth rate - Taxa de crescimento específico) = $(\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial}) / \text{dias} * 100$

PER (Protein efficiency ratio – eficiência no aproveitamento de proteína) = $(\text{peso final tanque} - \text{peso inicial tanque}) / \text{total de proteína ingerida}$

IHS (Índice hepatossomático) = $(\text{peso do fígado} / \text{peso do peixe}) * 100$

Sobrevivência % = $(\text{número final de peixes} / \text{número inicial de peixes}) * 100$

Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA, %):

CDA matéria seca = $100 - 100 * (\% \text{ Cr}_2\text{O}_3 \text{ na dieta} / \% \text{ Cr}_2\text{O}_3 \text{ nas fezes})$

CDA nutrientes (N) = $100 - 100 * [(\% \text{ Cr}_2\text{O}_3 \text{ na dieta} / \% \text{ Cr}_2\text{O}_3 \text{ nas fezes}) * (\text{N nas fezes} / \text{N na dieta})]$

Onde N corresponde ao teor de proteína bruta ou de fósforo nas dietas e nas fezes.

2.2.9 Análises composicionais

Preparação das amostras: as amostras das dietas teste foram coletadas logo após o preparo e armazenadas em freezer a -15 °C até sua utilização, estas amostras foram previamente processadas em um triturador tornando-as mais homogêneas para a realização das análises. As amostras de fezes também foram mantidas armazenadas em freezer até sua utilização e, por conterem grande teor de umidade (>90%), foram liofilizadas e posteriormente secas em estufa à 70 °C até atingirem peso constante, sendo então trituradas e homogeneizadas para as análises.

A composição de dietas e fezes foram determinadas a partir dos métodos padrões descritos em AOAC (2005). Para a determinação do teor de umidade nas dietas (3 réplicas), amostras foram secas em estufa a 103° até atingirem

peso constante, e o teor de umidade foi calculado pela diferença de peso entre a amostra úmida e após a secagem.

A determinação da matéria mineral nas dietas e nas fezes (4 réplicas por tanque) foi feita com ambas em peso seco, e determinada pela diferença de peso das amostras antes e depois da queima em mufla (600 °C por 4 horas), quando as amostras foram resfriadas até temperatura ambiente em dessecador para que então o seu peso pudesse ser medido.

O teor de proteína bruta nas amostras de rações e fezes foi analisada (4 réplicas por ração e por tanque) a partir do método de Kjeldahl (AOAC- 0990.02) com o catalisador sulfato de cobre no processo de digestão ácida a 420 °C em bloco digestor, e posterior destilação em equipamento específico (Kjeltec TM 8200, FOSS) com água destilada, hidróxido de sódio (40 p:v) e ácido bórico a 30 % com indicadores (verde de bromocresol e vermelho de metila), sendo posteriormente titulado com ácido clorídrico 0,1 N até o ponto de viragem. Para o cálculo da proteína bruta, o valor obtido do nitrogênio com a titulação foi multiplicado pelo fator empírico de 6,25 (AOAC-0976.05). O teor de extrato etéreo nas dietas (3 réplicas) foi realizada a partir de extração com o solvente éter de petróleo em equipamento específico (ST 255, SoxtecTM, FOSS), sendo que as amostras foram previamente hidrolisadas com ácido clorídrico 4N em equipamento SoxCap (SC SoxCapTM 247, FOSS, AOAC-2003.05).

Para a determinação do fósforo nas fezes e nas dietas (4 réplicas por tanque e 4 por dieta), ambas foram previamente queimadas em mufla (6 horas a 550 °C) e analisadas segundo o método fotométrico (AOAC – 0965.17), com pequenas adaptações, segundo Weerasinghe et al. (2001) e leitura em cubeta de quartzo de 1 cm de trajeto óptico com comprimento de onda ajustado a 470 nm. A determinação do marcador inerte cromo na ração e nas fezes (3 réplicas por dieta e tanque) foi feita pelo método espectrofotométrico ajustado da 1,5 difenilcarbazida (BREMER-NETO, 2005), com leitura em cubeta de quartzo de 1 cm de trajeto óptico a 550 nm.

2.2.10 Análises estatísticas

Os resultados obtidos foram submetidos a testes de normalidade de Shapiro-Wilk e análise de variância (ANOVA) de um fator. Observadas

diferenças entre as médias, os dados foram submetidos a análise pós-hoc de Tukey HSD. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$ (ZAR, 1984).

2.3 Resultados

2.3.1 Berçário

Os animais apresentaram rápida adaptação e resistência ao sistema berçário planejado para os alevinos, que aliado à ração de alta palatabilidade e boa composição nutricional, resultaram em baixos valores de mortalidade, menores que 3 %. A temperatura e a salinidade se mantiveram uniformes durante o período, com pequenas variações (Figura 9).

Figura 9 - Variação temperatura e salinidade durante o período de berçário de alevinos de bijupirá em tanque de fluxo aberto no laboratório. Valores correspondem à média de duas medições diárias.

Fonte: Rafael Coelho

Os valores de oxigênio dissolvido e sua saturação (Figura 10) se mantiveram em taxas aceitáveis para a espécie, sendo que ao final da fase de berçário houve um decréscimo acentuado devido à biomassa total do tanque estar se elevando com o crescimento dos peixes.

Figura 10 - Variação da saturação e teor de oxigênio dissolvido no sistema berçário de alevinos de bijupirá em tanque de fluxo aberto no laboratório. Valores correspondem a média de duas medições diárias.

Fonte: Rafael Coelho

Apesar dos baixos valores obtidos de mortalidade, devido à presença de deformidades ósseas que prejudicavam a saúde e o desenvolvimento dos peixes, cerca de 20 % foram sacrificados ainda nessa fase de berçário. A alta sobrevivência (excluindo os peixes sacrificados) nessa fase foi alcançada devido principalmente a fatores como: a alimentação diversas vezes (4x) ao dia, evitando assim episódios de canibalismo, muito comuns nessa fase de criação da espécie; concentrações sempre altas de oxigênio dissolvido na água, obtidas graças à instalação de sistema de venturi e pedras de aeração no tanque; manutenção de compostos nitrogenados com o uso de skimmer, troca de água constante e sifonagem diária de restos de ração e fezes no fundo do tanque, entre outras medidas, que garantiram a saúde dos animais no berçário.

Os animais apresentaram uma taxa elevada de crescimento, acompanhada pelo aumento do apetite (Figura 11), com um crescimento diário médio de 1,36 g nesse período de berçário (Tabela 5), com valores de conversão alimentar próximos a 1,05. Os animais partiram de uma biomassa inicial de aproximadamente 1 kg de peixe (1100 peixes de menos de 1 g) para mais de

120,0 kg de peixe em 3 meses, consumindo aproximadamente 126,0 kg de ração.

Figura 11 - Crescimento de juvenis de bijupirá em sistema berçário de fluxo aberto em tanque no laboratório e respectivo consumo de ração diário. Do início do cultivo até a ponto demarcado pela seta (18/01), animais alimentados com ração O.range Inve Nurse, a partir da seta animais alimentados com a dieta AquaMar.

Fonte: Rafael Coelho

Tabela 5 – Desempenho de alevinos de bijupirá em sistema berçário (pré-engorda) no período de 3 meses (18/12/2014 a 19/02/2015).

Ganho de peso médio diário (g)	1,36
Ganho de peso total (kg)	120,0
Consumo de ração total (kg)	127,8
FCA ¹	1,05
Sobrevivência (%)	97,91
Sobrevivência total (%) ²	77,35

¹ FCA – fator de conversão alimentar = Consumo total de ração/ganho de peso total

² Sobrevivência total = % sobrevivência – % animais sacrificados

2.3.2 Parâmetros físicos obtidos na engorda de bijupirás em tanques rede

Os parâmetros físicos durante a fase de engorda não foram controlados por se tratarem de tanques-rede instalados no mar e, portanto, estiveram sob influência das alterações climáticas e do mar local. A temperatura variou em torno de 2 °C nos 70 dias de experimento (Figura 12), estando próximo a 25 °C

no início do trabalho, terminando próximo a 23 °C ao final, período correspondente ao fim do outono e o início de inverno, cujas temperaturas não favorecem o pleno crescimento da espécie. A salinidade apresentou variação menores, de 33,4 a 34,4 durante os experimentos, sendo esses valores superiores ao ideal para o máximo rendimento da espécie.

Figura 12 – Variação de temperatura e da salinidade durante 70 dias de cultivo no mar (13/05 a 20/07/2015).

Fonte: Rafael Coelho

O oxigênio dissolvido variou de 5,2 a 7,2 mg l⁻¹, com uma média de 6,04 mg l⁻¹ durante os experimentos, acompanhado por uma variação conjunta da saturação de oxigênio, que foi de 75 a 108 % e média de 87,3 % (Figura 13).

Figura 13 – Variação do teor e da saturação de oxigênio dissolvido durante os 70 dias de cultivo no mar (13/05 a 20/07/2015).

Fonte: Rafael Coelho

Durante as 10 semanas de experimento, por diversas vezes, foi notada a presença de poluentes como óleo e detergentes, provindos de embarcações de passeio fundeadas próximas ao cultivo, sendo que estes chegaram a causar diminuição do apetite dos animais, assim como observado em dias chuvosos e de mar agitado.

2.3.3 Desempenho durante a fase de engorda em tanques-rede

Nesta fase, os peixes possuíam peso inicial médio de estocagem de 242,4 g ($\pm 2,05$) com pequena variação entre os tratamentos e, apresentaram taxas de crescimento bastante uniformes (Figura 14) durante todo o período experimental, com duração de 70 dias, atingindo ao final um peso médio de 499,8 g ($\pm 21,1$), sem que fosse detectada diferença significativa entre os tratamentos ($p > 0,05$, Tabela 6). Os maiores valores foram obtidos com a dieta AM3-0, com peso final médio de 514,5 g ($\pm 37,1$) e os menores valores para a dieta AM3-600, com peso médio final de 490,4 g ($\pm 37,1$).

Figura 14 – Crescimento de juvenis de bijupirás alimentados com cinco dietas teste durante os 70 dias de cultivo em tanques-rede no mar. Valores apresentados em peso médio, barra de erros = d.p. (n=8 por réplica).

Fonte: Rafael Coelho

O consumo diário de alimento não apresentou incremento significativo durante as 10 semanas de experimento (Figura 15), chegando até a diminuir ao final do experimento, podendo ser reflexo do também decréscimo das temperaturas médias e do aumento na incidência de marés de ressaca com a chegada do inverno (CAMARGO; HARARI, 1994).

Figura 15 – Consumo diário de alimento pelos juvenis de bijupirá durante 70 dias de experimento de engorda em tanques-rede no mar, de acordo com as diferentes dietas. Resultados expressos como média (n=3 por réplica), barras de erros = d.p.

Fonte: Rafael Coelho

O desempenho dos bijupirás (peso inicial e final, ganho de peso, produção por tanque, consumo de ração, FCA, PER, SGR e sobrevivência) cultivados por

10 semanas em tanques-rede está apresentado na Tabela 6. Os peixes alimentados com a dieta AM3-0 apresentaram os melhores resultados de crescimento, consequentemente de ganho de peso e produção por tanque, sendo que estes resultados não se apresentaram estatisticamente diferentes entre os tratamentos, sendo os menores resultados foram registrados com a dieta AM3-600. O consumo de ração entre a dieta AM1 e AM2-0 diferiram entre si estatisticamente, sendo menor para a dieta AM1, com isso o FCA entre as duas dietas também apresentaram diferença. Os demais parâmetros analisados não se apresentaram estatisticamente diferentes entre os tratamentos.

Tabela 6 –Crescimento e desempenho de juvenis de bijupirás em fase de engorda em tanques-rede no mar após 10 semanas alimentados por diferentes dietas. Valores expressos como média (d. p.).

*Valores seguidos pela mesma letra em uma mesma linha não diferem entre si estatisticamente (P<0,05).

	AM1	AM2-0	Dietas AM2-600	AM3-0	AM3-600
Peso Inicial (g)	243,3 (0.36)	240,2 (5.67)	243,9 (2.53)	237,9 (4.61)	243,1 (1.65)
Peso Final (g)	492,7 (29.6)	505,4 (19.0)	496,0 (12.1)	514,5 (37.1)	490,4 (37.1)
Ganho de peso (%)	102,4 (12.4)	110,5 (10.8)	103,3 (6.3)	116,1 (12.9)	101,7 (16.6)
Produção total por tanque (kg)	2,0 (0,24)	2,1 (0,17)	2,0 (0,10)	2,2 (0,27)	1,9 (0,31)
Consumo total de ração por tanque (kg)	3,4 ^a (0,3)	3,9 ^{ab} (0,27)	4,2 ^{ab} (0,23)	4,3 ^b (0,32)	3,9 ^{ab} (0,56)
FCA ¹	1,70 ^a (0,05)	1,88 ^{ab} (0,30)	2,12 ^b (0,13)	1,95 ^{ab} (0,10)	1,98 ^{ab} (0,18)
PER ²	1,11 (0,03)	1,03 (0,15)	0,93 (0,05)	1,11 (0,06)	1,08 (0,10)
SGR ³	1,00 (0,06)	1,06 (0,05)	1,01 (0,03)	1,08 (0,09)	0,95 (0,09)
IHS ⁴	2,40 (0,01)	2,29 (0,12)	2,29 (0,11)	2,56 (0,13)	2,49 (0,07)
Sobrevivência	100,0 (0,00)	95,8 (7,21)	100,0 (0,00)	95,8 (7,21)	100,0 (0,00)

¹FCA – fator de conversão alimentar = Consumo total de ração / ganho de peso total

²PER – Eficiência no aproveitamento de proteína = Crescimento / proteína ingerida

³SGR – Taxa de crescimento específico = $\ln(\text{peso final}) - \ln(\text{peso inicial}) / \text{dias} * 100$

⁴IHS – Índice hepatossomático = $(\text{peso do fígado}/\text{peso do peixe}) * 100$

Os valores obtidos com o IHS (Tabela 6) apresentaram-se semelhantes entre as 5 dietas teste, não sendo encontradas diferenças significativas entre os tratamentos ($p>0,05$), sendo os maiores valores obtidos com a dieta AM3-0 de 2,56, e os menores valores com a dieta AM2-0 e AM2-600, com valores próximos de 2,29.

2.3.4 Coeficientes de digestibilidade aparente

A digestibilidade aparente de matéria seca não apresentou diferença significativa entre as dietas experimentais, sendo a maior média verificada para a dieta AM2-600, e os menores valores obtidos com as dietas AM3-0 e AM3-600. Os peixes apresentaram coeficientes de digestibilidade aparente da fração proteica também sem diferenças significativas entre as dietas (Tabela 7), na faixa

de 73,3 % a 79,0 %, sendo menor para a dieta controle AM1 e maior para a dieta AM2-600.

Tabela 7 – Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) de proteína bruta e fósforo total em juvenis de bijupirá alimentados com dietas experimentais e criados em tanques-rede no mar. Valores expressos como média (desvio padrão).

Dieta	CDA Matéria seca	CDA Proteína bruta	CDA Fósforo
AM1	61,9 (6,03)	73,3 (4,18)	53,1 (7,94)
AM2-0	58,1 (7,38)	77,4 (4,10)	60,4 (16,1)
AM2-600	64,4 (4,89)	79,0 (4,29)	60,7 (3,61)
AM3-0	55,5 (4,78)	78,3 (7,32)	69,8 (3,75)
AM3-600	58,5 (3,80)	78,1 (4,28)	68,4 (9,29)

Assim como para a proteína, o coeficiente de digestibilidade do fósforo foi menor para a dieta controle, que possuiu o valor de 53,2%, sendo maior para a dieta AM3-0, com valor de 69,9%. Apesar dos valores dos coeficientes diferirem bastante relativamente, estatisticamente não apresentaram diferenças, provavelmente devido ao desvio alto entre as réplicas e também devido a limitação de 3 réplicas por dieta.

2.4 Discussão

2.4.1 Berçário

A manutenção da qualidade da água de sistemas de cultivo de berçários é de grande importância para se atingir elevados níveis relativos a taxa de sobrevivência dos animais cultivados (DENSON et al., 2003; RODRIGUES et al., 2011), assim como apresenta grande influência nas taxas de crescimento e na sanidade dos peixes. Com o sistema de troca de água constante, aliado à limpeza diária, retirada de fezes e restos de ração por aspiração do fundo, assim como a presença de um skimmer, possibilitou que a presença de compostos deletérios na água pôde ser sempre controlada, evitando seus malefícios (BARBIERI; DOI, 2012). A fase de berçário realizada durante o verão possibilitou temperaturas da água sempre acima de 26 °C, sendo o valor médio de 28,4 °C durante o berçário, valores considerados ideais para explorar o máximo crescimento de alevinos de bijupirá (SUN et al., 2006). A salinidade variou de 34,2 a 31,5 no mesmo período, com um valor médio de 32,7, sendo influenciada principalmente pela ocorrência de chuvas e o aporte de pequenos rios que

diminuem a salinidade das águas da baía onde é feita a captação para os sistemas, sendo que esses valores de salinidade obtidos estão dentro do recomendado para a espécie (CHEN et al., 2009).

A saturação de oxigênio e o oxigênio dissolvido apresentaram sempre a mesma tendência, com flutuações positivas e negativas, sendo que o oxigênio dissolvido sempre se manteve acima de 4,0 mg l⁻¹ e a saturação de oxigênio na água se manteve a maior parte do período de berçário acima de 65%, valores considerados aceitáveis, mas já próximos ao limite ideal indicado para a espécie (LIAO et al., 2004). Próximo ao final da fase berçário os valores de oxigênio na água apresentaram tendência ao decaimento, principalmente devido à biomassa elevada de peixes no sistema (120 kg), optando-se então pela transferência de peixes para o sistema de tanques-rede em plataforma flutuante, instalado na enseada em frente à base de pesquisas.

O controle da qualidade da água aliada à qualidade das rações utilizadas e o manejo alimentar correto permitiram a manutenção de bons resultados de crescimento, fator de conversão alimentar e taxa de sobrevivência durante a fase de berçário com alevinos de bijupirás. O crescimento de 1,36 g dia⁻¹ foi equivalente ao encontrado na literatura (BENETTI et al., 2010) para a fase juvenil dos bijupirás, sendo notável a rápida taxa de ganho de peso da espécie nesta fase. O fator de conversão alimentar (FCA) do bijupirá é considerado atraente para o mercado aquícola (BENETTI et al., 2008), sendo os valores encontrados na fase de berçário do presente estudo (FCA = 1,05) são compatíveis com estudos pretéritos (BENETTI et al., 2003, 2010) e podem ser considerados bons. A taxa de sobrevivência (97,9 %) obtida durante o cultivo de berçário foi considerada alta quando comparados a outros estudos (FAULK et al., 2007) para esta fase de desenvolvimento dos peixes, sendo fruto do bom controle de qualidade da água, e do manejo alimentar utilizado, que evitou episódios de canibalismo, muito comuns nessa fase de criação da espécie (FAULK et al., 2007). Apesar dos baixos valores obtidos com a mortalidade natural, devido à presença de deformidades ósseas que prejudicavam o desenvolvimento dos peixes e que inviabilizaria o uso destes em experimentos que visam analisar o desempenho, cerca de 20 % dos alevinos de bijupirás foram então sacrificados ainda na fase de berçário, a fim de evitar sua utilização nos testes futuros. Tais

más formações já foram relatadas em outros estudos (MCLEAN; SALZE, 2008) e podem apresentar alto índice de incidência em alevinos e juvenis de bijupirás.

2.4.2 Parâmetros físicos durante engorda de bijupirás em tanques-rede

Os parâmetros físicos durante a fase de engorda não foram controlados por se tratarem de tanques-rede instalados no mar e, portanto, estiveram sob influência das alterações climáticas e mar local. A temperatura variou em torno de 3° C, com valores máximos de 25,1 °C ao início do experimento, chegando a um mínimo de 21,4 °C, e terminando próximo de 23 °C, com um valor médio de 23,3 °C após 10 semanas de experimento, que ocorreu no período que correspondeu ao fim do outono e início de inverno, época em que as taxas de crescimento dos bijupirás são notavelmente menores quando comparadas a estações mais quentes (SUN et al., 2006; SUN; CHEN 2009; BENETTI et al., 2010), estando as temperaturas bem abaixo da variação ideal para o máximo crescimento, que vai de 27 °C a 31 °C (SUN et al., 2006). A salinidade apresentou pouca variação para o mesmo período, de 33,4 a 34,4 durante os experimentos, sendo esses valores superiores ao ideal para o máximo rendimento da espécie descrito por Chen et al. (2009) que relataram valores entre 28,9 e 29,9.

Por se tratar de um cultivo em tanques-rede, a circulação de águas e a influência de correntes e marés possibilitou durante todo o período de cultivo bons valores de oxigênio dissolvido, sempre acima de 5 mg l⁻¹ ou 75% de saturação, considerados propícios para explorar o máximo potencial de crescimento durante a engorda da espécie (LIAO et al., 2004).

2.4.3 Desempenho com as dietas teste

O crescimento dos bijupirás não apresentou diferenças significativas ($p>0,05$) entre os 5 tratamentos testados. Em termos absolutos a dieta AM3-0 foi a que obteve os melhores resultados com o crescimento atingindo o valor final médio de 514 g por indivíduo, enquanto o pior crescimento foi obtido com a dieta AM3-600, com um valor médio de 490 g por indivíduo. O crescimento médio, levando-se em conta os 5 tratamentos foi de 499,8 g ao final de dez semanas de experimento, com um ganho de peso médio de 258,1 g, o que nos dá um

incremento médio de 3,68 g dia⁻¹ por peixe. Apesar de ser um crescimento que pode ser considerado alto para um cultivo, quando comparado com outros resultados e o potencial previsto para a espécie (CHOU et al., 2004; BENETTI et al., 2010), vimos que o crescimento pode ter sido limitado por algum ou alguns fatores durante esse experimento (i.e., temperatura e a presença de parasitas). Como a dieta AM1 (controle) foi formulada de modo a atender as exigências nutricionais, com ingredientes adequados para a espécie, consideramos que se as outras condições fossem favoráveis (fatores abióticos e sanidade do peixe), o crescimento seria próximo ou igual ao potencial para espécie. Como isso não foi atingido, foram elencados dois principais fatores limitantes para o crescimento dos bijupirás durante o experimento: a temperatura que esteve durante todo o experimento abaixo do indicado para a espécie (CHOU; CHEN, 2001; FRASER; DAVIES, 2009) e também a presença de parasitas e a necessidade de manejo constante dos peixes para o seu controle, fatores que podem também ter prejudicado o crescimento dos peixes durante o experimento. Nestas condições, todas as dietas testadas obtiveram desempenho semelhante ou até melhor que a dieta controle, sugerindo que a substituição parcial da farinha de peixe por ingredientes animais (farinha de vísceras) e vegetais (farelo de soja) pode ser utilizada na fabricação de dietas para engorda de bijupirás, como já reportado em estudos anteriores (SAADIAH et al., 2011; SUAREZ et al., 2013).

O consumo de ração mostrou uma tendência de decaimento durante o experimento, diferentemente do esperado, que seria de os peixes comerem mais conforme o aumento de biomassa, fato que pode ter sido ocasionado pelo decréscimo de temperatura com o início do inverno, assim como o aumento do estresse nos peixes ocasionados pelos parasitas e banhos profiláticos. O consumo de alimento apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos AM1 e AM2-600, sendo maior para a dieta AM2-600, com isso, o fator de conversão alimentar também se mostrou diferentes entre as duas dietas, uma vez que o crescimento foi parecido, sendo o FCA melhor para a dieta AM1, e entre as demais dietas não houve diferenças tanto no consumo de ração como no fator de conversão alimentar, sendo os valores obtidos com FCA compatíveis com outros já obtidos em estudos com a espécie (BENETTI et al., 2010; SAADIAH et al., 2011; PHILIPOSE et al., 2013; MOREIRA et al., 2015), porém, sendo ainda maiores que o potencial de desempenho da espécie (BENETTI et

al., 2003, 2008). Tanto o maior consumo de ração como o maior FCA da dieta AM2-600 podem ser resultado de deficiência de secagem durante a fabricação dessa dieta, sendo que esta possuiu cerca de 70% a mais de umidade em sua composição quando comparada às demais. A sobrevivência também não apresentou diferença entre os tratamentos, sendo que apenas dois peixes, um de cada tratamento (AM2-0 e AM3-0) vieram a óbito, muito possivelmente devido a causas extra cultivo (derrame de óleo), já ao final do experimento.

Estudos de substituição parcial da farinha de peixes por ingredientes de origem tanto animal como vegetal em dietas para bijupirá demonstraram a capacidade da espécie em digerir esses ingredientes alternativos (CHOU et al., 2004; ZHOU et al., 2004; SAADIAH et al., 2011; SUAREZ et al., 2013). A digestibilidade aparente de matéria seca encontrada para dietas com maior inclusão de farinhas de peixe, farinhas de vísceras e farelo de soja possuíram valores de 61%, 64% e 55% respectivamente no presente experimento. Chou et al. (2004) demonstraram que a digestibilidade da matéria seca para ingredientes vegetais foram ligeiramente menores quando comparados a farinhas de origem animal, como a de peixe e de vísceras, enquanto Luo et al. (2012) constataram que a digestibilidade aparente de matéria seca diminuiu gradativamente com adição do ingrediente vegetal colza nas dietas testadas, sendo os fatores antinutricionais e também a presença de carboidratos pouco digeríveis neste ingrediente vegetal considerados os principais responsáveis por essa queda no CDA de matéria seca.

Para a proteína, a digestibilidade aparente variou de 79,1 a 73,3% e, apesar de não apresentar diferenças significativas, a digestibilidade das dietas com inclusão de protease em sua formulação foram sensivelmente maiores (AM2) ou iguais (AM3) aos seus pares, sem a inclusão. Os valores obtidos são compatíveis aos obtidos por Zhou et al. (2004) que testaram a substituição de farinhas de peixes em dietas por ingredientes como farinha de vísceras, farinha de soja, entre outros de origem animal e vegetal. Diferentemente da matéria seca, a digestibilidade aparente de proteína foi menos influenciada pela adição de componentes vegetais na dieta, assim como já constatado em outros estudos (ZHOU et al., 2004), sendo inclusive menores os valores encontrados para o CDA de proteína para a dieta controle no presente estudo, que por possuir uma

quantidade maior de proteínas providas da farinha de peixe, teoricamente uma fonte mais digerível e com um perfil de aminoácidos mais próximo as necessidade de peixes carnívoros, deveria possuir um CDA mais elevado. Tais resultados podem ser ocasionados pelos componentes e pelo modo de fabricação desta farinha de peixe, sendo composta majoritariamente por subprodutos do processamento do pescado.

Poucos estudos exploraram a digestibilidade de fósforo em dietas para bijupirás (ZHOU et al., 2004; LUO et al., 2012), e demonstraram que a espécie possui uma boa capacidade em digerir este nutriente (FRASER; DAVIES, 2009). Assim como para a proteína, o coeficiente de digestibilidade do fósforo foi menor para a dieta controle, que possuiu o valor de 53.2%, sendo este maior com a dieta AM3-0, com valor de 69.9%. A dieta controle (AM1) apresentou uma alta quantidade de fósforo na sua composição que pode ter excedido os valores exigidos para o peixe, fato que pode ter levado com que grande parte deste fosse eliminado com as fezes. As dietas AM2 e AM3, apesar de possuírem uma quantidade maior de fósforo de ingredientes vegetais na forma de fitato, que teoricamente não estaria disponível para animais monogástricos (KUMAR et al., 2012), foram complementadas com a fitase, que possivelmente auxiliou na digestão desse complexo (KUMAR et al., 2012). Além disso, essas dietas possivelmente possuíram um perfil de fósforo total mais compatível com a exigência da espécie, que ainda não foi determinada, levando assim a valores mais altos no coeficiente de digestibilidade. Apesar dos valores dos coeficientes diferirem bastante relativamente, estatisticamente estes não apresentaram diferenças devido à alta variação entre as réplicas e possivelmente também devido a limitação de 3 réplicas por dieta.

A utilização de enzimas exógenas é uma pratica já utilizada e consolidada na indústria de alimentação animal (MUNIR; MAQSOOD, 2013), sendo principalmente importante na alimentação de animais monogástricos como frangos, suínos e também peixes. Mais recentemente alguns estudos têm indicado os benefícios do uso de enzimas exógenas na alimentação de peixes (CASTILLO; GATLIN, 2015; LEMOS; TACON, 2016). Hlophe-Ginindz et al. (2016) testaram 4 dietas com a suplementação de um coquetel com 6 enzimas (alfa-amilase, beta glucanase, fitase, celulase, xilanase e protease) em

comparação com um controle sem adição de enzimas na alimentação da tilápia *Oreochromis mossambicus*, e em todos os resultados de desempenho e digestibilidade testados, as dietas suplementadas foram significativamente melhores que a dieta controle, além disso, a suplementação de enzimas exógenas favoreceu e elevou o nível de atividade também das enzimas endógenas dos peixes, Lin et al. (2007) verificou o aumento nas secreções de proteases e amilases endógenas em tilápias alimentadas com dietas a base de vegetais suplementadas com as enzimas protease, b-glucanase e xylanase. Diversos estudos com fitases (PORTZ; LIEBERT, 2004; LIU et al., 2013) evidenciam o melhoramento em aspectos como desempenho e digestibilidade de fósforo e outros compostos minerais para espécies de peixes, tanto de água doce (GONÇALVES et al., 2005; LIU et al., 2013), como salgada (SAJJADI; CARTER, 2004), e de clima temperados (OLIVA-TELES et al., 1998) ou tropicais (GONÇALVES et al., 2007; VERLHAC-TRICHET et al., 2014). No presente estudo não foi possível mensurar benefícios da adição da fitase e protease às dietas, uma vez que os resultados obtidos com as rações que incluíam ambas as enzimas apresentaram resultados iguais ou ligeiramente inferiores a aqueles apenas incluindo a fitase. Alguns autores trabalhando com estas enzimas ou um mix com mais enzimas (YIGIT et al., 2016) também relataram poucos ou nenhum efeito positivo na suplementação de dietas com as enzimas, enquanto outros (CAO et al., 2007; DREW et al., 2014; HLOPHE-GININDZA et al., 2016) apresentaram dados promissores no uso de enzimas em peixes, com aumento no desempenho e digestibilidade dos animais.

A temperatura, assim como a presença de parasitas durante todo o período experimental provavelmente acabaram tornando-se fatores limitantes para o crescimento e bem-estar dos animais antes de ser possível fazer qualquer inferência sobre as dietas utilizadas, tornando as cinco dietas delimitadas por um nível baixo de rendimento. Desta forma, o efeito da adição de enzimas exógenas para juvenis de bijupirá foi testado novamente no experimento descrito na próxima seção.

3.1 Avaliação do desempenho de juvenis de bijupirá em sistema berçário recirculante em função de dietas com substituição parcial de farinha de peixe e suplementadas com enzimas exógenas

Sistemas de berçário apresentam grande importância no processo produtivo de bijupirás, sendo costumeiramente divididos em 3 fases. (LIAO et al., 2004). Na primeira fase animais de 0,2 g atingem 5 g com aproximadamente 25 dias de cultivo, sendo esse o período de desmame, quando os animais são condicionados a comerem rações em detrimento ao alimento vivo. Na segunda fase os animais chegam a 30 g depois de mais 30 dias, com alta frequência de arrazoamento, a última fase, os animais partem de 30 a 600 gramas, em mais 75 dias, e é realizada em tanques redes junto a costa (LIAO et al., 2004). A utilização de berçário em sistemas recirculantes ou raceways apresenta níveis muito melhores de sobrevivência quando comparados a cultivos em que os peixes são estocados diretamente no mar (WEBB, et al., 2007), onde o manejo de gradeamento se torna muito mais difícil, e o animal por possuir um porte pequeno, muitas vezes não resiste às adversidades encontrados nos cultivos no mar (LIAO et al., 2004), a manutenção de animais em berçário permite também maior controle de temperatura, sendo que juvenis podem ser mantidos nesse tipo de sistema para estocagem no mar com a chegada de estações mais quentes (WEBB et al., 2007). O Brasil ainda carece de sistemas de cultivo em terra para manutenção de juvenis em fase de berçário, com peixes sendo estocados diretamente em cultivos no mar, comumente com menos de 10 gramas.

Neste capítulo o estudo buscou reproduzir a fase de berçário comumente utilizadas por criadores, principalmente os de grande escala, e que trazem diversos benefícios à criação, sendo a sobrevivência o principal deles. Foram testadas diferentes dietas, formuladas a partir de uma dieta controle com elevada inclusão de farinha de peixe, na qual foram realizadas substituições parciais por concentrado proteico de soja e farinha de vísceras, suplementadas com enzimas exógenas, a fitase e a protease.

3.2 Materiais e métodos

3.2.1 Animais experimentais e manejo inicial

Semelhantemente ao descrito na seção 2.2.1. foram adquiridos alevinos de bijupirás junto à fazenda reprodutora de peixes Redemar Alevinos (Ilhabela – SP), sendo todos os animais pertencentes a um mesmo lote de desova, com peso médio de 1,13 g. Esses animais foram estocados em sistema berçário com mesmas características, e mesmo manejo de cultivo descritos na seção 2.2.1. Os animais permaneceram neste sistema por 20 dias (16/03 a 04/04/2016), quando foram transferidos para o sistema de berçário experimental, alimentados com diferentes dietas.

3.2.2 Pré-tratamento e análises dos ingredientes utilizados

Assim como para o primeiro experimento, em tanques-rede (seção 2) foram escolhidos diferentes ingredientes de origem animal e vegetal já disponíveis e utilizados na aquicultura brasileira. Entre os ingredientes animais estão a farinha de peixe, farinha de vísceras, farinha de sangue, farinha de lula, óleo de peixe e hidrolisado de peixe, e como ingredientes vegetais foram escolhidos o concentrado proteico de soja, farinha de trigo, glúten de trigo e a lecitina de soja, sendo que todos foram analisados (Tabela 8), e suas composições foram consideradas no desenho experimental das dietas. As análises dos ingredientes foram realizadas no Laboratório de Aquicultura (LAM, São Paulo) segundo métodos e referências descritas em **2.2.9**, sendo a matéria seca calculada pela diferença de peso antes e após a secagem a 103 °C em estufa, a proteína bruta determinada pelo método Kjeldahl, o extrato etéreo calculado pela extração com éter de petróleo, a matéria mineral determinada pela diferença de peso da amostra após queima em mufla a 550 °C e a quantidade de fósforo pelo método fotométrico.

Tabela 8 – Composição centesimal (% , matéria natural) dos ingredientes e do suplemento utilizados na fabricação de dietas experimentais para o experimento com juvenis de bijupirá em fase de berçário.

	Umidade	Proteína bruta	Extrato etéreo	Matéria mineral	Fósforo total
Farinha de peixe ¹	7,13	52,96	7,46	31,15	2,52
Farinha de vísceras ²	4,71	59,15	14,76	16,33	1,59
Farinha de lula ³	6,21	83,91	2,48	3,59	0,72
Farinha de sangue ⁴	4,95	89,25	0,93	1,51	0,10
Farinha de trigo ⁵	10,52	12,40	2,43	1,51	0,41
Glúten de trigo ⁶	6,83	76,50	1,57	0,70	0,22
Concentrado proteico de soja ⁷	4,45	60,46	0,15	6,86	0,56
Lecitina de soja ⁸	-	3,55	88,40	7,71	3,00
Óleo de peixe ⁸	-	0,32	99,45	-	-
Hidrolisado de peixe ⁸	-	24,54	10,02	5,60	-
Fosfato Bicalcico ⁹	-	-	-	-	18,00

Valores apresentados como médias de duas réplicas

(-) não determinado

¹ Nicoluzzi Industria de Rações Ltda., Penha, SC

² Ipala Ingrediente Nutrição Animal, Guarulho, SP

³ Proovedora de Productos Marinos SAC, Piura, Peru

⁴ NutriBelo Industria e Comércio de subprodutos animais Ltda, Campo Belo, MG

⁵ Moinho Pacífico, Santos, SP

⁶ Syral Belgium NV, Aalst, Bélgica

⁷ Sementes Selecta SA, Goiânia, GO

⁸ Guabi Nutrição Animal Ltda., Campinas, SP

⁹ Aquativ, Symrise AG, Elven, França

Assim como no primeiro experimento, os ingredientes foram moídos e analisados, segundo a mesma metodologia empregada e detalhada em **2.2.2**, por meio de um moinho de martelos, e as frações granulométricas obtidas a partir de peneiramento em plataforma vibratória por 10 minutos. Os resultados da moagem são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Frações granulométricas dos ingredientes utilizados na fabricação de dietas experimentais para a fase berçário de bijupirás antes e após o processo de moagem.

Malha da peneira (mm)	Concentrado proteico de soja		Farinha de Visceras		Farinha de Sangue		Farinha de Peixe		Farinha de Lula		Farinha de trigo	Glúten de trigo
	Original	Moído	Original	Moído	Original	Moído	Original	Moído	Original	Moído	Original	Original
>1,00	8,34	0,75	22,39	1,13	24,39	0,00	8,93	0,95	20,53	0,89	0,21	0,69
0,841 a 1,00	10,23	0,21	17,93	4,12	6,14	0,12	33,38	1,23	12,49	1,40	0,08	0,21
0,595 a 0,841	31,95	1,21	29,92	15,21	19,00	0,93	27,95	7,44	18,29	6,12	0,23	0,28
0,420 a 0,595	25,43	37,34	18,88	54,12	23,12	13,40	22,94	40,26	37,82	22,09	0,42	0,66
0,250 a 0,420	10,39	38,84	10,19	22,43	16,23	35,35	6,80	37,44	5,44	21,21	1,30	0,73
0,125 a 0,250	12,92	18,23	0,67	2,40	10,95	45,02	0,00	11,42	4,32	40,48	65,87	35,72
<0,125	0,73	3,41	0,00	0,58	0,16	5,17	0,00	1,26	1,10	7,81	31,88	61,70

3.2.3 Motivação e dietas experimentais

A partir dos ingredientes disponíveis foram preparadas 8 dietas (Tabela 10), sendo a dieta controle AquaMar (alta inclusão de farinha de peixe), denominada tratamento 1 (T1), e sete dietas teste, nas quais foram incorporados diferentes níveis de concentrado proteico de soja (CPS) e também farinha de vísceras (FV), em substituição parcial à farinha de peixe (FP). Todas as dietas foram formuladas de modo a serem isoproteicas e isolipídicas, ou seja, possuíam as mesmas quantidades (%) calculadas em sua formulação de proteína e extrato etéreo. As dietas teste possuíam as seguintes características: tratamento 2 (T2) foi formulada para ser uma dieta controle com alto teor de ingrediente vegetal, com substituição de FP por CPS, sendo que uma parte considerável do fósforo presente nessa dieta provém do CPS, e estaria parcialmente complexado na forma de fitato, forma de fósforo considerada teoricamente indisponível para peixes carnívoros como o bijupirá, além de possuir efeitos antinutricionais (CAO et al., 2007); o tratamento 3 (T3) possuiu a mesma formulação da dieta T2, sendo porém, adicionado a este fósforo inorgânico (fosfato bicálcico), elevando assim o fósforo disponível na dieta; ao tratamento 4 (T4), de mesma formulação base do T2, foi adicionado a enzima fitase em uma quantidade de 1000 FTU (unidade de atividade de fitase), para verificar sua função sobre disponibilidade do fósforo provindo dos ingredientes vegetais; o tratamento 5 (T5) com formulação semelhante ao T3, foi adicionado, além do de fósforo inorgânico, a enzima exógena protease para testar a sua ação na digestibilidade dos nutrientes pelos peixes, em combinação com a suplementação de fósforo; no tratamento 6 (T6), que também possuiu como base a formulação T2, foram adicionadas ambas enzimas exógenas, a fitase a 1000FTU e a protease 600 ppm, a fim de testar a ação conjunta das duas enzimas; no tratamento 7 (T7) foi testada a substituição da FP por outra fonte de proteína animal, a FV a uma razão de aproximadamente 50%; no tratamento 8 (T8), de mesma formulação base do T7 foi adicionada a protease exógena para verificação de possíveis alterações no desempenho e na digestibilidade aparente de nutrientes.

Tabela 10. Formulação e composição centesimal das dietas experimentais (% , matéria natural) para juvenis de bijupirá em berçário recirculante.

Ingrediente	T1 (Aquamar- controle FP)	T2 (CPS)	T3 (CPS+ Pinorg)	T4 (CPS+Phy)	T5 (CPS+ Pinorg+Pro)	T6 (CPS+Phy+Pro)	T7(FV)	T8(FV+Pro)
Farinha de Peixe	49	17	17	17	17	17	25	25
Farinha de vísceras	10	10	10	10	10	10	30	30
Farinha de Lula	10	10	10	10	10	10	10	10
Farinha de sangue	3	3	3	3	3	3	4	4
Farinha de trigo	10	11,7	10,3	11,7	10,3	11,7	14	14
Glúten de trigo	5	5	5	5	5	5	5	5
Concentrado proteico de soja	-	28	28	28	28	28	-	-
Óleo de peixe	6	8	8	8	8	8	5	5
Hidrolisado de peixe	4	4	4	4	4	4	4	4
Lecitina de soja	1	1	1	1	1	1	1	1
Premix mineral e vitamínico ²	1	1	1	1	1	1	1	1
Fosfato Bicálcico	-	-	1,4	-	1,4	-	-	-
Cr ₂ O ₃ ³	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Taurina ⁴	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Metionina ⁵	-	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	-	-
Fitase ⁶	-	-	-	100ppm	-	100ppm	-	-
Protease ⁶	-	-	-	-	600ppm	600ppm	-	600ppm
Composição determinada (matéria natural) ¹								
Umidade	6,35 (0,01)	5,15 (0,03)	5,73 (0,04)	4,93 (0,05)	6,03 (0,06)	4,98 (0,5)	4,09 (0,01)	3,97 (0,01)
Energia (kcal/kg)	4607,0	4919,0	4841,0	4934,0	4852,0	4897,0	4878,0	4846,0
Proteína Bruta	47,4 (0,11)	48,0 (0,64)	47,9 (0,57)	47,7 (0,27)	47,3 (0,01)	48,0 (0,50)	49,1 (0,62)	49,5 (0,48)
Extrato etéreo	14,2 (0,10)	13,3 (0,01)	13,5 (0,05)	13,6 (0,11)	12,1 (0,19)	13,1 (0,07)	14,8 (0,01)	15,0 (0,12)
Matéria mineral	18,8 (0,57)	10,8 (0,19)	11,5 (0,14)	10,4 (0,08)	11,8 (0,24)	10,8 (0,11)	14,2 (0,10)	14,4 (0,31)
Fósforo	2,94 (0,03)	1,65 (0,01)	1,86 (0,02)	1,59 (0,01)	1,97 (0,01)	1,61 (0,02)	2,23 (0,16)	2,35 (0,02)
Cr ₂ O ₃	0,375 (0,01)	0,341 (0,00)	0,340 (0,02)	0,306 (0,01)	0,254 (0,00)	0,271 (0,00)	0,255 (0,00)	0,300 (0,01)

¹Valores apresentados em média (n=3), (desvio padrão), exceto Energia.

²DSM, São Paulo, SP – com a seguinte formulação (mg/kg premix) ácido ascorbido: 250.0; DL-pantotenato de cálcio 125.0; cloreto de colina, 750.0; inositol, 400.0; ácido fólico 6.0; biotina, 0.6; niacina, 100; vitamina A (6000 UI/kg), ; vitamina D3 (2000 UI/kg), ; vitamina E, 350.0; vitamina K3, 5.0; vitamina B1, 35.0; vitamina B2, 25.0; vitamina B6, 35.0; vitamina B12, 0.1; Selenio, 0.5; Cromo, 0.5; Ferro, 100.0; Cobre, 10.0; Zinco, 150.0; Mg, 25.0; Iodo, 3.0; Cobalto, 0.5.

³Dinâmica Química Contemporânea, Diadema, SP

⁴Guabi Nutrição Animal Ltda, Campinas, SP

⁵Evonik Degussa GmbH, Hanau, Alemanha.

⁶RONOZYME HiPhos GT, DSM, São Paulo, SP

⁶RONOZYME ProAct CT, DSM, São Paulo, SP

A partir dessas formulações, esperou-se verificar o efeito da adição dietética das enzimas exógenas no desempenho e digestibilidade aparente por meio de ingredientes que substituam uma parte da farinha de peixe, atendendo as exigências nutricionais da espécie (NRC, 2011). A inclusão de taurina nas dietas é recomendada a 0,5% por vir sendo sugerida essencial (LUNGER et al., 2007), enquanto o óxido de cromo III, também adicionado em 0,5% (RAMSAY, 2000) é utilizado como um marcador externo para a determinação da digestibilidade a partir da coleta de fezes, sendo este uma substância inerte e indigestível (TACON e RODRIGUES, 1984). Nas dietas com maior teor de ingredientes vegetais (CPS), foi adicionado o aminoácido metionina, para compensar sua diminuição nestas formulações.

As dietas foram preparadas segundo a mesma metodologia descrita na seção 2.2.3, sendo alterado apenas o diâmetro da peletização das dietas, que passou de 5 mm para 2 mm.

3.2.4 Sistema experimental recirculante berçário de bijupirás: manejo e protocolo alimentar

O sistema experimental de berçário onde foram testadas as dietas consistiu em um sistema fechado recirculante (Figura 13) composto por 32 tanques cilíndricos de 0,5 m³ cobertos com tampa que permite a passagem de iluminação (fotoperíodo natural), instalados em um galpão na Base de Pesquisas do Instituto Oceanográfico da USP em Ubatuba (Laboratório de Aquicultura). O sistema foi abastecido com água do mar captada por bombeamento logo a frente (cerca de 25 metros) à praia da Base (Lamberto), passando previamente por filtros de cartucho tipo CUNO (5 e 25 µm) e também por filtros tipo U.V. Adições

de água foram feitas conforme necessário devido a perdas (lavagem dos tanques e evaporação). Este sistema fechado é composto por dois reservatórios com volume de 1000 litros cada, duas caixas de decantação com sistema de filtração mecânica (tipo perlon), que era lavado e trocado diariamente, dois skimmers que auxiliavam na remoção de compostos nitrogenados (Figura 16A) e filtros biológicos compostos por mídias plásticas de alta superfície. Todos os tanques contavam com sistema de entrada de água e aeração individuais, além de serem do tipo auto-limpantes, decantando os resíduos para um coletor externo, que era removido e lavado duas vezes ao dia, sem ocasionar estresse aos animais. O aquecimento foi feito por um aquecedor de fluxo de 9000W e um aquecedor de imersão de 1500 W, controlados por termostatos, mantendo a temperatura próxima de 28 °C.

Os peixes foram transferidos do sistema de berçário para o sistema experimental, pesados individualmente em balança semi-analítica e distribuídos, sendo colocados 20 peixes por tanque, com peso inicial médio de 14,6 g. Após 5 dias de aclimação ao sistema, sendo alimentados com a ração comercial de berçário (INVE O.range Nurse), os alevinos passaram a receber os 8 diferentes tratamentos, sendo estes aleatoriamente distribuídos entre os 32 tanques (4 réplicas por tratamento). A alimentação foi feita duas vezes ao dia, às 9:00 e 16:00 horas, até a saciedade aparente, manualmente, sete dias por semana, sempre por um mesmo operador, e pesadas antes e após a alimentação. Como dito, os animais utilizados no experimento foram todos pesados individualmente ao início do experimento, sendo realizadas também biometrias quinzenais de um tanque por réplica de tratamento para o acompanhamento do crescimento, e por fim, uma pesagem de todos os peixes individualmente no final do experimento que teve duração de sete semanas. Foram tomados parâmetros de qualidade da água como oxigênio dissolvido, temperatura e salinidade (Sonda digital YSI 85, Yellow Springs –USA) duas vezes ao dia, sempre após as alimentações, e semanalmente foram medidos o pH, amônia total dissolvida, nitrito e nitrato (Alfakit Ltda, Florianópolis, SC).

Assim como no experimento em tanques-rede, após o período de testes de desempenho das dietas, foi feita a coleta de fezes segundo os mesmos procedimentos explicados em 2.2.6, pelo método de stripping com peixes

anestesiados em óleo de cravo, sendo, porém, as fezes coletadas e agrupadas por tratamento, e não por réplica, devido à reduzida quantidade de amostras conseguidas após 3 semanas de coletas (+/- 55 g úmido/tratamento) em indivíduos daquele tamanho (90-100 g). Após o período de coleta, as fezes ficaram armazenadas em recipientes em freezer a -15 °C, até serem liofilizadas e secas para análise.

Figura 16 – Sistema experimental recirculante utilizado nos testes de dietas para juvenis de bijupirá: dispositivos de tratamento de água (caixas de decantação com filtro mecânico (perlon), skimmers e filtro biológico) à frente com as linhas de tanque ao fundo (A), vista superior dos 32 tanques experimentais (B) peixes recebendo alimentação (C) e vista do interior de um dos tanques experimentais (D).

Fonte: Rafael Coelho

Após o fim do experimento de desempenho e da coleta de fezes, foram sacrificados aleatoriamente 6 peixes por réplica de tratamento, sendo utilizados para amostragens de carcaça, ossos e fígado, e obtenção de dados para cálculo do índice hepatossomático (IHS). Os animais foram eutanasiados com óleo de

cravo. Amostras de fígados foram retiradas imediatamente após a morte dos animais e pesadas, assim como amostras de carcaça inteiras para o IHS. Os demais peixes foram imediatamente congelados em recipientes fechados e mantidos assim até a sua utilização nas análises.

3.2.5 Análises laboratoriais

As amostras de carcaça e fígado foram moídas e secas em estufa a 103 °C até atingirem peso constante, sendo posteriormente trituradas para análise. Carcaças de peixes (n=3 por tanque) foram cozidas para facilitar a retirada de amostras de ossos, sendo esses secos em estufa a 103 °C e triturados para as análises de teores de matéria mineral e fósforo, as réplicas foram homogeneizadas em uma amostra única por tratamento.

Amostras de ração e fezes dos 8 tratamentos, assim como carcaças, fígado e ossos, foram analisados segundo métodos descritos detalhadamente em 2.2.9,

O conteúdo energético bruto de dietas e fezes foram analisados segundo método da medida das calorias liberadas pelas amostras oxidadas em bomba calorimétrica (AOAC, 1995) realizadas pelo Laboratório de nutrição animal do Instituto de Zootecnia de Nova Odessa-SP (IZ-APTA).

3.2.6 Cálculos de desempenho e digestibilidade aparente

As equações foram utilizadas no cálculo do desempenho dos animais após as 7 semanas de testes com as dietas, em fatores como crescimento, conversão alimentar, digestibilidade e outros, como descrito em 2.2.8, considerando adicionalmente:

$$\text{NPU (Net protein utilization - utilização líquida de proteínas)} = (\text{Proteína retida na carcaça} \times 100) / \text{Proteína ingerida}$$

$$\text{CDA (coeficiente de digestibilidade aparente) de nutrientes \%} = 100 - 100 \times [(\text{Indicador dieta} / \text{Indicador fezes}) \times (\text{N fezes} / \text{N dieta})]$$

Onde N corresponde ao teor de proteína bruta, extrato etéreo, energia ou teor de fósforo nas dietas e fezes para os seus respectivos cálculos.

3.2.7 Índice hepatossomático (IHS)

Após o período experimental de 10 semanas, foram sacrificados 3 animais por tanque (réplica) de cada tratamento, para realização de análise visual e também para retirada do fígado e posterior utilização no cálculo do IHS.

3.2.8 Análises estatísticas

Os resultados obtidos foram submetidos a testes de normalidade de Shapiro-Wilk e análise de variância (ANOVA) de um fator. Observadas diferenças entre as médias, os dados foram submetidos a análise pós-hoc de Tukey HSD. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$ (ZAR, 1984).

3.3 Resultados

3.3.1 Qualidade de água e desempenho de bijupirás em berçário

Durante os 20 dias em que os alevinos de bijupirás estiveram no sistema de berçário, os parâmetros de qualidade de água pouco variaram (Figura 17), sendo a temperatura máxima de 29,2 e mínima de 26,2 °C, a salinidade variou de 34,2 a 32,1 e o oxigênio dissolvido de 5,29 a 4,64 mg l⁻¹, que corresponde à uma saturação de 67 a 88%.

Figura 17 – Parâmetros de qualidade de água obtidos durante 20 dias de berçário com bijupirás.

Fonte: Rafael Coelho

O crescimento dos animais e o consumo de ração aumentaram linearmente durante os 20 dias de berçário (Figura 18), sendo que ao início os

bijupirás possuíam peso médio de 1,35 g e após 20 dias já atingiram 14,6 g, enquanto o consumo de total de ração ao início foi de 151,0 g e ao final os animais já consumiam 1545,0 g diariamente.

Figura 18 – Evolução do peso individual e consumo de ração (Inve O.range Nurse XL) de alevinos de bijupirá em sistema berçário.

Fonte: Rafael Coelho

A biomassa total do tanque com esse crescimento foi de 1,35 kg ao início, chegando a 17,6 kg ao final de 20 dias de berçário (Tabela 11), sendo esse ganho de peso de 16,2 kg, uma média de incremento de 0,812 kg por dia. Os animais apresentaram valores de conversão alimentar abaixo de 1,0, considerados muito bons para um cultivo, assim como uma elevada taxa de sobrevivência, sendo que apenas 5 animais morreram do total de 1200.

Tabela 11– Desempenho de alevinos de bijupirá (1200 indivíduos) em sistema de berçário com fluxo aberto, durante 20 dias.

Berçário	
Ganho de peso médio diário (g)	1,35
Ganho de peso total (kg)	16,25
Consumo de ração total (kg)	15,42
FCA ¹	0,95
Sobrevivência (%)	99,58

¹ FCA – fator de conversão alimentar = Consumo de alimento por tanque/ crescimento total por tanque

3.3.2 Parâmetros físicos obtidos durante experimento com juvenis de bijupirás em sistema recirculante

Durante o início do experimento a temperatura dos tanques foi mantida próxima à 28 °C, caindo no decorrer do experimento devido a problemas técnicos com o aquecedor utilizado, sendo que o mesmo foi desligado, e a temperatura baixou a valores de até 23,2 °C nos horários medidos, essa queda de temperatura resultou em uma temperatura média de 26,4 °C durante as 7 semanas de experimento (Figura 19). A salinidade variou de 35,2 a 34,0, sendo o valor médio de 34,51.

Figura 19 – Variação da temperatura e salinidade durante sete semanas de cultivo em sistema berçário recirculante para alevinos de bijupirás.

Fonte: Rafael Coelho

Os valores de oxigênio dissolvido, amônia total e nitrito na água do sistema recirculante são apresentados na Figura 20. O oxigênio foi mantido sempre acima de 4,40 mg l⁻¹, com valor médio de 5,20 durante as sete semanas de experimento de desempenho. Os valores de amônia total variaram de 0,0 a 0,2 mg l⁻¹, e para o nitrito foram encontrados valores que variaram de 0,10 a 2,0 mg l⁻¹, ambos valores não apresentam efeitos tóxicos para os alevinos de bijupirás (RODRIGUES et al., 2007) .

Figura 20 – Variação do teor de oxigênio dissolvido, amônia total e nitrito no sistema recirculante berçário com alevinos de bijupirá. Valores no interior dos círculos vermelhos e verdes representam os valores obtidos para leituras de amônia total e nitrito em mg l^{-1} (kit comercial Alfakit).

Fonte: Rafael Coelho

3.3.3 Desempenho com as dietas teste

A evolução do peso médio individual durante as sete semanas de experimento é apresentada na Figura 21. Os bijupirás ao início do experimento apresentaram valor médio de 14,6 g e, após sete semanas, alimentados com os 8 diferentes tratamentos, atingiram valor médio de 95,5 g, sendo maiores para o T1 com média de 100,5 g e menores para o T5, onde os peixes atingiram o peso médio final de 88,4 g, sendo o resultado estatisticamente diferente para esses dois tratamentos ($p < 0,05$). Não houve diferença significativa entre os pesos finais atingidos entre os demais tratamentos. Pela evolução do peso médio individual dos alevinos de bijupira durante as sete semanas de experimento, podemos notar que o T5 sempre esteve com a menor ou dentre as menores taxas de crescimento, enquanto no quesito de maior crescimento, os tratamentos alternaram neste posto durante as sete semanas do teste.

O consumo de alimento médio diário foi calculado para as sete semanas de experimento, e em cada um dos oito tratamentos utilizados (Figura 21), o aumento no consumo de ração durante o experimento foi relativamente baixo,

quando comparado ao aumento no peso médio dos peixes, que chegou a aumentar mais que 6 vezes em relação ao peso inicial, enquanto o consumo médio nem sequer dobrou durante o mesmo período.

Figura 21 – Crescimento de juvenis de bijupirá, mantidos em sistema berçário recirculante, durante sete semanas, submetidos a diferentes tratamentos alimentares.

Fonte: Rafael Coelho

Figura 22 – Consumo diário médio de alimento de juvenis de bijupirás em sistema berçário, alimentados com diferentes dietas, apresentado por colunas mais barras de erros. Valores calculados a partir da média diária semanal.

Fonte: Rafael Coelho

O consumo de ração foi sempre maior no período matutino, que correspondeu à alimentação realizada às 8h, em todos os tratamentos experimentais utilizados (Figura 23).

Figura 23 – Ingestão total por tratamento, dividida entre os horários de alimentação.

Fonte: Rafael Coelho

Dados de crescimento e parâmetros utilizados para mensurar o desempenho dos diferentes tratamentos são apresentados na Tabela 12. O crescimento foi estatisticamente maior apenas quando T1 foi comparado ao T5, sendo que não houve diferença entre os demais tratamentos. Produção por

tanque, ganho de peso (%), sobrevivência e SGR não apresentaram diferenças estatísticas entre os oito tratamentos. O FCA foi melhor para animais alimentados com os tratamentos T2, T4 e T6, sendo os piores valores encontrados no T1, assim como o PER, que indica a eficiência na utilização da proteína das dietas.

Tabela 12 – Crescimento e desempenho de juvenis de bijupirás sob as diferentes dietas experimentais mantidos durante sete semanas em sistema berçário recirculante.

	T1(AquaMar- Controle FP)	T2 (CPS)	T3 (CPS+P _{inorg})	T4 (CPS+Phy)	T5 (CPS + P _{inorg} + Pro)	T6 (CPS + Phy + Pro)	T7 (FV)	T8 (FV + Pro)
Peso inicial (g)	14,9 (0,37)	14,8 (0,41)	14,5 (0,46)	14,2 (0,10)	14,6 (0,34)	14,5 (0,28)	15,0 (0,47)	14,5 (0,33)
Peso médio final (g)	100,5 ^a (8,40)	97,7 ^{ab} (8,67)	93,9 ^{ab} (8,54)	93,2 ^{ab} (5,34)	88,4 ^b (9,99)	93,8 ^{ab} (5,28)	98,1 ^{ab} (9,11)	97,1 ^{ab} (5,01)
Produção por tanque (kg)	1,68 (0,140)	1,63 (0,191)	1,54 (0,206)	1,55 (0,062)	1,35 (0,098)	1,53 (0,123)	1,66 (0,172)	1,63 (0,100)
Ganho de peso em relação ao inicial (%)	574,6 (59,7)	561,6 (51,3)	547,4 (57,9)	555,4 (36,8)	504,5 (51,1)	546,0 (50,6)	554,5 (42,0)	570,0 (32,6)
Consumo total (kg)	2,07 ^a (0,113)	1,74 ^{bce} (0,136)	1,73 ^{bce} (0,150)	1,65 ^{be} (0,102)	1,55 ^b (0,114)	1,66 ^{be} (0,103)	1,96 ^{ac} (0,177)	1,92 ^{ace} (0,082)
Sobrevivência (%)	98,7 (1,87)	98,7 (1,87)	97,5 (3,75)	98,7 (1,87)	93,7 (3,75)	98,7 (1,87)	100,0 (0,00)	97,5 (3,75)
FCA ¹	1,24 ^a (0,04)	1,07 ^b (0,04)	1,13 ^{ab} (0,08)	1,07 ^b (0,03)	1,15 ^{ab} (0,04)	1,07 ^b (0,04)	1,18 ^a (0,02)	1,20 ^a (0,02)
PER ²	1,70 ^a (0,06)	1,94 ^b (0,07)	1,86 ^{ab} (0,13)	1,96 ^b (0,06)	1,84 ^{ab} (0,07)	1,94 ^b (0,07)	1,72 ^a (0,02)	1,69 ^a (0,03)
SGR ³	3,88 (0,18)	3,85 (0,15)	3,80 (0,19)	3,83 (0,11)	3,66 (0,17)	3,80 (0,16)	3,83 (0,13)	3,87 (0,10)

*Valores apresentados em médias e desvio padrão (4 réplicas por tratamento)

Letras diferentes em uma mesma linha representam diferenças significativas estatisticamente entre os tratamentos (p<0,05)

¹FCA – fator de conversão alimentar = Consumo total de ração / ganho de peso total

²PER – Eficiência no aproveitamento de energia = Crescimento / proteína ingerida

³SGR – Taxa de crescimento específico = $\ln(\text{peso final}) - \ln(\text{peso inicial}) / \text{dias} * 100$

Para o cálculo do coeficiente de digestibilidade aparente de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, energia e fósforo não foi possível a aplicação de comparação estatística, uma vez que as réplicas utilizadas provinham sempre de uma mesma amostra por tratamento, ou seja, não houve réplicas por tanque, uma vez que as fezes foram amostradas e agrupadas por tratamento. Porém, em valores absolutos (Tabela 13) podemos notar a tendência de maior digestibilidade dos nutrientes analisados para os tratamentos T6, T7 e T8, em sua maioria. Nota-se também que o T6, quando comparado ao seu correspondente sem as enzimas (T2), apresentou valores muito superiores de digestibilidade, principalmente para matéria seca, extrato etéreo, energia e fósforo.

Na Tabela 14 são apresentados os valores obtidos na análise de composição centesimal (matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, fósforo e matéria mineral) de juvenis de bijupirá antes do início do experimento e após sete semanas alimentados com as diferentes dietas. A composição inicial dos alevinos diferiu significativamente no teor de extrato etéreo, fósforo e matéria mineral na carcaça quando comparado aos animais submetidos às dietas teste. Além disso, os tratamentos também apresentaram diferenças significativas entre si, principalmente nos teores de extrato etéreo e fósforo nas carcaças. O extrato etéreo variou de 33,9% a 29,7% entre os tratamentos, sendo maiores para o T8 e menores para o T2. O teor de fósforo foi maior para animais alimentados com as dietas T1 e T3, e apresentou os menores valores para animais alimentados com as dietas T2 e T4.

Valores obtidos do índice hepatossomático não apresentaram diferenças estatísticas entre os oito diferentes tratamentos alimentares, sendo ligeiramente maiores para as dietas T7 e T2, e os menores valores encontrados nos tratamentos T1 e T5 (Tabela 14).

Foram determinados os valores de matéria mineral e fósforo de ossos de bijupirás após o período experimental (Tabela 15), assim como os teores de proteína bruta, extrato etéreo e umidade de fígados desses mesmos animais (Tabela 16).

Tabela 13 – Coeficientes de digestibilidade aparente de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, energia e fósforo em juvenis de bijupirá mantido com 8 diferentes tratamentos alimentares.

Coeficiente de digestibilidade	T1(AquaMar-Controle FP)	T2 (CPS)	T3 (CPS+P _{inorg})	T4 (CPS+Phy)	T5 (CPS + P _{inorg} + Pro)	T6 (CPS + Phy + Pro)	T7 (FV)	T8 (FV + Pro)
CDA Matéria seca	64,02	55,72	54,00	59,37	57,82	67,85	72,19	70,86
CDA Proteína Bruta	75,90	77,22	76,39	79,48	77,47	84,13	79,79	78,78
CDA Extrato etéreo	91,30	90,57	88,73	89,66	88,92	93,46	95,95	96,24
CDA Energia	76,76	72,86	73,55	75,82	74,89	81,73	80,23	78,72
CDA Fósforo	74,13	71,28	67,75	73,40	74,52	80,51	85,04	86,60

Tabela 14 – Composição inicial e após o período de sete semanas alimentados com oito diferentes tratamentos alimentares em sistema berçário recirculante (% , matéria seca), utilização líquida de proteínas (%) e índice Hepatossomático.

	Inicial	T1(AquaMar- Controle FP)	T2 (CPS)	T3 (CPS+P _{inorg})	T4 (CPS+Phy)	T5 (CPS + P _{inorg} + Pro)	T6 (CPS + Phy + Pro)	T7 (FV)	T8 (FV + Pro)
Matéria seca	23,6 (2,11)	29,8 (3,29)	28,7 (5,06)	29,0 (2,91)	29,8 (5,97)	28,1 (7,13)	28,9 (5,35)	30,7 (4,82)	30,9 (2,28)
Proteína bruta	54,9 (2,19)	51,1 (1,31)	51,6 (2,84)	52,1 (2,97)	49,8 (4,63)	51,5 (1,45)	52,0 (1,34)	49,3 (2,07)	50,3 (3,35)
Extrato etéreo	22,2 ^a (1,87)	32,9 ^{bc} (1,78)	29,6 ^c (1,47)	30,3 ^{bc} (1,96)	33,8 ^b (2,40)	32,0 ^{bc} (1,59)	30,5 ^{bc} (1,47)	32,6 ^{bc} (1,40)	33,5 ^{bc} (1,68)
Fósforo	2,75 ^a (0,31)	2,15 ^b (0,08)	1,83 ^c (0,04)	2,15 ^b (0,12)	1,96 ^{bc} (0,05)	2,07 ^{bc} (0,05)	2,09 ^{bc} (0,10)	2,04 ^{bc} (0,12)	1,99 ^{bc} (0,11)
Matéria mineral	15,5 ^a (0,48)	11,7 ^b (0,17)	9,77 ^c (0,17)	11,4 ^b (1,22)	10,8 ^{bc} (0,43)	11,6 ^b (0,59)	11,9 ^b (0,09)	10,9 ^{bc} (0,350)	10,7 ^{bc} (0,17)
NPU	-	22,2 ^{ab} (0,80)	24,4 ^{ab} (1,22)	23,5 ^{ab} (1,81)	24,5 ^{ab} (0,65)	21,5 ^b (0,70)	24,6 ^a (1,01)	22,2 ^{ab} (0,55)	22,3 ^{ab} (0,48)
IHS		3,37 (0,33)	3,54 (0,46)	3,49 (0,33)	3,47 (0,42)	3,37 (0,51)	3,39 (0,42)	3,72 (0,52)	3,45 (0,39)

*Valores apresentados em médias e desvio padrão (4 réplicas por tratamento)

*Letras diferentes em uma mesma linha representam diferenças significativas estatisticamente entre os tratamentos (p<0,05).

¹ NPU – (Utilização líquida de proteínas) = (Proteína retida na carcaça*100) / Proteína ingerida)

² IHS – Índice Hepatossomático = (peso do fígado/peso do peixe) *100

Tabela 15 – Teores de matéria mineral e fósforo nos ossos de bijupirás (% , matéria seca) após sete semanas de alimentação com diferentes tratamentos alimentares.

Composição Ossos	T1(AquaMar- Controle FP)	T2 (CPS)	T3 (CPS+P _{inorg})	T4 (CPS+Phy)	T5 (CPS + P _{inorg} + Pro)	T6 (CPS + Phy + Pro)	T7 (FV)	T8 (FV + Pro)
Matéria mineral	27,2	27,1	31,5	33,8	36,0	28,0	33,2	32,3
Fósforo	4,10	4,15	4,49	4,39	4,28	4,41	4,37	4,67

Tabela 16– Teores de proteína bruta, extrato etéreo e umidade de fígados de bijupirás (% , matéria seca) após sete semanas de alimentação com diferentes tratamentos alimentares.

Composição Fígado	T1(AquaMar- Controle FP)	T2 (CPS)	T3 (CPS+P _{inorg})	T4 (CPS+Phy)	T5 (CPS + P _{inorg} + Pro)	T6 (CPS + Phy + Pro)	T7 (FV)	T8 (FV + Pro)
Proteína Bruta	16,62	18,41	17,16	18,66	19,62	19,75	18,37	19,41
Extrato etéreo	62,6	60,4	60,5	59,4	64,8	57,0	53,1	61,2
Umidade	49,3	51,6	51,2	49,3	54,0	48,4	53,8	50,1

Os dados obtidos com a composição de ossos (Tabela 15) e composição do fígado (Tabela 16) dos juvenis de bijupirá, assim como os dados de digestibilidade, não possuíram desvio padrão calculado e estatística aplicada, uma vez que as amostras foram das replicas foram homogeneizadas em amostras por tratamento, sendo então os resultados sempre provenientes de uma só amostra média. Em valores absolutos a adição de enzimas exógenas apresentou influência sobre a deposição de matéria mineral e fosforo nos ossos de juvenis de bijupirá. Para a análise do fígado, os valores foram mais homogêneos, sendo as dietas suplementadas ligeiramente com valores maiores de proteína e valores menores de extrato etéreo nesse órgão.

3.4 Discussão

3.4.1 Berçário pré-experimento

O berçário pré-experimento teve duração de apenas vinte dias, com os peixes passando de um peso inicial médio de 1,13 para 14,67 g, alcançando então o peso para serem utilizados no experimento proposto. Neste período, a taxa de crescimento específico (SGR) foi de 12,81% dia⁻¹, valor superior aos encontrados na literatura para juvenis da espécie (CHOU et al., 2001; DENSON et al., 2003; WEBB et al., 2007; LIAO et al., 2004; ZHOU et al., 2011), sendo importante ressaltar o período curto e o peso inicial reduzido, fatores que também contribuem para o elevado SGR obtido. A biomassa do tanque de berçário aumentou em treze vezes o valor inicial de 1,3 kg, com um ótimo valor de fator de conversão alimentar (FCA) sendo mais baixo ou igual aos encontrados em outros estudos (CHOU et al., 2001; WEBB et al., 2007), assim como a sobrevivência, que possuiu valores próximos a 100%. O bom desempenho zootécnico obtido nessa fase pré-experimento se deveria a diversos fatores conciliados, sendo os principais: a manutenção da qualidade de água através de trocas parciais, limpeza e aeração constante e, as temperaturas elevadas devido a estação de verão (DENSON et al., 2003; LIAO et al., 2004; SUN et al., 2006), o uso de ração de boa qualidade nutricional aliado ao manejo alimentar correto (LIAO et al., 2004), e também ao bom estado de saúde dos alevinos adquiridos.

3.4.2 Parâmetros físicos durante o cultivo em sistema berçário recirculante

O bijupirá atinge seus melhores valores de conversão alimentar e ganho de peso em cultivos com a temperatura variando de 27 a 33 °C, (SUN; CHEN, 2014), sendo que em temperaturas mais baixas é notável a perda de apetite e a diminuição nas taxas de crescimento (SUN; CHEN, 2009). Visto isso, foi planejado para esse experimento a manutenção de altos valores de temperatura durante o cultivo, com a utilização de sistemas de aquecimento pretendia-se que a temperatura variasse de 27 a 28 °C, o que foi conseguido nos primeiros 25 dias, cerca de metade do período total. Após esse período, por problemas técnicos com o aquecedor utilizado, o mesmo teve que ser substituído por outro de menor potência, que não conseguiu manter os mesmos padrões de temperatura, sendo a média de temperatura nos 24 dias finais de experimento de 24,9 °C, abaixo dos valores pretendidos, possivelmente afetando o crescimento dos animais nesse período final, assim como ocasionando a perda de apetite, fato notado visualmente.

Os valores de salinidade estiveram de acordo com o indicado em outros ensaios com a espécie (DENSON et al., 2003; CHEN et al., 2009) que indicam melhor desempenho em altas salinidades (20 a 35), os valores de oxigênio dissolvido sempre estiveram acima de 4 mg l⁻¹. Concentrações de amônia e nitrito estiveram sobre controle durante todo o experimento, não chegando a apresentar concentrações tóxicas para a espécie (RODRIGUES et al., 2007), que seriam para amônia, valores superiores a 0,60 mg l⁻¹.

3.4.3 Desempenho com as dietas teste em fase de berçário

Apesar do bijupirá ser uma espécie classificada como carnívora, de hábitos de predador e oportunista (KNAPP, 1951; MEYER; FRANKS, 1996), alguns estudos sugerem a capacidade do bijupirá em digerir e utilizar carboidratos presentes nos alimentos (SCHWARZ et al., 2007; WEBB et al., 2010). CHOU et al. (2004) testaram durante oito semanas dietas com substituições parciais da proteína de farinha de peixe (FP) por uma fonte vegetal, o farelo de soja, e obtiveram bons resultados de ganho de peso e FCA para dietas com até 40% de substituição da origem da proteína, semelhantemente, Salze et al. (2010) testaram a inclusão de concentrado proteico de soja (CPS)

em dietas para juvenis de bijupirá, em proporções de 50, 75 e 100% de substituição, obtendo resultados que consideraram excelentes para substituições de 50 para 75% da farinha de peixe pelo CPS. No presente estudo a substituição de farinha de peixe por CPS correspondeu a cerca de 65% (tratamentos T2, T3, T4, T5 E T6), a substituição por farinha de vísceras (FV) foi de aproximadamente 50% (T7 e T8) e, assim como em outros estudos, o desempenho de juvenis de bijupirá não foi prejudicado significativamente por essas substituições. Após o experimento de sete semanas, apenas uma dieta (T5) possuiu valores de ganho de peso significativamente inferiores ($p < 0,05$) em relação à dieta controle de farinha de peixe (T1), sendo que as demais apresentaram valores semelhantes ao tratamento controle. O consumo de alimento dos peixes com as dietas T1, T7 e T8 foram durante todo o período experimental foram superiores aos demais tratamentos, sendo o consumo total da dieta controle (T1) significativamente superior aos tratamentos com substituição por CPS ($p < 0,05$). Pelo fato das dietas com CPS possuírem mais energia em sua composição, mesmo que uma parte oriunda de carboidratos, os peixes podem ter atingido a saciedade mais rapidamente durante as alimentações, além disso, as dietas T1, T7 E T8, por possuírem mais farinha de peixe, teoricamente mais palatável aos peixes, pode ter influenciado sobre a manutenção de valores mais altos de consumo.

O fator de conversão alimentar foi significativamente menor para os três tratamentos com substituição por CPS (T2, T4 E T6), sem a inclusão de fósforo inorgânico, em comparação com a dietas controle e substituição por FV ($p < 0,05$). Em suma, as dietas vegetais apresentaram melhor desempenho de conversão alimentar, diferentemente de outros estudos que obtiveram valores iguais ou piores para dietas com substituições parciais de FP para juvenis de bijupirá (CHOU et al., 2001; WATSON et al., 2014). Os valores de FCA (independente das dietas) encontrados nesse trabalho apresentaram-se compatíveis com a literatura, dentro da faixa de valores obtidos em outros cultivos experimentais (CHOU et al., 2001; LIAO et al., 2004; ZHOU et al., 2005). Assim como para o FCA, os valores de eficiência no aproveitamento de proteína (PER) dos tratamentos T2, T4 e T6 foram superiores estatisticamente, sendo que todos se

mostraram compatíveis com valores encontrados na literatura, que variam de 0,94 a 2,24 (LIAO et al., 2004; CHOU et al., 2001; ZHOU et al., 2005, 2011).

A utilização líquida de proteínas (NPU) (BENDER; MILLER, 1953) pode ser usada para determinar a quantidade teórica de proteína presente na dieta que está sendo de fato retida na carcaça. Chou et al. (2001), em estudo de substituição de FP por fontes vegetais de proteínas em dietas para juvenis de bijupirás, consideraram a partir dos valores obtidos nos testes de NPU e PER entre os tratamentos de substituição de FP e controle, que a assimilação de aminoácidos dos ingredientes vegetais pode ser considerada eficiente e que esta não interfere no crescimento dos animais submetidos a essas dietas. Assim como estes autores, este trabalho obteve bons resultados de PER e NPU para dietas vegetais, sendo até melhores que os valores obtidos com a dieta controle T1, e a partir disso é possível considerar teoricamente como eficiente a assimilação de aminoácidos a partir das dietas contendo ingredientes vegetais e animais neste experimento, tanto para dietas suplementadas com enzimas exógenas, como para dietas sem suplementação, com exceção para dieta T5, que possuiu valores significativamente menores para a NPU.

Liao et al. (2004) obtiveram ótimos resultados para a taxa de crescimento específico (SGR) com juvenis de bijupirá de peso inicial 7 g chegando ao final de quatro semanas com peso médio de 80 g, SGR de 8,6 % dia⁻¹. Outros autores obtiveram valores que variaram de 1,90 a 5,29 % dia⁻¹ (ZHOU et al., 2005; WEBB et al., 2007; SAADIAH et al., 2011), estando próximos aos obtidos no presente trabalho (3,66 a 3,88% dia⁻¹), com juvenis em sistema berçário e que corroboram com trabalhos sobre o potencial de rápido crescimento da espécie (CHEN et al., 2001; FAULK et al. 2007; BENETTI et al., 2008, 2010).

O coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) da matéria seca de ingredientes vegetais em dietas para juvenis de bijupirás é consideravelmente menor quando comparada a digestibilidade de ingredientes animais como a FP e a FV (CHOU et al., 2004; LUO et al., 2012), os resultados do presente estudo mostraram isso em especial para os tratamentos sem a suplementação de enzimas. O tratamento T4 com fitase apresentou uma melhora de quase 7% em relação a mesma dieta sem a enzima (T2), assim como a dieta T5 com adição de protease, que apresentou uma pequena melhora no CDA de matéria seca. A dieta T6 com adição combinada de fitase e protease mostrou grande incremento

na digestibilidade de matéria seca quando comparado à mesma dieta sem as enzimas, com melhora de mais de 20%, sendo inclusive melhor que o CDA para a dieta controle com farinha de peixe, estando abaixo apenas das dietas T7 e T8 com FV. Alguns testes com suplementação de fitase e protease, separadamente, mostraram que essas enzimas podem ter efeito positivo na digestibilidade da matéria seca (DALSGAARD et al., 2012; LIU et al., 2013; AKRAM et al., 2016), sendo possível que o efeito dessas duas enzimas juntas tenham impulsionado os valores de CDA de matéria seca no presente estudo.

Assim como reportado por outros autores em experimentos com bijupirás em fase de berçário e engorda (CHOU et al., 2004; ZHOU et al., 2004; SAADIAH et al., 2011; SUAREZ et al., 2013), os peixes do presente estudo apresentaram boa capacidade em digerir proteínas de ingredientes vegetais, apresentando eficácia semelhante com que digeriram ingredientes de origem animal. Os valores encontrados para digestibilidade de proteína foram compatíveis com outros estudos (ZHOU et al., 2004; SUAREZ et al., 2013), e a partir deles é possível notar novamente os efeitos da suplementação de fitase e protease nas dietas vegetais, com pequenas elevações na digestibilidade desse nutriente, corroborando com estudos para outras espécies de peixes que também utilizaram suplementação de enzimas exógenas (FURUYA et al., 2001; HUSSAIN et al., 2011; DALSGAARD et al., 2012; LIU et al., 2013). Morales et al. (2014) demonstraram que a adição de fitase em dietas a base de ingredientes vegetais para peixes da espécie *Sparus aurata* favorece a produção e a presença de protease endógena no estômago desses animais, podendo aumentar a biodisponibilidade da proteína presente nas dietas. A dieta T6 com adição de fitase e protease apresentou grande ganho no CDA de proteína em relação as demais dietas, denotando novamente o efeito positivo causado pela adição conjunta das duas enzimas nas dietas vegetais para juvenis de bijupirá, sobre as presentes condições.

Valores de CDA para o extrato etéreo em bijupirás são relativamente altos para os ingredientes comumente utilizados na fabricação de rações para peixes. Zhou et al. (2004) testaram oito diferentes ingredientes de origem animal e vegetal e obtiveram resultados que variaram de 91,5 a 95,9% de digestibilidade para o extrato etéreo com juvenis de bijupirá. No presente estudo os valores de CDA de extrato etéreo para as dietas testadas variou de 88,7 a 96,2%, com as

dietas T7 e T8 superiores às demais, sendo importante ressaltar novamente o valor elevado de digestibilidade para a dieta T6 com adição das duas enzimas exógenas testadas. Para a digestibilidade da energia em testes realizados com peixes carnívoros, corriqueiramente são encontrados teores menores de CDA em ingredientes vegetais quando comparados a ingredientes de origem animal, (WILSON; POE, 1985; SILVA; OLIVA-TELES, 1998; BUREAU et al., 1999; GUL et al., 2007; GAYLORD et al., 2008). Em teste para juvenis de bijupirás, a digestibilidade de energia em ingredientes vegetais e animais não apresentaram grande diferença, sendo ligeiramente maiores para os ingredientes de origem animal (ZHOU et al., 2004). O presente estudo seguiu esta mesma tendência, com as dietas animais T1, T7 e T8 apresentando os maiores valores, exceto quando comparadas à dieta T6, suplementada de fitase e protease, que foi superior a todas as dietas, aumentando o valor de digestibilidade em relação a dieta T2 em cerca de 12%. Os resultados mais elevados de digestibilidade aparente de proteína bruta e extrato etéreo em T6, em comparação com as demais dietas, pode estar associado ao maior CDA de energia, embora a capacidade de digerir a fração de carboidrato em T6 mereça ser ainda avaliada neste contexto. A dieta T2, assim como as demais dietas com substituição de FP por CPS (exceto T6), tenderam a apresentar um menor CDA de energia, uma vez que, parte da energia presente nessas dietas seriam provenientes de carboidratos, fonte que apresentaria maior limitação para digestão em peixes carnívoros. Esta digestibilidade foi novamente alterada positivamente pela presença combinada de protease e fitase, que em conjunto nas dietas, aparentam trazer benefícios no CDA para juvenis de bijupirá.

Dados sobre digestibilidade e exigências de fósforo nas dietas para bijupirás ainda são escassos (FRASER; DAVIES, 2009), sendo alguns autores sugerem que valores de fósforo disponível exigidos entre 0,91 e 0,95% da dieta podem maximizar o crescimento dos animais cultivados (LIU, 2010). Algumas espécies de peixes carnívoros, como o salmão do atlântico (*Salmo salar*), a truta arco íris (*Oncorhynchus mykiss*), e o red drum (*Sciaenops ocellatus*), possuem valores de exigência de 0,80%, 0,70% e 0,80% de fósforo disponível nas dietas respectivamente (NRC, 2011). Analisando os valores previstos para a espécie e também valores para outros peixes carnívoros, é possível concluir que a quantidade de fosforo presente nos tratamentos utilizados nesse experimento

supriram as necessidades requeridas para o bijupirá, provavelmente até mesmo nas dietas com CPS, onde parte do fósforo estaria complexado na forma de fitato, indisponível para peixes como o bijupirá.

Estudos com juvenis de bijupirá demonstraram que a espécie possui boa capacidade em digerir o fósforo presente nas dietas (FRASER; DAVIES, 2009). Zhou et al. (2004) encontraram valores de digestibilidade próximos a 59% para o farelo de soja, 62% para a farinha de vísceras e de 71% para a farinha de peixe, denotando o melhor uso do fósforo de ingredientes de origem animal, principalmente a FP. A dieta T2, com utilização de CPS, apresentou baixa digestibilidade para o fósforo, sendo possível notar a partir dela, em comparação com as dietas de mesma formulação (T4 e T6) com adição de fitase, e fitase e protease, o incremento na digestibilidade desse nutriente proporcionado pela utilização das enzimas, novamente, como para os outros nutrientes, a melhora foi acentuada no uso concomitante das duas enzimas na dieta T6.

Uma série de estudos compararam a composição centesimal de carcaças e filés de bijupirá submetidos a diferentes dietas, com substituições parciais de farinha de peixe (CHOU et al., 2004; ZHOU et al., 2005; SAADIAH et al., 2011; LUO et al., 2012, 2013; WATSON et al., 2014) e também por substituições de óleo de peixe e níveis de extrato etéreo nas dietas (WANG et al., 2005; SILVA-JUNIOR et al., 2011), estudos estes que demonstraram o efeito das dietas sobre a composição corporal do peixe. Os valores de retenção de matéria seca obtidos no presente estudo estiveram de acordo com trabalhos pretéritos e não possuíram influência relevante segundo as dietas propostas, sendo notável apenas a diferença entre o teor de matéria seca inicial e após as sete semanas de experimento com diferentes dietas, onde podemos perceber que o teor de umidade no peixe tende a diminuir com o seu crescimento. Zhou et al. (2005) constataram que a composição centesimal de carcaças e filés de juvenis de bijupirá alimentados por oito semanas com dietas elaboradas com substituições parciais de FP por farelo de soja não apresentam nenhuma influência devido ao ingrediente vegetal, porém, os mesmos autores relatam influência de níveis crescentes de farelo de soja causando o aumento de extrato etéreo na composição do fígado de bijupirás, o que não foi percebido no presente estudo, quando os teores de extrato etéreo no fígado, embora dados ainda preliminares, mantiveram-se constantes ou diminuíram nos peixes alimentados com dietas

contendo CSP. Assim como constatado por Luo et al. (2012), os teores de extrato etéreo apresentaram valores menores com a inclusão de ingredientes vegetais, sendo isto notado principalmente na dieta T2 sem suplementação, sendo que essa retenção maior de gordura na carcaça poderia ser também oriunda da adição de enzimas à sua composição, como também constatado por outros autores (VIELMA et al., 2000; KIM et al., 2015). A composição corporal dos peixes tende a apresentar variações com o tamanho e ganho de peso (WEATHERLEY et al., 1983; GUNTHER et al., 2005), sendo o extrato etéreo um dos componentes que apresenta maior variação (RASMUSSEN; OSTENFELD, 2000). No presente estudo, os valores obtidos com a composição inicial de extrato etéreo foram muito inferiores aos valores encontrados ao final de sete semanas de experimento, possivelmente relacionada a mudanças ontogenéticas na composição incluindo o teor de umidade corpórea.

Alguns estudos demonstraram a diminuição no aporte de fósforo (KIM et al., 1998; KOUMI et al., 2011) e matéria mineral (IMANPOOR; BAGHERI, 2012; WU et al., 2016) na carcaça de trutas, tilápias, esturjões e pampas alimentados com dietas experimentais onde houve a substituição da farinha de peixe por ingredientes vegetais. Corroborando com estes resultados, os valores encontrados no presente trabalho foram estatisticamente diferentes no que se referem a matéria mineral e teor de fósforo nos animais alimentados com a dieta T2 em relação à dieta controle T1 e também às dietas com suplementação de fosforo inorgânico (fosfato bicálcico), demonstrando que o CPS presente na dieta T2 influenciou a retenção desses componentes na carcaça. Por outro lado, os valores obtidos com as dietas T4 e T6, quando comparados à dieta T2, mostram a possível influência das enzimas exógenas adicionadas sobre a retenção destes componentes, principalmente sobre o fósforo, promovido pela presença da fitase nas dietas. Novamente foi possível notar o efeito combinado das duas enzimas na dieta, possivelmente atuando em conjunto na retenção desses componentes pelos peixes alimentados com a dieta T6. Ainda que preliminarmente, a ação da fitase sobre a retenção destes fósforo e matéria mineral pôde ser notada também na análise da composição dos ossos dos peixes utilizados no presente experimento, onde as dietas suplementadas apresentaram valores superiores, corroborando outros estudos que indicam que a suplementação de fitase nas dietas pode assistir na hidrólise do fitato e

aumentar a concentração de minerais como o fósforo, cálcio, magnésio e zinco nos ossos (VIELMA et al., 1998; YAN; REIGH, 2002; LEMOS, TACON, 2016).

O índice Hepatosomático (IHS) é um importante indicador de estresse causado por alterações nutricionais e ou energéticas (BARTON et al., 2002), sendo que os valores encontrados no presente trabalho são compatíveis com outros estudos com juvenis de bijupirá (WANG et al., 2005; ZHOU et al., 2005, 2011), e não apresentaram grandes variações devido às diferentes dietas, sendo destacáveis as dietas com substituição de FP por FV, que possuiu valores ligeiramente maiores, assim como verificado por Zhou et al. (2011). Apesar das variações serem pequenas, a presença das enzimas fitase e protease, tanto suplementadas individualmente como em conjunto nas dietas, apresentaram uma tendência em diminuir os valores de IHS, ficando mais próximos aos valores obtidos com a dieta T1 controle, que teoricamente poderia representar um valor mais próximo ao ideal de IHS. Raggi (2016) obteve valores menores em experimento realizado em tanques rede no mar com juvenis de bijupirá (120 a 630 g), obtendo para animais alimentados com rejeito de pesca valores de IHS de 2,4, e para uma dieta comercial o valor de 3,9, denotando o importante efeito das dietas sobre esse índice.

3.4.4 Fitases e proteases em dietas para juvenis de bijupirá

O fitato (mio-inositol hexafosfato) corresponde a maior parcela de fósforo presente nos ingredientes vegetais utilizados na produção de rações (NRC, 1994; CAO et al., 2007), ou seja, representa uma fonte de fósforo teoricamente indisponível para animais monogástricos, como aves, suínos e também os peixes que não produzem enzimas digestivas para esse composto (RAMSEYER et al., 1999). Além de ser uma fonte de fósforo indisponível aos peixes e, portanto, deletéria, pois pode ser diretamente liberada ao meio de cultivo (LIEBERT; PORTZ, 2005), o fitato é ainda responsável por fatores antinutricionais presentes em ingredientes vegetais, sua presença em rações pode reduzir a digestibilidade e assimilação de outros nutrientes, como a proteína, extrato etéreo e também minerais, tornando a adição de ingredientes vegetais limitada na formulação de rações (CAO et al., 2007). O fitato transporta cargas negativas em seus fosfatos, que podem se ligar a nutrientes importantes de carga positivas, formando complexos insolúveis com esses nutrientes, diminuindo a

digestibilidade e assim o seu uso pelos organismos (SUGIURA et al., 2001). Além disso, o fitato pode se combinar também a enzimas digestivas endógenas do peixe (RAVINDRAN, 1995), como amilases, proteases, tripsinas, pepsinas, reduzindo sua atuação sobre o alimento e consequentemente diminuindo a digestibilidade dos nutrientes sobre os quais essas enzimas atuariam. Laining et al. (2010) testaram uma mesma dieta contendo diferentes níveis de inclusão de fitato com juvenis de linguado japonês (*Paralichthys olivaceus*) durante cinquenta dias e a presença do fitato nas dietas resultou na diminuição do crescimento e piora no fator de conversão alimentar, sendo que o fitato causou também a diminuição na digestibilidade de proteína bruta e extrato etéreo e a menor retenção de nitrogênio e fósforo na carcaça.

Devido aos efeitos negativos que o fitato pode proporcionar sobre o desempenho das espécies de peixes, a utilização de ingredientes vegetais pode acabar tornando-se limitada (CAO et al., 2007; KUMAR et al., 2012). Buscando reverter os efeitos do fitato sobre as dietas, e assim sobre o desempenho dos peixes, muitos autores tem estudado os efeitos da adição da enzima exógena fitase em dietas (LEMOS; TACON, 2016), sendo que na última década a indústria de rações aquícola iniciou o uso em pequena escala de suplementações de fitase em alguns de seus produtos (KUMAR et al., 2012). A fitase atua como catalisador facilitando a hidrólise do fitato, liberando os fosfatos desse complexo, na forma de inositol e fósforo inorgânico, que se tornariam disponíveis para serem assimilados pelos peixes. Uma vez liberado, o fosforo inorgânico pode ser digerido e assimilado pelos peixes, além de não formar mais complexos indigestíveis com nutrientes importantes para o animal e com suas enzimas endógenas. Apesar de não terem sido notados melhoras no crescimento e no fator de conversão alimentar, os ensaios de digestibilidade do presente estudo corroboram com as funções da fitase acima mencionadas. As dietas T4 e T6 suplementadas com a enzima possuíram valores mais altos de digestibilidade aparente para matéria seca, proteína bruta, fósforo e também energia. A presença da fitase ainda influenciou sobre os teores de fósforo e matéria mineral tanto na carcaça como nos ossos de juvenis de bijupirá, elevando os valores de ambos.

Diferentemente da fitase, as proteases são enzimas endógenas dos peixes, ou seja, são produzidas e secretadas diretamente no trato digestório

destes, e atuam como catalisadores no processo de hidrólise de ligações peptídicas (BARRET, 1994). O uso de proteases exógenas como suplemento em dietas para peixes procuraria compensar possíveis deficiências dessas enzimas, principalmente em animais jovens, e assim auxiliar a digestibilidade proteica, e também sobre ingredientes menos digestíveis (SHI et al., 2016). Estudos com protease são mais recentes quando comparadas a fitase, mas também apresentando resultados promissores (DREW et al., 2014; DALSGAARD et al., 2014; SHI et al., 2016). No presente estudo, as dietas suplementadas com protease (T5 e T8), quando comparadas aos seus pares sem a inclusão da enzima (T3 e T7), apresentaram pouca ou nenhuma alteração nos valores de digestibilidade de nutrientes e desempenho zootécnico, e em alguns casos, apresentaram piores resultados. Apesar disso, a protease quando adicionada a dieta em conjunto com a fitase (dieta T6), resultou em um ganho considerável nos valores de digestibilidade para todos os nutrientes estudados e a matéria seca. No quesito desempenho (crescimento, FCA, PER, entre outros), não foram notadas diferenças com a adição das enzimas. Poucos estudos exploraram a ação conjunta dessas duas enzimas, embora Yigit et al. (2016), trabalhando com trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*, peso inicial 88g), testaram dietas suplementadas com fitase e protease simultaneamente, durante o período de 90 dias e, diferente do presente estudo, não encontraram melhoria na digestibilidade de nutrientes, e tampouco obtiveram diferenças no desempenho dos animais. Assim sendo, o estudo da suplementação de enzimas como fitase e protease, assim como de suas combinações, deve merecer maior atenção para o desenvolvimento de dietas de maior desempenho e menor geração de resíduos nas operações de aquicultura.

4. Conclusões

Os resultados do primeiro experimento (engorda em tanque rede) foram pouco conclusivos, uma vez considerado o baixo desempenho alcançado para todas as dietas testadas, tanto o tratamento controle como os demais não apresentaram muitas diferenças entre si, o que pode ter sido ocasionado pelas baixas temperaturas e a presença constante de parasitas nos peixes cultivado. Nestas condições de cultivo, as dietas com substituições de farinha de peixe por farelo de soja e farinha de vísceras apresentaram o mesmo desempenho que a dieta controle, podendo-se considerar então, que essas substituições parciais não causariam detrimento sobre o desempenho zootécnico de juvenis de

bijupirá. Quanto a suplementação de enzimas nesse experimento, não foi possível chegar a conclusões, uma vez que os dados obtidos com ou sem adição de enzimas foram muito parecidos, não sendo possível notar o efeito destas sobre as dietas.

No segundo experimento (fase de berçário em sistema recirculante), o desempenho dos animais foi compatível com dados para a espécie, sendo possíveis considerá-lo bom. A partir disso podemos concluir que as substituições parciais de farinha de peixe por concentrado proteico de soja e também por farinha de vísceras podem vir a ser feitas no nível utilizado neste experimento, sem causar perdas significativas no desempenho, e no caso do presente estudo, melhorando consideravelmente a conversão alimentar nas dietas produzidas com o concentrado proteico de soja. Neste experimento, foi possível notar também o efeito benéfico da fitase sobre as dietas com o concentrado proteico de soja, aumentando consideravelmente a digestibilidade dos nutrientes analisados, e aumentando a retenção de componentes como o fósforo e a matéria mineral na carcaça e nos ossos dos peixes. A protease adicionada sozinha às dietas não apresentou melhora nos resultados, porém, quando adicionada em conjunto com a fitase, fez com que a dieta suplementada com estas enzimas apresentassem grande ganho de digestibilidade e retenção de nutrientes, melhorando estes valores em relação à dieta suplementada somente com a fitase, que já eram considerados bons.

Assim sendo, este estudo compactua com um grande número de trabalhos feito com outras espécies de peixes, onde são notados os efeitos positivos de adições de enzimas exógenas em dietas, e neste caso, foi possível concluir preliminarmente que a adição fitase, ou a combinação fitase e protease, podem trazer efeitos benéficos sobre a digestibilidade e retenção de nutrientes para juvenis de bijupirá, sendo um bom campo de estudos a ser explorado mais aprofundadamente.

5. Referências

AOAC (Association of Official Analytical Chemists) INTERNATIONAL. Official Methods of Analysis. 16 ed. Arlington, v. 2, 474p, 1995.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists) INTERNATIONAL. Official methods of analysis. 16^a ed., 3^a rev. Gaithersburg: Published by AOAC International,. v.2, cap. 32, p.1-43, 1997.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists) INTERNATIONAL. Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th Edition. Gaithersburg, Maryland, USA, AOAC International, 2005.

- AKRAM, Z.; AFZAL, M.; HUSSAIN, S. Z. S.; FATIMA, M.; AKRAM, K.; HUSSAIN, S. M.; SHAHZAD, M. M. Role of Citric acid and Phytase supplementation in improving trace mineral retention in Rohu (*Labeo rohita*) juveniles fed soybean meal base diet. *Biologia (Pakistan)* v. 62 (1), p. 87-93, 2016.
- BARBIERI, E.; DOI S. A. Acute toxicity of ammonia on juvenile cobia (*Rachycentron canadum*, Linnaeus, 1766) according to the salinity. *Aquaculture International*, v. 20 (2), p. 373-382, 2012.
- BARRETT, A. J. Classification of peptidases. *Methods in Enzymology*. New York, Academic Press, v. 244, p. 1-59, 1954.
- BARTON, B. A.; MORGAN, J. D.; VIJAYAN, M. M. Physiological and condition-related indicators of environmental stress in fish. In. S. M. Adams, editor. *Biological indicators of aquatic ecosystem stress*. American Fisheries Society,. p. 111-148, 2002.
- BENDER, A. E.; MILLER, D. S. A new brief method of estimating net protein value. *Biochemistry Journal*, v. 53, 1953.
- BENETTI, D. D.; ORHUN, M. R.; SARDENBERG, B.; O'HANLON, B.; WELCH, A.; HOENIG, R.; ZINK, I.; RIVERA, J. A.; DENLINGER, B.; BACCOAT, D.; PALMER, K.; CAVALIN, F. Advances in hatchery and grow-out technology of cobia *Rachycentron canadum* (Linnaeus). *Aquaculture Research*, v. 39, p. 701–711, 2008.
- BENETTI, D. D.; O'HANLON, B.; RIVERA, J. A.; WELCH, A. W.; MAXEY, C.; ORHUN, M. R. Growth rates of cobia (*Rachycentron canadum*) cultured in open ocean submerged cages in the Caribbean. *Aquaculture*, v. 302(3), p. 195-201, 2010.
- BRASIL, Primeiro Anuário Brasileiro da Pesca e Aquicultura, p. 136, 2014.
- BREMER NETO, H.; GRANER, C. A. F.; PEZZATO, L. E.; PADOVANI, C. R. Determinação de rotina do cromo em fezes, como marcador biológico, pelo método espectrofotométrico ajustado da 1,5-difenilcarbazida. *Ciência Rural*, v. 35 (3), p. 691-697, 2005.

- BROWN-PETERSON, N. J.; OVERSTREET, R. M.; LOTZ, J. M.; FRANKS, J. S.; BURNS, K. M. Reproductive biology of cobia, *Rachycentron canadum*, from coastal waters of the southern United States. Fisheries Bulletin, v.99, p.15-28, 2001.
- BUREAU, D. P.; HARRIS, A. M.; CHO, C. Y. Apparent digestibility of rendered animal protein ingredients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, v. 180 (3-4), p. 345-358, 1999.
- BUREAU, D. P.; HARRIS, A. M.; CHO, C. Y. Feather meals and bone meals from different origins as protein sources in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, v. 181, p. 281–291, 2000.
- CAMARGO, R; HARARI, J. Modelagem numérica de ressacas na plataforma sudeste do Brasil a partir de cartas sinóticas de pressão atmosférica na superfície. Boletim do Instituto Oceanográfico, v. 42(1), p.19-34, 1994.
- CAO, L.; WANG, W.; YANG, C.; YANG, Y.; DIANA, J.; YAKUPITIYAGE, A. Application of microbial phytase in fish feed. Enzyme and Microbial Technology, v. 40, p. 497– 507, 2007.
- CARUSO, G. Use of Plant Products as Candidate Fish Meal Substitutes: An Emerging Issue in Aquaculture Productions. Fisheries and Aquaculture Journal, v. 6 (123), 2015.
- CARVALHO, R.A.P.L.F.; LEMOS, D. Fatos e figuras: aqüicultura e consumo de carnes no Brasil e no Mundo. Panorama da Aquicultura, v.19, p. 46-49, 2009.
- CASTILLO, S., GATLIN, D. M. Dietary supplementation of exogenous carbohydrase enzymes in fish nutrition: a review. Aquaculture, v. 45, p. 286–292, 2015.
- CAVALLI, R.M; HAMILTON, S. Piscicultura marinha no Brasil com ênfase na produção do beijupirá. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.6, p.64-69, 2009.
- CHARLTON, P. Expanding enzyme application: higher aminoacid and energy values for vegetable proteins, In: Alltech Technical Publications (Eds.)

- Biotechnology in the feed industry. Nottingham University Press, p.317-326, 1996.
- CHEN, Y. H.; SU, M. S.; LIAO, I. C. Challenges and strategies of cage aquaculture development in Taiwan. *Aquaculture, Book of Abstracts*, pp. 373, 2001.
- CHEN, G.; WANG, Z.; WU, Z.; GU, B. Effects of salinity on growth and energy budget of juvenile Cobia, *Rachycentron canadum*. *Journal of World Aquaculture Society*, v. 40 (3), p. 374-382, 2009.
- CHOU, R. L.; CHEN H. Y. Optimal dietary protein and lipid levels for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, v.193(1-2): p. 81-89, 2001.
- CHOU, R. L.; HER, B. Y.; WANG, G.; WU, Y. H.; CHEN H. Y. Substituting fish meal with soybean meal in diets of juvenile cobia *Rachycentron canadum*. *Aquaculture*, v. 229 (1-4), p. 325-333, 2004.
- CHOWDHURY, M. A. Use of a heat-stable protease in salmonid feeds – Experiences from Canada and Chile. *International Aquafeed*, p. 30-32, 2014.
- CRAIG, S.R.; SCHWARZ, M.H.; MCLEAN, E. Juvenile cobia (*Rachycentron canadum*) can utilize a wide range of protein and lipid levels without impacts on production characteristics. *Aquaculture*, v. 261, p. 384-391, 2006.
- DALSGAARD, J.; VERLHAC-TRICHET, V; HJERMITSLEV, N. H.; EKMANN, K. S.; KLAUSEN, M.; PEDERSEN, P. B. 2012. Effects of exogenous enzymes on apparent nutrient digestibility in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets with high inclusion of plant-based protein. *Animal Feed Society Technol*, v. 171, p. 181–191, 2012.
- DENSON, M. R.; STUART, K. R.; SMITH, T. I. J. Effects of salinity on growth, survival, and selected hematological parameters of juvenile cobia *Rachycentron canadum*. *Journal World Aquaculture Society*, v. 34, p. 496–504, 2003.
- DREW, M.D.; RACZ, V. J.; GAUTHIER, R.; THIESSEN, D. L. Effect of adding protease to coextruded flax:pea or canola:pea products on nutrient

- digestibility and growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal Feed Science and Technology*, v. 119, p. 117–128, 2005.
- FAO [Food and Agriculture Organization of the United Nations]. The State of World Fisheries and Aquaculture 2012. FAO Fisheries and Aquaculture Department, Roma: FAO.p. 209, 2012.
- FAO, 2016. The State of World Fisheries and Aquaculture. Contributing to food security nutrition for all. Rome, p. 200, 2016.
- FAULK, C. K.; KAISER, J. B.; HOLT, G.J. Growth and survival of larval and juvenile cobia *Rachycentron canadum* in a recirculating raceway system. *Aquaculture*, v. 270, p. 149-157, 2007.
- FRASER, T. W. K.; DAVIES S. J. Nutritional requirements of cobia, *Rachycentron canadum* (Linnaeus): a review. *Aquaculture Research*, v. 40(11), p. 1219-1234, 2009.
- FROESE, R.; ZELLER, D.; KLEISNER, K. What catch data can tell us about the status of global fisheries. *Marine Biology*, v. 159 (6), p 1283-1292, 2012.
- FURUYA, W.M.; GONÇALVES, G.S.; ROSSETO, V.; FURUYA, B.; HAYASHI, C. Phytase as feeding for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): performance and digestibility. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 30 (3), p. 924–929, 2001.
- GAYLORD, T. G.; BARROWS, F. T.; RAWLESS, S. D. Apparent digestibility of gross nutrients from feedstuffs in extruded feeds for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of World Aquaculture Society*, v. 39 (6), p. 827-834, 2008.
- GAUMET, F.; BABET, M. C.; BETTES, A.; LE TOULLEC, A.; SCHIRES, G.; BOSC, P. Advances in cobia, *Rachycentron canadum*, research in La Reunion Island (France): problems and perspectives. In: *Cobia Aquaculture: Research, Development and Commercial Production*,. Asian Fisheries Society, pp.115-129. 2007.
- GLENCROSS, B. D.; HAWKINS, W. E. A comparison of the digestibility of several lupin (*Lupinus* spp.) kernel meal varieties when fed to either rainbow trout

- (*Oncorhynchus mykiss*) or red seabream (*Pagrus auratus*). Aquaculture Nutrition, v. 10, p. 65–73, 2004.
- GONÇALVES, G. S.; PEZZATO, L. E.; BARROS, M. M.; KLEEMAN, G. K.; ROCHA, F. F. Efeitos da suplementação de fitase sobre a disponibilidade aparente de Mg, Ca, Zn, Cu, Mn e Fe em alimentos vegetais para a tilápia-do-Nilo. Revista Brasileira de Zootecnia, v.34 (6), p. 2155–2163, 2005.
- GONÇALVES, G. S.; PEZZATO, L. E.; PADILHA, P. M.; BARROS, M. M. Disponibilidade aparente do fósforo em alimentos vegetais e suplementação da enzima fitase para tilápia-do-nilo. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 36, p. 1473–1480, 2007.
- GUL, Y.; SALIM, M.; RABBANI, B. Evaluation of apparent digestibility coefficients of diferente dietary protein levels with and without fish meal for *Labeo rohita*. Pakistan Veterinary Journal, v. 27 (3), p. 121-125, 2007.
- GUNTHER, S. J.; MOCCIA, R. D.; BUREAU, D. Growth and whole body composition of lake trout (*Salvelinus namaycush*), brook trout (*Salvelinus fontinalis*) and their hybrid, F1 splake (*Salvelinus namaycush* x *Salvelinus fontinalis*), from first - feeding to 16 weeks post first-feeding. Aquaculture, v. 249, p. 195-204, 2005.
- HLOPHE-GININDZA, S. N.; MOYO, N. A.; NGAMBI, J. W.; NCUBE, I. The effect of exogenous enzyme supplementation on growth performance and digestive enzyme activities in *Oreochromis mossambicus* fed kikuyu-based diets. Aquaculture Research, v. 47, p. 3777-3787, 2015.
- HUSSAIN, S. M.; AFZAL, M.; RANA, S.A.; JAVID, A.; IGBAL, M. Effect of phytase supplementation on growth performance and nutriente digestibility of *Labeo rohita* fingerlings fed on corn gluten meal-based diets. International Journal of Agricultural and Biology, v. 13, p. 916–922, 2011.
- IMANPOOR, M. R.; BAGHERI, T. Effects of replacing fish meal by soybean meal along with supplementing phosphorus and magnesium in diet on growth performance of Persian sturgeon, *Acipenser persicus*. Fish Physiology Biochemistry, v. 38, p. 521, 2012.

- JACKSON, L.; LI, M. H.; ROBINSON, E. H. Use of microbial phytase in channel catfish *Ictalurus punctatus* diets to improve utilization of phytate phosphorus. *Journal of the World Aquaculture Society* v. 27, p. 309–313, 1996.
- KERBER, C.E.; SANCHES, E.G.; SANTIAGO, M.; LUQUE, J.L. First record of *Neobenedenia melleni* (Monogenea: Capsalidae) in sea-farmed cobia (*Rachycentron canadum*) in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 20(4), p. 331-333, 2011.
- KIM, J. D.; KAUSHIK, S. J.; BREQUE, J. Nitrogen and phosphorus utilisation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets with or without fish meal. *Aquatic Living Resources*, v. 11 (4), p 261-264, 1998.
- KIM, Y., A. BISWAS, S CHUI Jr., O. MURATA, K TAKII. Phytase in soybean meal diet improves phosphorus availability of hybrid, female red sea bream *Pagrus major* × male black sea bream *Acanthopagrus schlegeli*. *Aquaculture Society*, v. 63 (20), p. 159-167, 2015.
- KNAPP, F. T. Food habits of the sergeantfish, *Rachycentron canadum*. *Copeia*, p. 101-102, 1951.
- KOUMI, A. R.; KOFFI, K. M.; ATSÉ, B. C.; KOUAME, L. P. Growth, feed efficiency and carcass mineral composition of *Heterobranchius longifilis*, *Oreochromis niloticus* and *Sarotherodon melanotheron* juveniles fed different dietary levels of soybean meal-based diets. *African Journal of Biotechnology*, v. 10 (66), p. 14990-14998, 2011.
- KUMAR, V.; SINHA, A. K.; MAKKAR, H. P. S.; DE BOECK, G.; BECKER, K. Phytate and phytase in fish nutrition. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, v.96, p. 335–364, 2011.
- KUROKAWA, R.; COELHO, R.; OTA, R.; FREITAS, L. F.; LEMOS, D. Interações entre a aquicultura e o ambiente marinho. Bioincrustação e qualidade do sedimento na engorda de bijupirá em tanques-rede. *Panorama da Aquicultura*, p. 46-49, 2015.
- LAINING, A.; TRAFALGAR, R. F.; THU, M.; KOMILUS, C. F.; KADER, M. D. A.; KOSHIO, S.; ISHIKAWA, M.; YOKOHAMA, S. Influence of Dietary Phytic

- Acid on Growth, Feed Intake, and Nutrient Utilization in Juvenile Japanese Flounder, *Paralichthys olivaceus*. Journal of the World Aquaculture Society, v. 41, p. 746–755, 2010.
- LEMOS, D. Feeding The World In 2050: Huge Food Projections Point To Sustainable Aquaculture. Global Aquaculture Advocate, p. 72 – 74, 2011.
- LEMOS, D.; TACON, A. G. Use of phytases in fish and shrimp feeds: a review. Reviews in Aquaculture, v. 0, p. 1-17, 2016.
- LIAO, I. C.; HUANG, T. S.; TSAI, W. S.; HSUEH, C. M.; CHANG, S. L.; LEANO, E. M. Cobia culture in Taiwan: current status and problems. Aquaculture, v. 237, p. 155-165, 2004.
- LIAO, I. C.; LEAÑO, E. M. Cobia aquaculture: research, development and commercial production. Taiwan: Asian Fisheries Society, p. 178, 2007.
- LIEBERT, F.; PORTZ, L. Nutrient utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed plant based low phosphorus diets supplemented with graded levels of different sources of microbial phytase. Aquaculture, v. 248, p. 111–9, 2005.
- LIN, S; MAI, K.; TAN. Effects of exogenous enzyme supplementation in diets on growth and feed utilization in tilapia, *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*. Aquaculture Research, v.38, p.1645–1653, 2007.
- LIU, X. Q. Studies on Optimal Dietary Phosphate Sources, Phosphorus Requirement and Calcium/phosphorus Ratio for Juvenile Cobia, *Rachycentron canadum*. Master's thesis, Guangdong Ocean University, 2010.
- LIU, K.; AI, Q. H.; MAI, K. S.; ZHANG, W. B.; ZHANG, L.; ZHENG, S. X. Dietary manganese requirement for juvenile cobia, *Rachycentron canadum* L. Aquaculture Nutrition, v. 19(4) p. 461-467, 2013.
- LOVELL, T. Nutrition and feeding of fish. 2ed. Kluwer Academic Publishers, Boston MA, USA., 1998.

- LUNGER, A. N.; CRAIG, S. R.; MCLEAN, E. Replacement of fish meal in cobia (*Rachycentron canadum*) diets using an organically certified protein. *Aquaculture*, v. 257(1), p. 393-399. 2006.
- LUNGER, A. N.; MCLEAN, E.; GAYLORD, T. G.; KUHN, D.; CRAIG, S. R. Taurine supplementation to alternative dietary proteins used in fish meal replacement enhances growth of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, v. 271(1), p. 401-410. 2007.
- LUO, Y.; AI, Q.; MAI, K.; ZHANG, W.; XU, W.; ZHANG, Y. Effects of dietary rapeseed meal on growth performance, digestion and protein metabolism in relation to gene expression of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, v. 368-369, p. 109-116, 2012.
- LUO, Y.; AI, Q.; MAI, K.; ZHANG, W.; XU, W.; LIUFU, Z. Effects of dietary corn gluten meal on growth performance and protein metabolism in relation to IGF-I and TOR gene expression of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Journal of Oceanography University of China*, v. 12 (3), p. 418- 426, 2013.
- MCLEAN, E.; SALZE, G. Parasites, diseases and deformities of cobia. *Ribarstvo*, v. 66(1), p. 1-16, 2008.
- MEYER, G. H.; FRANKS, J. S. *Food of cobia. Rachycentron canadum* from the north central Gulf Of Mexico. *Gulf Research Reports*, v. 9 (31), p. 161-167, 1996.
- MORALES, G. A.; MÁRQUEZ, L.; SAENZ de RODRIGÁÑEZ, M.; BERMÚDEZ L.; ROBLES, R. MOYANO, F. J. Effect of phytase supplementation of a plant-based diet on phosphorus and nitrogen bioavailability in sea bream *Sparus aurata*. *Aquaculture Nutrition*, v. 20 p. 172–182, 2014.
- MOREIRA, C.B.; ROMBENSO, A. N.; CANDIOTTO, F. B.; TSUZUKI, M. Y. Feeding frequency affects growth of juvenile cobia *Rachycentron canadum* cultured in near-shore cages. *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, v 41 (2), p 219-226, 2015.

- MUNIR, K.; MAQSOOD, S. A review on role of exogenous enzyme supplementation in poultry production. In Emirates Journal of Food and Agriculture, v. 25 (1), p. 66–80, 2013.
- NAKASHIMA, B.A.; MCALLISTER, T.A.; SHARMA, R.; SELINGER, L.B. Diversity of phytases in the rumen. Microbial Ecology, v.53 (1), p. 82–88, 2007.
- NRC (National Research Council). Nutrient Requirements of Poultry. Ninth Revised Edition, National Academy Press, Washington D.C., 176 p. 1994.
- NRC (National Research Council). Nutrient Requirements of Fish and shrimp. National Academy of Sciences, Washington, DC. 2011.
- NUNES, A. J. P. (editor). Ensaios com o Beijupirá: *Rachycentron canadum*. Resultados e experiências do Projeto Nutrição, Sanidade e Valor do Beijupirá, *Rachycentron canadum*, cultivado no Nordeste do Brasil. Fortaleza: Ministério da Pesca e Aquicultura / CNPQ / Universidade Federal do Ceará. 352 p., 2014.
- OLIVA-TELES, A.; PEREIRA, J. P.; GOUVEIA, A.; GOMES, E. Utilisation of diets supplemented with microbial phytase by seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. Aquatic Living Resources, v. 11 (4), p. 255–259, 1998.
- PAULY, D.; ZELLER, D. Catch reconstruction reveal that global marine fisheries catches are higher than reported and declining. Nature Communications, v. 7, 2016.
- PHILIPOSE, K.K.; LOKA, J.; SHARMA, S. R. K.; DIVU, D.; RAO, K. S.; SADHU, N.; DUBE, P.; GOPAKUMAR, G.; RAO, G. S. Farming of cobia, *Rachycentron canadum* (Linnaeus 1766) in open sea floating cages in India. Indian Journal Fisheries, v. 60(4), p. 35-40, 2013.
- PORTZ, L.; LIEBERT, F. Growth, nutrient utilization and parameters of mineral metabolism in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) fed plant based with graded levels of microbial phytase. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, v. 88, p. 311–320, 2004.

- RAGGI, T. Feeding and nutrition of tropical farmed fish and shrimp: pellet water stability, *in vitro* protein digestion, comparison of inert markers, evaluation of practical feeds, and dietary amino acid requirement, 2016, p. 280. Tese (Doutorado em Oceanografia Biológica) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.
- RAMSAY, J. M.; CASTELL, J. D.; ANDERSON, D. M.; HEBB, C.D. Effects of fecal collection methods on estimation of digestibility of protein feedstuffs by Winter Flounder. *North American Journal of Aquaculture*, v. 62(3), p.168–173, 2000.
- RAMSEYER, L.; GARLING, D.; HILL, G.; LINK, J. Effect of dietary zinc supplementation and pre-treatment of soybean meal or corn gluten meal on growth, zinc status and zinc-related metabolism in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Physiology Biochemistry*, v. 20, p. 251–261, 1999.
- RASMUSSEN, R.S.; OSTENFELD, T.H. Effect of Growth rate on quality traits and feed utilisation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Aquaculture*, v. 184, p. 327–337, 2000.
- RAVINDRAN, V. Evaluation of a layer diet formulated from non-conventional feedingstuffs. *British Poultry Science*, v. 36 (1), p. 165-170, 1995.
- ROCHA, C. M. C. D.; RESENDE, E. K. D.; ROUTLEDGE, E. A. B.; LUNDSTEDT, L. M. Avanços na pesquisa e no desenvolvimento da aquicultura brasileira. *Pesquisa agropecuária brasileira*, v. 48, n. 8, p. 4-6, 2013.
- RODRIGUES, R. V.; SCHWARZ, M. H.; DELBOS, B. C.; SAMPAIO, L. A. Acute toxicity and sublethal effects of ammonia and nitrite for juvenile cobia *Rachycentron canadum*. *Aquaculture*, v. 271 (1-4), p. 553-557, 2007.
- RODRIGUES, R. V.; SCHWARZ, M. H.; DELBOS, B. C.; CARVALHO, E. L.; ROMANO, L. A.; SAMPAIO, L. A. Acute exposure of juvenile cobia *Rachycentron canadum* to nitrate induces gill, esophageal and brain damage. *Aquaculture*, v. 322-323, p. 223-226, 2011.

- SAADIAH, I.; ABOL-MUNAFI A. M.; UTAMA C. M. C. Replacement of fishmeal in cobia (*Rachycentron canadum*) diets using poultry by-product meal. *Aquaculture International*, v. 19(4), p. 637-648, 2011.
- SAJJADI, M.; CARTER, C. G. Effect of phytic acid and phytase on feed intake, growth, digestibility and trypsin activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.). *Aquaculture Nutrition*, v. 10, p. 135–142, 2004.
- SALZE, G.; MCLEAN, E.; BATTLE, P. R.; SCHWARZ, M. H.; CRAIG, S. R. Use of soy protein concentrate and novel ingredients in the total elimination of fish meal and fish oil in diets for juvenile cobia, *Rachycentron canadum*. *Aquaculture*, v. 298(3–4), p. 294-299, 2010.
- SAMPAIO, L. A.; MOREIRA, C. B.; MIRANDA-FILHO, K. C.; ROMBENSO, A. N. Culture of cobia *Rachycentron canadum* (L) in near-shore cages off the Brazilian coast. *Aquaculture Research*, v. 42(6), p. 832-834, 2011.
- SCHWARZ, M. H.; MOWRY, D.; MCLEAN, E.; CRAIG, S. R. Performance of advanced juvenile cobia, *Rachycentron canadum*, reared under diferente thermal regimes: evidence for compensatory growth and a method for cold banking. *Journal of Applied Aquaculture*, v. 19 (4), p. 71-84, 2007.
- SHAFFER, R.V.; NAKAMURA, E.L.; Synopsis of biological data on the cobia *Rachycentron canadum* (Pisces: Rachycentridae). *FAO Fisheries Synopsis* 153 (NMFS/S 153).U.S.Department of Commerce, NOAA Technical Report NMFS 82, 1989.
- SHI, Z.; LI, X.; CHOWDHURY, M. A. K.; CHEN, J. N.; LENG, X. J. Effects of protease supplementation in low fish meal pelleted and extruded diets on growth, nutrient retention and digestibility of gibel carp, *Carassius auratus gibelio*, *Aquaculture*, v. 460, p. 37-44, 2016.
- SILVA, J. G.; OLIVA-TELES, A. Apparente digestibility coefficients of feedstuffs in seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquatic Living Resources*, v. 11, p. 187-192, 1998.
- SILVA JUNIOR, R.F.; NOVA, W. V.; FARIAS, J. L.; COSTA-BOMFIM, C. N.; TESSER, M. B.; DRUZIAN, J. I.; CORREIA, E. S.; CAVALLI, R. O.

- Substituição do óleo de peixe por óleo de soja em dietas para beijupirá (*Rachycentron canadum*). Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 63 (4), p. 980-987, 2011.
- SOUZA-FILHO, J.J.; TOSTA, G.A.M. Bijupirá: As primeiras desovas da geração F1. Panorama da Aquicultura, v.18, p.50-53, 2008.
- SUAREZ, J. A.; TUDELA, C.; DAVIS, D.; DAUGHERTY, Z.; TAYNOR, M.; GLASS, L.; HOENIG, R.; BUENTELLO, A.; BENETTI, D. D. Replacement of fish meal by a novel non-GM variety of soybean meal in Cobia, *Rachycentron canadum*: Ingredient nutrient digestibility and growth performance. Aquaculture, v. 416-417, p. 328-333, 2013.
- SUGIURA, S. H.; GABAUDAN, J.; DONG, F. M.; HARDY, R. W. Dietary microbial phytase supplementation and the utilization of phosphorus, trace minerals and protein by rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) fed soybean meal-based diets. Aquaculture Research, v. 32, p. 583–92, 2001.
- SUN, L.; CHEN, H.; HUANG, L. Effect of temperature on growth and energy budget of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). Aquaculture, v. 261(3), p. 872-878, 2006.
- SUN, L.; CHEN, H. Effects of ration and temperature on growth, fecal production, nitrogenous excretion and energy budget of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). Aquaculture, v. 292 (3), p. 197-206, 2009.
- SUN, L.; CHEN, H. Effects of ration and temperature on growth and nitrogen budget of young cobia *Rachycentron canadum*. Journal Tropical Oceanography, v. 33(2), p. 37-44, 2014.
- TACON, A. G. J.; RODRIGUES, A. M. P. Comparison of chromic oxide, crude fibre, polyethylene and acid-insoluble ash as dietary markers for the estimation of apparent digestibility coefficients in rainbow trout. Aquaculture, v. 43, p. 391- 399, 1984.
- TACON, A. G. J.; METIAN, M. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. Aquaculture, v. 285(1–4): p. 146–158, 2008.

- VERLHAC-TRICHET, V.; VIELMA, J.; DIAS, J.; REMA, P.; SANTIGOSA, E.; WAHLI, T. The efficacy of a novel microbial 6-phytase expressed in *Aspergillus oryzae* on the performance and phosphorus utilization of cold- and warm-water fish: rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, and Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, v. 45(4), p. 367–379, 2014.
- VIELMA, J.; LALL, S. P.; KOSKELA, J.; SCHÖNER, F. J.; MATTILA, P. Effects of dietary phytase and cholecalciferol on phosphorus bioavailability in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, v. 163, p. 309–323, 1998.
- VIELMA J.; MÄKINEN, T.; EKHOLM, P.; KOSKELA, J. Influence of dietary soy and phytase levels on performance and body composition of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and algal availability of phosphorus load. *Aquaculture*, v. 183 (3-4), p. 349-362, 2000.
- WAHJUDI, B.; MICHEL, A. Cobia aquaculture in Indonesia. In: *Cobia Aquaculture: Research, Development and Commercial Production*, Asian Fisheries Society, p.105-114, 2007.
- WAITE, R.; BEVERIDGE, M.; BRUMMETT, R.; CASTINE, S.; CHAIYAWANNAKARN, N.; KAUSHIK, S.; MUNGKUNG, R.; NAWAPAKPILAI, S.; PHILLIPS, M. Improving productivity and environmental performance of aquaculture. Working paper, installment 5 of *Creating a Sustainable Food Future*, World Resources Institute, 2014.
- WANG, G.; WU, R.; XIE, J.; YU, D. Partial replacement for fish meal with soybean meal in feed for Cobia (*Rachycentron canadum*). *Journal of Dalian Fisheries University*, v.20 (4), p. 304-307, 2005.
- WATSON, A. M.; BARROWS, F. T.; PLACE, A. R. Effects of graded taurine levels on juvenile cobia. *North American Journal of Aquaculture*, v. 76 (3), p. 190-200, 2014.
- WEATHERLEY, A. H.; GILL, H.S. Protein, lipid, water and caloric contents of immature rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, growing at different rates. *Journal of Fish Biology*, v. 23, p. 653–673, 1983.

- WEBB, K. A.; HITZFELDER, G. M.; FAULK, C. K.; HOLT, G. J. Growth of juvenile cobia, *Rachycentron canadum*, at three different densities in a recirculating aquaculture system. *Aquaculture*, v. 264 (1-4), p. 223-227, 2007.
- WEBB, K. A.; RAWLINSON, L. T.; HOLT, G. J.. Effects of dietary starches and the protein to energy ratio on growth and feed efficiency of juvenile cobia, *Rachycentron canadum*. *Aquaculture Nutrition*, v. 16 (5), p. 447-456, 2010.
- WEERASINGHE, V.; HARDT, R. W.; HAARD, N. F. An in vitro method to determine phosphorus digestibility of rainbow trout *oncorhynchus mykiss* (Walbaum) feed ingredients. *Aquaculture Nutrition*, v. 7, p. 1-9, 2001.
- WILSON, R. P.; POE, W. E. Apparent digestible protein and energy coefficients of common feed ingredients for channel catfish. *Progressive Fish-Culturist*, v. 47, p. 154-158, 1985.
- WINDELL, J. T.; FOLTZ, J. W.; SAROKAN, J. A. Effect of body size, temperature and ration size on the digestibility of a dry pelleted diet by rainbow trout. *Transactions of the American Fisheries Society*, v. 107, p. 613–616, 1978.
- WU, Y.; WANG, Y.; REN, G.; QIN, J. G.; KIM, S. H. Improvement of fish meal replacements by soybean meal and soy protein concentrate in golden pompano diet through γ -ray irradiation, *Aquaculture Nutrition*, v. 22, p. 873-880, 2016.
- YAN, W. B.; REIGH, R.C.; XU, Z. M. Effects of fungal phytase on utilization of dietary protein and mineral, dephosphorylation of phytic acid in the alimentary tract of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fed an all-plant-protein diet. *World Aquaculture Society*, v. 33 (1), p. 10-22, 2002.
- YIGIT, N. O.; KOCA, S. B.; DIDINEN, B. I. S.; DILER, I. Effect of protease and phytase supplementation on growth performance and nutrient digestibility of rainbow trout (*Oncorhyncmos mykiss*, Walbaum) fed soybean meal-based diets, *Journal of Applied Animal Research*, 2016.
- ZANOTTO, D.L.; BELLAVER, C. Método de determinação da granulometria de ingredientes para uso em rações de suínos e aves. Concórdia: EMBRAPA-CNPSA, p.1-5. (Comunicado Técnico, 215) 1996.

- ZAR, J. H. Biostatistical analysis. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, N.J. 218pp, 1984.
- ZHOU, Q. C.; TAN, B. P.; MAI, K. S.; LIU, Y. J. Apparent digestibility of selected feed ingredients for juvenile cobia *Rachycentron canadum*. *Aquaculture*, v. 241 (1-4), p. 441-451, 2004.
- ZHOU, Q. C.; MAI, K. S.; TAN, B. P.; LIU, Y. J. Partial replacement of fishmeal by soybean meal in diets for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture Nutrition*, v. 11 (3), p. 175-182, 2005.
- ZHOU, Q. C.; ZHAO, J.; LI, P.; WANG, H. L.; WANG, L. G. Evaluation of poultry by-product meal in commercial diets for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, v. 322-323, p. 122-127, 2011.