

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**DINÂMICA DIGESTIVA PROTEICA E RESPOSTA DE
DESEMPENHO EM JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Suziane Ghedini Martinelli

**Santa Maria RS, Brasil
2013.**

**DINÂMICA DIGESTIVA PROTEICA E RESPOSTA DE
DESEMPENHO EM JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)**

Suziane Ghedini Martinelli

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração em Produção Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Zootecnia**

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

Santa Maria, RS, Brasil

2013

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Martinelli, Suziane Ghedini
DINÂMICA DIGESTIVA PROTEICA E RESPOSTA DE DESEMPENHO
EM JUNDIÁ (Rhamdia quelen) / Suziane Ghedini Martinelli.-
2013.
61 f.; 30cm

Orientadora: Leila Picolli da Silva
Coorientador: João Radünz Neto
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-
Graduação em Zootecnia, RS, 2013

1. Proteína 2. Digestão 3. Peixe 4. Sincronismo
Proteico I. Silva, Leila Picolli da II. Radünz Neto, João
III. Título.

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**DINÂMICA DIGESTIVA PROTEICA E RESPOSTA DE DESEMPENHO
EM JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)**

elaborada por
Suziane Ghedini Martinelli

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia

COMISSÃO EXAMINADORA

Leila Picolli da Silva, Dr^a.
(Presidente/Orientadora)

Ivanir José Coldebella, Dr. (UNIPAMPA)

Marcos Martinez do Vale, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 26 de Fevereiro de 2013.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, que sempre me fortaleceu ao longo dessa caminhada.

Aos meus pais Jucimar e Lorena, que sempre me deram apoio e incentivo para ir em busca dos meus sonhos. Que muitas vezes mesmo distante me deram força e apoio incondicional. Pela compreensão dos vários momentos e datas especiais que não pude estar junto de vocês.

A minha irmã Suélen, mais que irmã uma verdadeira mãezona, sempre dando apoio e ajuda, me incentivando a ir em frente.

A toda a equipe do Laboratório de Piscicultura, Maria, Daniel Maschio, Daniel Rotili, Giovani, Cátia, Naglezi, Bruno, Tucu, Silvandro, Suzete, Dina, Lucas, Rodrigo, Isa, Lu, Ana, Carol, Julio, Jackson, Sérgio, sem vocês eu não teria conseguido, obrigada pelo apoio, pela ajuda e principalmente pela amizade.

A professora Leila Picolli da Silva e ao professor João Radünz Neto, agradeço a oportunidade e confiança depositadas em mim, pela orientação, ensinamentos, pela paciência e também pelos ‘puxões de orelha’ quando necessário, meu muito obrigada.

Agradeço também a CAPES pela concessão de bolsa, muito importante para o andamento do meu mestrado. A Giovelli pela doação do farelo de canola para realização dos experimentos.

Ao professor Gilberto e a equipe do Laboratório de Nutrição de Ruminantes, em especial ao colega Tiago Orlandi.

Ao pessoal do Laboratório de Microbiologia de Solos, em especial ao professor Sandro, pelo empréstimo dos equipamentos.

Aos Professores José Henrique, Paulo Pacheco e Rafael Lazzari, pela ajuda nas análises estatísticas.

Agradecimento especial à Fê, Taida e Pati, que me ajudaram no momento que mais precisei, auxiliando nas análises. A Alexandra e a Viviani, que sempre digo que também foram minhas orientadoras.

Às amigas Sol, Dinha Cris e Fernanda, pelos momentos de descontração, pelo ombro amigo nos momentos difíceis

Aos familiares e amigos, em especial a minha avó Glória, pelo incentivo e pela compreensão, pois em vários momentos não pude estar presente. A minha dinda Ana pela amizade, incentivo e pelas muitas caronas.

Enfim agradeço a todos que de uma ou outra forma contribuíram para esta minha caminhada.

“[...] Talvez não tenha conseguido fazer o melhor,

Mas lutei para que o melhor fosse feito [...].

Não sou o que deveria ser,

Mas Graças a Deus, não sou o que era antes.”

(Martin Luther King)

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia
Universidade Federal de Santa Maria

DINÂMICA DIGESTIVA PROTEICA E RESPOSTA DE DESEMPENHO EM JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)

AUTORA: SUZIANE GHEDINI MARTINELLI

ORIENTADORA: LEILA PICOLLI DA SILVA

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 26 de fevereiro de 2013.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de dietas com diferentes velocidades de digestão proteica sobre o desempenho, composição centesimal, parâmetros metabólicos, curva glicêmica e curva de absorção proteica de jundiás. O efeito da adição de tanino às dietas experimentais com fontes proteicas de rápida digestão também foi avaliado quanto às respostas digestivas e metabólicas dos animais. Foram realizados testes *in vitro* para seleção de fontes proteicas com diferentes tempos de digestão, que compuseram as dietas experimentais: PS- farinha de peixe (lenta velocidade de digestão) e farelo de soja (rápida velocidade de digestão); PC- farinha de peixe e farelo de canola (média velocidade de digestão), PCS: farinha de peixe, farelo de canola e de soja, PStan- farinha de peixe e farelo de soja (com adição de 1,5% de tanino) e PCStan- farinha de peixe, farelo de canola e de soja (com adição de 1,5% de tanino). No ensaio biológico de crescimento foram utilizados 375 juvenis de jundiá (38 ± 3 g de peso inicial), divididos em 15 unidades experimentais em cinco tratamentos e três repetições. Ao final de 60 dias experimentais os animais foram pesados e medidos e realizadas coletas de sangue, filé, fígado e trato digestório, bem como, realizada análise centesimal de peixe inteiro. As curvas glicêmica e proteica foram determinadas a partir da coleta de sangue antes do arraçoamento e de hora em hora após o fornecimento das rações experimentais (2,5% peso vivo), totalizando 12 pontos de análise. Para a digestibilidade aparente das rações para os jundiás foi utilizado o óxido de cromo como indicador, quantificado nas rações e fezes. Foram observadas nas curvas de digestão *in vitro*, diferenças marcantes quanto à digestão dos diferentes ingredientes proteicos e das rações, se refletindo no desempenho dos animais. Mesmo sem mostrar diferenças significativas, foi possível observar uma tendência da dieta PS, que teve curva de digestão mais estável, a melhores resultados de desempenho e de deposição proteica na carcaça, quando comparada à dieta PC, com menores valores de gordura na carcaça, porém com menor retenção de proteína. Os índices hepato e gonado-somático foram maiores nos animais do tratamento PS, em comparação com os do tratamento PC. O tratamento PS, também apresentou os melhores resultados para digestibilidade aparente dos nutrientes das rações, enquanto as dietas com adição de tanino apresentaram os piores resultados de digestibilidade de proteína das rações. Também na dieta PCStan, observou-se alterações nos parâmetros sanguíneos, o que aliado a curva glicêmica pode mostrar um indicativo de estresse nos animais alimentados com essa dieta. Para as demais análises (fígado e trato digestivo), não foram observadas diferenças. Com base nos resultados encontrados, pode-se concluir que: o desempenho dos animais não foi afetado pelas dietas. Os animais alimentados com a dieta PS apresentaram maior retenção de proteína na carcaça. Houve alterações nos parâmetros sanguíneos dos animais dos tratamentos com tanino e do tratamento PS. A adição de tanino nas dietas não apresentou melhora no desempenho, sendo que sua adição piorou a digestibilidade aparente dos nutrientes da ração.

Palavras chave: Farinha de peixe. Proteína. Digestão.

ABSTRACT

Animal Science Master Dissertation
Post-Graduate Program in Animal Science
Federal University of Santa Maria

PROTEIN DIGESTIVE DYNAMIC RESPONSE AND PERFORMANCE IN SILVER CATFISH (*Rhamdia quelen*)

AUTHOR: SUZIANE GHEDINI MARTINELLI

ADVISER: LEILA PICOLLI DA SILVA

Date and Defense Place: Santa Maria, February 26th, 2013.

The aim of this study was to evaluate the effect of diets with different speeds of protein digestion on performance, composition, metabolic parameters, glucose curve and protein absorption curve of silver catfishes. The effect of adding tannin to experimental diets with rapid digestion protein sources was also evaluated in relation to digestive and metabolic responses. Assays were performed *in vitro* for selection of protein sources with different digestion rates, which composed the following diets: PS- fishmeal (slow speed digestion) and soybean meal (fast speed digestion), PC: fishmeal and canola meal (average speed of digestion), PCS- fish meal, canola meal and soybean meal, PStan- fish meal and soybean meal (with addition of 1.5% tannin) and PCStan- fishmeal, canola meal and soybean meal (with addition of 1.5% tannin). The biological assay of growth was composed by 375 juvenile catfish (38 ± 3 g initial weight), which were divided into 15 experimental units, composing five treatments with three replications. At the end of 60 days, the animals were weighed and their size measured. Samples of blood, fillet, liver and digestive tract were taken. The proximate analysis of whole fish was also accomplished. Glucose and protein contents were determined in blood samples before feeding and hour after delivery of the experimental diets (2.5% weight), totaling 12 points of analysis. The apparent diet digestibility was determined in the diet and feces with chromium oxide as an indicator. The *in vitro* digestion analysis show large differences in the digestion of different protein ingredients and diets, as well as animal performance. The PS diet tends to lead to higher performance, higher carcass protein deposition, lower levels of carcass fat and lower protein retention, compared to PC diet. Indexes and hepato-somatic gonad were higher in animals PS diet, compared to PC diet. The PS diet also showed the best results for apparent digestibility, whereas diets with tannin showed the worst protein digestibility. The PCStan diet showed changes in blood parameters, which combined with glucose curve, may show an indication of animal stress. For other analyzes (liver and digestive tract), no differences were observed. Based on these results, we can conclude that: animal performance was not affected by the diets. The animals fed the PS diet had higher protein retention in the carcass. There were changes in blood parameters of animals from treatments with tannin and treatment PS. The addition of tannins in the diets did not improve performance, and its addition worsened the apparent digestibility of the ration.

Keywords: Fish meal. Protein. Digestion.

LISTA DE FIGURAS

Artigo 1 – “Dinâmica de digestão proteica no crescimento e composição de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*)”

Figura 1. A: Digestibilidade *in vitro* dos ingredientes proteicos testados. 1 B: Digestibilidade *in vitro* das rações testadas:30

Artigo 2 – “Sincronismo proteico e influência no metabolismo de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*)”

Figura 1. Curva glicêmica e proteica, de juvenis de jundiá alimentados com dietas contendo fontes proteicas de distintas velocidades de digestão 42

Figura 2. Peso final dos jundiás alimentados com dietas contendo fontes proteicas de distintas velocidades de digestão aos 60 dias experimentais. 43

LISTA DE TABELAS

Artigo 1 – “Dinâmica de digestão proteica no crescimento e composição de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*)”

Tabela 1. Composição das rações experimentais contendo fontes proteicas de distintas velocidades de digestão	25
Tabela 2. Parâmetros de desempenho zootécnicos e índices digestivos de juvenis de jundiá alimentados com dietas contendo fontes proteicas de distintas velocidades de digestão aos 60 dias de experimento	26
Tabela 3. Composição centesimal e índices de deposição de nutrientes no peixe inteiro e nos filés dos jundiás, alimentados com dietas contendo fontes proteicas de distintas velocidades de digestão aos 60 dias de experimento.....	27
Tabela 4. Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes das rações pelo jundiá	28

Artigo 2 – “Sincronismo proteico e influência no metabolismo de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*)”

Tabela 1. Composição das rações experimentais contendo fontes proteicas de distintas velocidades de digestão	44
Tabela 2. Parâmetros sanguíneos de jundiás alimentados com dietas contendo fontes proteicas de distintas velocidades de digestão aos 60 dias experimentais.....	45
Tabela 3. Parâmetros hepáticos de juvenis de jundiá alimentados com dietas contendo fontes proteicas de distintas velocidades de digestão aos 60 dias experimentais	46
Tabela 4. Atividade de enzimas digestivas de juvenis de jundiá alimentados com dietas contendo fontes proteicas de distintas velocidades de digestão aos 60 dias experimentais	47

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1 – Normas de publicação da Revista Semina: Ciências Agrárias– artigos 1 e 2	55
---	-----------

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
1.1 Objetivo geral.....	13
1.2 Objetivos específicos.....	13
2. ARTIGO 1- “Dinâmica de digestão proteica no crescimento e composição de juvenis de jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>)	14
Resumo	14
Abstract	14
Introdução	15
Material e Métodos.....	16
Resultados e Discussão	18
Conclusão	21
Referências Bibliográficas	22
3. ARTIGO 2- “Sincronismo proteico e influência no metabolismo de juvenis de jundiá”	31
Resumo	31
Abstract	31
Introdução	32
Material e Métodos.....	16
Resultados e Discussão	35
Conclusão	37
Referências Bibliográficas	37
4. DISCUSSÃO GERAL	48
5. CONCLUSÕES	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
ANEXOS	55

1. INTRODUÇÃO

A alimentação representa de 40 a 70% do custo da produção de peixes (COLDEBELLA; RADÜNZ NETO, 2002), o que se deve principalmente ao elevado custo dos ingredientes proteicos, de alta exigência pela maioria das espécies cultivadas na piscicultura. Um dos pontos chave para atenuar custos e otimizar a produção de pescado é a oferta de rações balanceadas que atendam às necessidades nutricionais, principalmente em proteína e aminoácidos. Para isso, o conhecimento das exigências da espécie e o valor nutricional dos ingredientes utilizados na confecção das rações são pontos importantes na nutrição. Neste contexto, muitos estudos foram conduzidos a fim de avaliar efeitos de uso de diferentes ingredientes proteicos nas rações que, embora isonutricionalmente formuladas, geralmente provocaram diferenças significativas em respostas zootécnicas e metabólicas (LAZZARI et al., 2007; VEIVERBERG et al., 2008; BERGAMIN et al., 2011).

Sabe-se que ingredientes de origem animal apresentam maior valor de digestibilidade que os de origem vegetal (GOMES et al., 1995), bem como, que a mistura de ingredientes dessas duas fontes pode melhorar o desempenho dos animais (EL-SAYED; GABER, 2003; KAUSHIK; SEILIEZ, 2010). Este fato também está estreitamente relacionado à dinâmica de digestão dos nutrientes (tempo x absorção x metabolização), o que ainda é pouco estudado na nutrição de peixes. Há estudos avaliando as diferenças no tempo de absorção de proteínas de ingredientes de fontes vegetal e animal em relação a aminoácidos sintéticos (AMBARDEKAR et al., 2009). Porém, não há relatos deste tipo de avaliações com diferentes ingredientes comerciais de origem vegetal e animal, que são convencionalmente utilizados na nutrição de peixes.

Outro ponto a ser estudado é a possibilidade de retardar a digestão de ingredientes rapidamente metabolizados, a fim de permitir que os nutrientes estejam disponíveis de forma equilibrada ao longo do tempo, tanto nos processos digestivos como durante os processos absorptivos e metabólicos, que se converterá em respostas produtivas otimizadas sem onerar os custos com alimentação. Os taninos vêm sendo estudados na nutrição de ruminantes (KOZLOSKI et al., 2012) com intuito de diminuir a digestão ruminal e aumentar o aproveitamento de N no intestino delgado, porém, seus efeitos são pouco relatados na nutrição de peixes.

Espera-se que estudos com sincronismo digestivo e metabólico dos nutrientes permitam o melhor aproveitamento das dietas, com impactos positivos sobre a deposição muscular e crescimento dos peixes, o que trará contribuição significativa para aumentar a eficiência alimentar e produtiva da piscicultura nacional.

1.1 Objetivo geral

Combinar fontes proteicas com diferentes tempos de digestão, de origem animal e vegetal, na tentativa de melhorar a dinâmica de digestão da proteína e aproveitamento dos aminoácidos para deposição de proteína muscular em jundiás.

1.2 Objetivos específicos

- Determinar a digestibilidade proteica *in vitro*, de ingredientes proteicos de origem vegetal e animal.
- Quantificar os parâmetros zootécnicos, enzimáticos e metabólicos de jundiás, alimentados com dietas produzidas a partir da combinação dos ingredientes testes.
- Verificar a deposição de proteína muscular nos animais submetidos aos tratamentos.
- Determinar a digestibilidade aparente das rações utilizadas para o jundiá
- Avaliar o efeito da adição de tanino na dinâmica de digestão da proteína das rações para o jundiá.

2. ARTIGO 1

Dinâmica de digestão proteica no crescimento e composição corporal de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*)

Protein dynamics on growth and body composition of juvenile silver catfish (*Rhamdia quelen*)

Suziane Ghedini Martinelli, Leila Picolli da Silva, Patrícia Inês Mombhac, Taida Juliana Adorian, Fernanda Rodrigues Goulart, Bruno Bianchi Loureiro, João Radünz Neto e Eduardo Kelm Battisti

Resumo - O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da dinâmica de digestão de diferentes fontes proteicas no crescimento e composição corporal de jundiás, bem como, avaliar o efeito da adição de tanino, na dinâmica digestiva dos nutrientes. Foram realizadas análises de digestibilidade *in vitro* da proteína dos ingredientes e das rações, sendo elas compostas de farinha de peixe e farelo de soja (PS), farinha de peixe e farelo de canola (PC), farinha de peixe, farelo de canola e de soja (PCS) e as dietas PStan e PCStan (com tanino) em três repetições. Foram utilizados 375 juvenis de jundiá (38 ± 3 g de peso inicial), ao final do experimento foi realizada biometria onde seis peixes por tratamento foram abatidos, retirado filé e avaliados os parâmetros zootécnicos, índices e rendimentos. Foram selecionados mais seis animais por tratamento para análise da composição centesimal, que também foi realizada nos filés dos animais abatidos. Para a digestibilidade foram utilizados 120 animais, alimentados com dieta contendo 0,3% de óxido de cromo III. Foi realizada análise de concentração de óxido de cromo nas fezes e nas rações. Foram observadas diferenças quanto à digestão *in vitro* dos ingredientes e das rações, sendo que a dieta com comportamento digestivo mais estável proporcionou melhores resultados de deposição de proteína na carcaça e melhores resultados de digestibilidade aparente dos nutrientes da ração. Os parâmetros de crescimento dos jundiás não foram afetados nos diferentes tratamentos. Já a composição centesimal do peixe inteiro foi afetada, tendo o tratamento PC menores valores de gordura na carcaça, porém também de retenção proteica. Ainda constatou-se que a adição de tanino piorou a digestibilidade aparente das rações. Pode-se concluir que o desempenho dos animais não foi afetado. Houve maior retenção proteica nos animais do tratamento PS. A adição de tanino piorou a digestibilidade aparente das rações.

Palavras chave: Proteína, Digestibilidade, Farinha de peixe, Farelo de soja, Farelo de canola.

Abstract – The aim of this study was to evaluate the effect of the dynamics of digestion of different protein sources on growth, body composition of silver catfish, as well as to evaluate the effect of tannin and the dynamics of the digestive nutrients. Analyses of *in vitro* digestibility of protein and feed ingredients, which were composed of fish meal and soybean meal (PS), fish meal and canola meal (PC), fish meal, canola meal and soybeans (PCS) and diets PStan and PCStan (tannin) in three replications. We used 375 juvenile catfish (38 ± 3 g initial weight) at the end of the experiment was conducted where biometrics six fish per treatment were slaughtered, fillet removed and evaluated for zootechnical parameters, indices and yields determination.

Six animals per treatment were selected for analysis of the chemical composition, which was also held in fillets of slaughtered animals. The digestibility was determined in 120 animals that received the diet with 0.3% chromium oxide III. Analysis was performed concentration of chromium oxide in the diets and feces. Differences were observed regarding the *in vitro* digestion of ingredients and diets. Diet with digestive behavior provided better results with more stable protein deposition in the carcass and better results for apparent digestibility of the ration. The growth parameters of silver catfish were not affected by different treatments. The chemical composition of the whole fish was affected. The treatment with PC had the lowest values of carcass fat and protein retention. The results show that the addition of tannin worsened the apparent digestibility of the diet. It can be concluded that the performance of the animals was not affected. There was higher protein retention in treatment PS animals. The addition of tannin worsened the apparent digestibility of the feed.

Key words: Protein, Digestibility, Fish meal, Soybean meal, Canola meal.

Introdução

A intensificação da produção cultivada de peixes tem motivado estudos nutricionais a fim de proporcionar melhorias na utilização de nutrientes da dieta, que representa o item mais oneroso na atividade piscícola (COLDEBELLA; RADÜNZ NETO, 2002; TACON; METIAN, 2008).

A elevada exigência em proteína na dieta é responsável pelo alto custo das formulações, uma vez que a farinha de peixe, que é a fonte proteica tradicionalmente usada, tem se tornado escassa nos últimos anos (FURUYA; FURUYA, 2010). Deste modo, muitos estudos vêm sendo realizados na tentativa de encontrar ingredientes proteicos alternativos, com destaque para aqueles de origem vegetal, como os farelos de soja e canola (SOARES et al., 2001; LAZZARI et al., 2008; VEIVERBERG et al., 2008; BERGAMIN et al., 2011; VEIVERBERG, 2011). Estudos com estas fontes têm obtido resultados promissores, principalmente em espécies de hábito alimentar onívoro como o jundiá (*Rhamdia quelen*), que vem se destacando pelo bom crescimento, mesmo em meses mais frios e pela qualidade do pescado (FRACALOSSO et al., 2004; BALDISSEROTTO, 2009)

Com o uso de ingredientes alternativos espera-se garantir a eficiência produtiva a custo compatível. Neste sentido, é de suma importância atentar para a dinâmica digestiva e metabólica (tempo x absorção x metabolização) que ainda é um assunto pouco abordado na nutrição de peixes, uma vez que mesmo em rações balanceadas, as diferenças na velocidade de digestão e absorção dos nutrientes que compõem os distintos ingredientes da dieta, podem causar descompasso digestivo e metabólico, especialmente aminoacídico, prejudicando o crescimento dos animais.

Neste cenário, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da dinâmica de digestão de diferentes fontes proteicas no crescimento e composição corporal de jundiás, bem como, avaliar o efeito da adição de tanino, na dinâmica digestiva da proteína.

Material e métodos

1. Digestão proteica *in vitro*

A digestão proteica *in vitro* dos ingredientes de origem animal (farinha de carne e ossos suína, farinha de peixe - resíduo de abate de tilápias e farinha de vísceras de aves) e de origem vegetal (farelo de soja, farelo de girassol e farelo de canola), bem como das rações experimentais, foram realizadas seguindo metodologia enzimática adaptada por Dias et al. (2010). As amostras foram incubadas com pepsina em solução de HCL 0,1 N, em banho de 37°C sob agitação constante, por uma hora. Após esse período o pH das amostras foi ajustado para 7 com adição de NaOH 0,4 N, adicionando posteriormente enzima pancreatina e levadas novamente ao banho com agitação por um período de três horas e adicionado ácido tricloro acético (TCA) 50%. Uma alíquota de 2ml da solução digerida foi retirada a cada meia hora, com o intuito de determinar a dinâmica digestiva de cada ingrediente testado, sendo para cada tempo de coleta um tubo. O restante das amostras foram centrifugadas (10.000rpm por 10min.), retirada outra alíquota de 2ml de sobrenadante e realizada digestão da proteína por microKjeldhal.

2. Dietas

Os ingredientes foram agrupados quanto à velocidade de digestão proteica *in vitro* em rápida, média e lenta digestibilidade. Sendo um ingrediente pertencente a cada grupo obtido, selecionado para compor os tratamentos experimentais, sendo escolhidos a farinha de peixe (lenta), farelo de canola (média) e farelo de soja (rápida).

Os tratamentos foram formados por dietas isonutritivas (Tabela 1), compostas por distintas fontes proteicas, quais sejam: PS (50% do aporte proteico advindo da farinha de peixe e 50% do farelo de soja); PC (50% do aporte proteico advindo da farinha de peixe e 50% do farelo de canola) e PCS, composta por farinha de peixe, farelo de soja e de canola (33% do aporte proteico advindo de cada ingrediente), percentagens excetuando-se o valor proteico advindo do milho. Neste ensaio também foi avaliado o efeito da adição de 1,5% de tanino na dinâmica de digestão e aproveitamento dos nutrientes, sendo adicionado extrato de *Acacia mearnsii* (Weibull Black, Tanac SA, Montenegro, Brasil, tendo 720 g/ kg de taninos totais) nas rações PS e PCS, que passaram a ser denominadas PStan e PCStan.

Os ingredientes foram pesados e misturados em amassadeira elétrica e as rações peletizadas em moedor de carne e secas em estufa (50°C) com circulação de ar por 24 horas e posteriormente acondicionadas em freezer.

3. Ensaio biológico de crescimento

O experimento foi realizado no Laboratório de Piscicultura da Universidade Federal de Santa Maria, tendo duração de 60 dias e desenvolvido entre os meses de fevereiro e abril de 2012.

Foram utilizados 375 juvenis de jundiá de ambos os sexos, com peso inicial de 38 ± 3 g e comprimento de $16,18 \pm 0,04$ cm, sendo distribuídos 25 animais por unidade experimental. Cada unidade experimental possuía volume útil de 280L com entrada e saída de água individual, dispostas em circuito de recirculação de água, provido de dois filtros biológicos, reservatório com volume de 2000L e resistências para manutenção da temperatura da água (25°C).

Os jundiás passaram por período de sete dias de adaptação ao circuito, recebendo a dieta PCS. Foram alimentados duas vezes ao dia (09:00 e 17:00), considerando o fornecimento de 2,5% de ração sobre o peso vivo, com ajustes realizados a cada 15 dias. Antes das alimentações foram realizadas sifonagens nas unidades experimentais (08:00 e 15:30), para retirada de fezes e eventuais sobras de ração.

4. Parâmetros avaliados

No início do experimento foram coletados 10 peixes com a média de peso dos jundiás selecionados nos tratamentos, para análise da composição centesimal e mais 10 animais para coleta de filé e de tecidos. Para isso os jundiás passaram por jejum de 24 horas, sendo anestesiados e abatidos por overdose de benzocaína (35mg/L e 250mg/L, respectivamente). Ao término do experimento dois animais por unidade experimental foram selecionados e abatidos, sendo coletados filé, fígado, trato gastrointestinal, gordura e gônadas, para análise de rendimento de carcaça (RC), sendo considerada a carcaça sem filé e vísceras (com a cabeça e brânquias), rendimento de filé (RF), índice hepato-somático (IHS), índice digestivo-somático (IDS), quociente intestinal (QI), índice de gordura visceral (IGV) e índice gonado-somático (IGS). Foram também coletados dois animais por unidade experimental para análise de composição centesimal de peixe inteiro (proteína bruta por microKjeldhal, matéria seca e matéria mineral) seguindo as metodologias propostas pela AOAC (1995) e gordura de acordo com Bligh; Dyer (1959). As análises de composição centesimal foram realizadas também nos filés dos animais abatidos.

Os parâmetros zootécnicos avaliados foram o ganho de peso diário (GPD), ganho de peso relativo (GPR), peso final (PF), comprimento total (CT), fator de condição (FC), taxa de crescimento específico (TCE) e conversão alimentar aparente (CAA). Também foram avaliadas as deposições de proteína e de gordura na carcaça (DPC e DGC, respectivamente) e no filé (DPF e DGF) e o coeficiente de retenção de proteína (CRP).

5. Ensaio biológico de digestibilidade aparente

O experimento de digestibilidade foi desenvolvido entre maio e junho de 2012, no Laboratório de Piscicultura da UFSM. Foram utilizados 120 animais, com a média de peso final dos animais do experimento de crescimento, distribuídos em seis incubadoras de fundo cônico (20 animais por unidade experimental), acopladas ao circuito de recirculação. Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia (08:00 e 16:00) com as rações experimentais adicionadas de 0,3% de óxido de cromo III (Cr_2O_3). Após a alimentação, foi realizada limpeza e colocado tubo coletor no fundo de cada incubadora para coleta de fezes, realizada duas vezes ao dia (08:00 e 16:00). Os tubos foram envoltos por isopor com gelo para melhor conservação das amostras.

A concentração de Cr_2O_3 nas fezes e nas rações foi realizada seguindo a metodologia de Graner (1972) e Bremer Neto et al. (2003) para a digestão, a leitura foi feita pela metodologia descrita por Bremer Neto (1999). As amostras de fezes foram secas em estufa de ar forçado (60°C) e maceradas, sendo então pesadas e colocadas em tubo de digestão, em seguida adicionado 5ml de ácido nitroperclórico e levadas em bloco digestor com temperatura inicial de 50°C, aumentada a cada 30 minutos até atingir 300°C. Assim que as soluções apresentavam coloração amarelo ouro eram retiradas, resfriadas e diluídas em balão volumétrico de 100ml, sendo retirada alíquota de 5ml e misturada à 5ml de solução de difenilcarbazida, para realização da leitura em espectrofotômetro (550nm), após 12 minutos de descanso da solução.

Para o cálculo do coeficiente de digestibilidade, utilizou-se a fórmula: $CDa = 100 - [100 (\%Cr_2O_3d / \%Cr_2O_3f) \times (\%Nf / \%Nd)]$. Onde CDa = coeficiente de digestibilidade aparente; $\%Cr_2O_3d$ = percentagem de cromo na dieta; $\%Cr_2O_3f$ = percentagem de cromo nas fezes; $\%Nf$ = percentagem do nutriente nas fezes e $\%Nd$ = percentagem de nutriente na dieta.

Para as dietas e para as fezes foram determinados proteína bruta, pelo método de microKjeldahl (fator de 6,25), matéria seca e matéria mineral, seguindo as metodologias da AOAC (1995).

6. Qualidade da água

Diariamente foi verificada a temperatura da água e oxigênio (oxímetro digital, modelo 550A-YSI). Semanalmente foram avaliados os demais parâmetros pH, alcalinidade, dureza, amônia e nitrito, todos com auxílio de kit colorimétrico da marca Alfakit. A média de temperatura foi de $25,5 \pm 1,74^\circ\text{C}$; o oxigênio apresentou valor de $5,11 \pm 0,79$ mg/L; pH $7,16 \pm 0,29$; alcalinidade $41 \pm 9,88$ mgCaCO₃/L; dureza $24,04 \pm 25,61$ mgCaCO₃/L; amônia total $0,37 \pm 0,20$ ppm e nitrito $0,11 \pm 0,16$ ppm, mantendo-se dentro dos padrões para a criação da espécie durante o período experimental, segundo (BALDISSEROTTO; RADÜNZ NETO, 2005)

7. Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado no experimento de crescimento e digestibilidade aparente foi o inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e três repetições. Os dados foram submetidos a teste de normalidade, análise de variância e teste F. As médias foram comparadas pelo teste de Duncan em nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o pacote estatístico SAS 9.2.

Resultados e Discussão

Os ingredientes proteicos estudados apresentaram diferenças marcantes quanto a sua dinâmica de digestão *in vitro* (Figura 1A). Sabe-se que os ingredientes testados são compostos por diferentes grupos proteicos, que se distinguem quanto a sua estrutura tridimensional de acordo com as forças que as unem (ligações covalentes, forças de Van der Waals, ligações de hidrogênio, etc.) e com seu sequenciamento de aminoácidos (FENNEMA, 2000; BOBBIO; BOBBIO, 1985). Quando considerada somente a fração proteica, pode-se inferir que estas características sejam responsáveis pelas distintas solubilidades e digestibilidades de ingredientes proteicos destinados a nutrição animal.

As proteínas de origem animal são constituídas de miofibrilas, proteínas do sistema muscular involuntário e tecido conjuntivo (proteína fibrilar), normalmente unidas por pontes de hidrogênio e ligações covalentes. Estas ligações tendem a ser mais fortes do que aquelas das proteínas de reserva de origem vegetal (soja, canola e girassol), compostas de maior proporção de prolaminas e glutelinas que são utilizadas pelas sementes para germinação. Logo, as ligações proteicas de fontes vegetais devem ser facilmente quebradas para que a utilização seja rápida, a fim de suprir a demanda germinativa, o que torna estes ingredientes com velocidade de digestão superior em comparação com as proteínas fibrilares de origem animal (BOBBIO; BOBBIO, 1985; CORTE, 2005). Este fato foi constatado no presente trabalho onde as fontes proteicas de origem animal (farinha de peixe, farinha de carne e ossos e farinha de vísceras) apresentaram digestão *in vitro* mais lenta do que aquelas de origem vegetal (farelos de soja, canola e girassol) (Figura 1A).

Nas digestibilidade *in vitro* das rações foram observadas diferenças quanto às combinações das fontes protéicas de origem animal e vegetal (Figura 1B). A combinação entre farinha de peixe e farelo de soja apresentou comportamento de digestão mais estável ao longo do tempo, especialmente quando comparada a combinação entre farinha de peixe e farelo de canola. Constatou-se assim que a combinação de duas fontes, classificadas como de rápida e lenta digestão *in vitro*, resultou em curva mais estável, sem picos ou quedas bruscas, de digestão proteica. A digestão *in vitro* é uma estimativa da dinâmica digestiva que ocorrerá no animal, porém, com menores proporções de agentes interferentes. Nos peixes, estas fontes podem ter comportamento diferenciado devido à presença de fatores antinutricionais que influem decisivamente sobre a velocidade de digestão e metabolização proteica. Ao contrário do observado no ensaio *in vitro* do presente experimento, Ambardekar et al. (2009), trabalhando com avaliação de digestibilidade e tempo de absorção de aminoácidos de ingredientes proteicos de origem animal e vegetal, versus a mistura de aminoácido sintético correspondendo a composição aminoacídica das fontes convencionais para catfish, relataram que o farelo de soja apresenta mais lenta digestão.

A maior estabilidade de digestão da dieta PS observada no ensaio *in vitro*, sem quedas e picos bruscos, demonstra um suprimento mais estável de nutrientes aos animais refletindo-se, mesmo que sem haver diferença significativa, na maioria dos parâmetros de crescimento avaliados (PF, GPD, GPR), que tenderam a apresentar melhores resultados para este tratamento (Tabela 2).

Comparando a combinação da farinha de peixe com as fontes vegetais, observou-se que a dieta com canola apresentou tendência (embora não significativa) a proporcionar menor desempenho dos peixes (Tabela 2). Este fato pode estar relacionado à maior proporção de prolaminas e glutelinas na canola, quando comparada com a soja (90% de globulinas e 10% de albuminas), o que pode ter provocado um desequilíbrio digestivo e metabólico no suprimento aminoacídico para os animais submetidos aos distintos tratamentos. Outra possibilidade é a de que parte desta albumina da canola esteja como proteína de defesa (PELEGRINI, 2007).

Mesmo a canola, com maiores valores de albumina (44-52%) em relação à soja (LINDEN; LORIENT, 1996; NEVES; SILVA; SILVA, 2006), o tratamento PC não apresentou resultados satisfatórios de desempenho (Tabela 2). Este fato pode ser devido à fração proteica da soja ser composta por grupos de proteína com bom equilíbrio aminoacídico e relativamente ricas nos aminoácidos essenciais lisina, triptofano e metionina. Enquanto as prolaminas e glutelinas presentes na canola têm composição mais variável, com menores quantidades destes aminoácidos (HOSENEY; ALONSO, 1999),

Outro fator que pode ter contribuído para este melhor resultado da dieta PS em relação a PC é que o farelo de soja apresenta menores quantidades de antinutrientes em relação ao farelo de canola. Os fatores antinutricionais presentes nos ingredientes podem afetar o processo digestivo, alterando a velocidade com que estes ingredientes são digeridos pelos animais. Apesar de o farelo de soja apresentar fatores antinutricionais, no processamento deste ingrediente muitos são inativados. Já, o farelo de canola apresenta maiores concentrações em vários antinutrientes (ácido fítico, taninos, glicosinolatos, inibidores de tripsina), além de maior teor de fibra (GALDIOLI et al., 2000).

Elevado nível de fibra na dieta pode acarretar alterações no IDS e no QI (RADÜNZ NETO et al., 2006). Porém, este fato não foi observado neste estudo, reforçando que os piores resultados da dieta PC, podem ter ocorrido devido à falta de sincronismo proteico desta fonte com a farinha de peixe. De acordo com a figura 1B, observa-se este descompasso, pois neste tratamento houve variação mais brusca em sua digestão.

Nos dados de rendimento de carcaça e de filé, assim como o índice de gordura visceral (IGV), não foram detectadas diferenças significativas (Tabela 2). Os valores de IGV encontrados neste trabalho foram semelhantes aos encontrados por Veiverberg (2011), trabalhando com mistura de ingredientes proteicos de origem vegetal e animal para jundiá (média de 2,24 %).

O tratamento PS apresentou valores mais elevados para o índice hepato-somático (IHS) e índice gonado-somático (IGS), em comparação com o tratamento PC, não diferindo dos demais (Tabela 2). Este fato pode estar ligado à presença de isoflavonas na soja, pois estes resultados foram verificados em todos os tratamentos que continham farelo de soja em sua composição (tabela 2). As isoflavonas são fitoesteróides, que tem efeito semelhante aos hormônios, pois sua estrutura se assemelha ao 17- β -estradiol, podendo atuar sobre os receptores estrogênicos (SILVA et al., 2009). O maior IHS pode ser resultado de um maior estoque de glicogênio no fígado destes animais já que segundo Navarro; Gutiérrez (1995), o glicogênio pode representar de 1 a 6% do peso do fígado. Outra hipótese é que o IHS foi influenciado pelo IGS, devido ao processo de vitelogenese, já que o experimento foi conduzido durante o período reprodutivo dos animais, que vai dos meses de agosto a março (BALDISSEROTTO; RADÜNZ NETO, 2005) e segundo Gurgel et al. (2000), este processo pode afetar o índice hepato-somático, cujos valores diminuem próximo ao período de desova dos animais.

Para a composição corporal do peixe inteiro, foi possível observar menor percentagem de gordura nos animais do tratamento PC (Tabela 3). Este dado está de acordo com o encontrado por Soares et al. (2001), trabalhando com substituição de farelo de soja por farelo de canola para tilápias, tendo menores valores de gordura na carcaça nos níveis mais altos de substituição. Para os demais parâmetros (proteína, matéria seca e matéria mineral) não foram verificadas diferenças significativas. A composição centesimal dos filés, também não foi alterada nos diferentes tratamentos testados.

Na avaliação dos dados de DPC, DGC, DPF e DGF, não foram observadas diferenças significativas (Tabela 3). Estes dados de deposição na carcaça e no filé são indicativos de qualidade do pescado, pois tanto para o produtor quanto para o consumidor, o que se deseja é um peixe que tenha maior deposição de proteína (músculo) e menor deposição de gordura.

Segundo Bombardeli et al. (2003), a forma mais correta de se avaliar o crescimento de um animal é através do ganho proteico, uma vez que o ganho de peso pode mascarar a qualidade do produto final, onde procura-se maior deposição de músculo em detrimento ao tecido adiposo.

Os animais do tratamento PS apresentaram valores mais elevados de coeficiente de retenção de proteína (CRP) (Tabela 3), o que reforça a ideia de melhor aporte de nutrientes aos animais em comparação a dieta PC que além de menor percentagem de gordura, proporcionou também os menores valores de CRP. Estes dados aliados às curvas de digestibilidade *in vitro* das rações reforçam a ideia de assincronismo na

digestão e utilização dos nutrientes, nos animais do tratamento PC, mostrando que as diferentes estruturas e grupos proteicos existentes nos alimentos podem afetar a dinâmica de digestão e metabolização proteica.

Quanto à digestibilidade das rações, tanto *in vitro* como aparente, a dieta PS foi a que apresentou melhores resultados de digestibilidade de proteína. As dietas PC e PCS não diferiram entre si na digestibilidade de PB. Os tratamentos com inclusão de tanino apresentaram os piores valores de digestibilidade para PB (Tabela 4), provavelmente devido aos efeitos antinutricionais causados por este constituinte, que pode formar complexos com as proteínas e também causar inibição de enzimas digestivas, prejudicando a digestão proteica (SILVA; SILVA, 1999; PINTO et al, 2001).

A dieta PS também apresentou melhor digestibilidade da matéria orgânica (MO), matéria seca (MS) e matéria mineral (MM), o que reforça a hipótese de fornecimento mais estável de nutrientes para os peixes, que se refletiu em melhor desempenho, como pode ser verificado nos dados de retenção de proteína (Tabela 3). As demais dietas não apresentaram diferença significativa para os parâmetros de digestibilidade aparente neste experimento.

Obteve-se uma correlação entre a digestibilidade *in vitro* e a digestibilidade aparente ($p < 0,05$, $r = 0,67$), das rações testadas neste experimento, sugerindo que a digestibilidade *in vitro* poderá ser utilizada como ferramenta para avaliação da digestibilidade das rações (Figura 1B), embora ainda sejam necessários ajustes na metodologia de avaliação.

Vários autores citam que a mistura de mais fontes de origem vegetal, poderia melhorar o desempenho dos animais (FABREGAT, 2011). No entanto este fato não foi observado para a mistura de PCS, possivelmente devido a diferenças estruturais das fontes, assim como a constituição proteica e aminoacídica destes ingredientes, além de fatores antinutricionais como a maior quantidade de fibra, que aliados, podem ter causado um assincronismo na digestão proteica.

Outra hipótese que não se confirmou foi que a adição de taninos poderia retardar a digestão dos ingredientes de origem vegetal com digestão *in vitro* mais rápida, o que melhoraria o desempenho dos peixes. Ressalta-se a necessidade de mais estudos nesta área, que também deve explorar o sincronismo proteico aliado a combinações energéticas e frequência alimentar.

Conclusão

O desempenho dos animais não foi afetado pela combinação de fontes proteicas com distintas velocidades de digestão. O maior coeficiente de retenção de proteína na carcaça foi observado em animais arraçados com dieta que proporcionou curva de digestão *in vitro* mais estável. Ao contrário, a menor retenção de proteína e percentagem de gordura na carcaça foram observadas nos animais alimentados com dietas de maiores variações nestas curvas. A adição de tanino 1,5% piorou a digestibilidade das rações.

Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES pela concessão de bolsa de mestrado (Suziane Ghedini Martinelli) ao CNPq pela bolsa de produtividade em pesquisa (João Radünz Neto e Leila Picolli da Silva) e a empresa Giovelli pela doação do farelo de canola.

Este trabalho passou pela aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais- UFSM, número do protocolo 038/2012.

Referências Bibliográficas

- AMBARDEKAR, A. A.; REIGH, R. C.; WILLIAMS, M. B. Absorption of amino acids from intact dietary proteins and purified amino acid supplements follows different time-courses in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**, v. 291, p. 179–187, 2009.
- AOAC. (Association of Official Analytical Chemists). **Official Methods of Analysis of AOAC**, 16^a ed., Patricia Cunniff (editor), Washington, DC, 1995, 1141 p.
- BALDISSEROTTO, B.; RADÜNZ NETO, J. Jundiá (*Rhamdia quelen*). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Ed. UFSM, Santa Maria, 2005, 468 p.
- BALDISSEROTTO, B. Piscicultura continental no Rio Grande do Sul: situação atual, problemas e perspectivas para o futuro. **Ciência Rural**, v. 39, n. 1, p. 291-299, jan-fev, 2009.
- BERGAMIN, G. T.; MARTINELLI, S. G.; DELLA FLORA, M. A. L.; PEDRON, F. A.; SILVA, L. P.; RADÜNZ NETO, J. Fontes proteicas vegetais na alimentação da carpa húngara. **Ciência Rural**, v. 41, n. 9, p. 1660-1666, set, 2011.
- BLIGH, E. G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, p. 911-917, 1959.
- BOMBARDELI, R. A.; MEURER, F.; SYPERRECK, M. A. Metabolismo proteico em peixes. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoológicas**, UNIPAR, v. 7, n. 1, p. 69-79, jan/jun, 2003.
- BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Introdução à química de alimentos**. Ed. Fundação Cargill, São Paulo, 1985, p.306.
- BREMER NETO, H. **O método da s-difenilcarbazida na determinação espectrofotométrica do crômio (III) em fezes, após sua utilização como marcador biológico na forma de óxido de crômio (III)**: 1999, 53 f., Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu 1999.
- BREMER NETO, H.; GRANER, C. A. F.; PEZZATO, L. E.; PADOVANI, C. R.; CANTELMO, O. A. Diminuição do teor de óxido de crômio (III) usado como marcador externo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 2, Mar./Apr., 2003.
- COLDEBELLA, I. J.; RADÜNZ NETO, J. Farelo de soja na alimentação de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência Rural**, v. 32, n. 3, p. 499-503, 2002.

- CORTE, V. B. **Estudos histoquímicos, bioquímicos e fisiológicos em sementes de *Caesalpinia peltophoroides* Benth. durante a germinação e crescimento inicial das plântulas.** 2005, 79 f. Tese (doutorado em ciência florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil, 2005.
- DIAS, D. R.; ABREU, C. M. P.; SILVESTRE, M. P. C.; SCHWAN, R. F. In vitro digestibility of enzymatically pre-treated bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flour using commercial protease and bacillus sp. Protease. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 94-99, 2010.
- FABREGAT, T. E. H. P.; PEREIRA, T. S.; BOSCOLO, C. N.; ALVARADO, J. D.; FERNANDES, J. B. K. Substituição da farinha de peixe pelo farelo de soja em dietas para juvenis de curimba. **Boletim do Instituto da Pesca**, v. 37, n. 3, p. 289–294, 2011.
- FENNEMA, O. R. **Química de los alimentos.** Zaragoza, Ed. Acribia, 2000, 1258 p.
- FRACALOSSI, D. M., MEYER, G.; SANTAMARIA, F. M.; WEINGARTNER, M.; ZANIBONI FILHO, E. Desempenho do jundiá, *Rhamdia quelen*, e do dourado, *Salminus brasiliensis*, em viveiros de terra na região sul do Brasil, **Acta Scientiarum – Animal Science**, v. 26, n. 3, p. 345-352, 2004.
- FURUYA, W. M.; FURUYA, V. R. B. Nutritional innovations on amino acids supplementation in Nile tilapia diets. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p. 88-94, 2010.
- GALDIOLI, E. M.; HAYASHI, C.; SOARES, C. M.; FURUYA, W. M.; NAGAE, M. Y. Diferentes fontes proteicas na alimentação de alevinos de curimba (*Prochilodus lineatus* V.). **Acta Scientiarum**, v. 22, n. 2, p. 471-477, 2000.
- GRANER, C.A.F. **Determinação do crômio pelo método colorimétrico da S-difenilcarbazida.** 1972. Tese (Doutorado Ciências Médicas e Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1972.
- GURGEL, H. C. B.; ALBUQUERQUE, C. Q.; SOUZA, D. S. L.; BARBIERI, G. Aspectos da biologia pesqueira em fêmeas de *Cathrops spixii* do estuário do rio Potengi, Natal/RN, com ênfase nos índices biométricos. **Acta Scientiarum**, v. 22, n. 76 2, p. 503-505, 2000.
- HOSENEY, R. C.; ALONSO, M. G. **Principios de ciencia y tecnologia de los cereales.** Espanha, Ed. Acribia, 1999, p. 67- 85.
- LAZZARI, R.; RADÜNZ NETO, J.; PEDRON, F. A.; VEIVERBERG, C. A.; BERGAMIN, G. T.; LIMA, R. L.; EMANUELLI, T.; STEFFENS, C. Desempenho e composição dos filés de jundiás (*Rhamdia quelen*) submetidos a diferentes dietas na fase de recria. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 2, p. 477-484, 2008.
- LINDEN, G.; LORIENT, D. **Bioquímica industrial: relacion alimentaria de la produccion agrícola.** Zaragoza, Ed. Acribia, 1996, 428 p.
- NAVARRO, I., GUTIÉRREZ, J., 1995. Fasting and starvation. In: Hochachka, P.W., Mommsen, T. (Eds.), **Biochemistry and Molecular Biology of Fishes.** Elsevier Science B.V, p. 393–434.
- NEVES, V. A.; SILVA JR., S. I.; SILVA, M. A. isolamento da globulina majoritária, digestibilidade *in vivo* e *in vitro* das proteínas do tremoço-doce (*lupinus albus* l.), var. multolupa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 4, p. 832-840, out.-dez. 2006.

- PELEGRINI, P. B. **Peptídeos vegetais: novas ferramentas no controle de patógenos humanos e de plantas**. 2007, 220 f. Dissertação (Doutorado em Ciências Genômicas e Biotecnologia) - Universidade Católica de Brasília, Brasília, 2007.
- PINTO, L. G. Q; PEZZATO, L. E.; MIRANDA, E. C.; BARROS, M. M. Desempenho do piaçu (*Leporinus macrocephalus*) arraçoado com dietas contendo diferentes teores de tanino. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 4, p. 1164-1171, 2001.
- RADÜNZ NETO, J.; LAZZARI, R.; PEDRON, F. A.; VEIVERBERG, C. A.; BERGAMIN, G. T.; CORRÊIA, V.; FILIPETTO, J. E. S. Alimentação da piava (*Leporinus obtusidens*) com diferentes fontes proteicas. **Ciência Rural**, v. 36, n. 5, p. 1611-1616, set-out, 2006.
- SILVA, M. R.; SILVA, M. A. A. P. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 1, p. 5-19, 1999.
- SILVA, M. C. P.; LADEIRA, A. M.; GARCIA, D.; FURLAN, M. R. Isoflavona. **THESIS**, n. 12, p. 31-59, 2009.
- SOARES, C. M.; HAYASHI, C.; FARIA, A. C. E. A.; FURUYA, W. M. Substituição da proteína do farelo de soja pela proteína do farelo de canola em dietas para a tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) na Fase de Crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 4, p. 172-1177, 2001.
- 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, p. 146–158, 2008.
- VEIVERBERG, C. A.; BERGAMIN, G. T.; RADÜNZ NETO, J.; LAZZARI, R.; CORRÊIA, V.; ROSSATO, S.; SUTILI, F. J.; FERREIRA, C. C. Farelo de soja como substituto à farinha de carne e ossos em dietas para juvenis de carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*). **Boletim do Instituto da Pesca**, v. 34, n. 3, p. 463 - 472, 2008.
- VEIVERBERG, C. **Alimentos convencionais e não-convencionais na engorda e qualidade de pescado do jundiá (*Rhamdia quelen*)**. 2011. 91 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

Tabela 1. Composição das rações experimentais contendo fontes proteicas de distintas velocidades de digestão.

INGREDIENTES	Dietas ¹				
	PS	PC	PCS	PStan	PCStan
Farinha de Peixe	27	27,48	18,31	27	18,08
Farelo de Canola	-	46,9	31,26	-	30,86
Farelo de Soja	35	-	23,89	35	23,59
Milho	22	13,9	14,7	22	14,51
Óleo de Soja	8,3	8,2	8,34	8,3	8,23
Fosfato bicálcico	0,4	0,4	0,4	0,4	0,39
Sal	0,5	0,5	0,5	0,5	0,49
Premix vit. Min. ²	2,6	2,6	2,6	2,6	2,57
Extrato de tanino ³	-	-	-	1,72	1,28
Inerte ⁴	4,2	0,02	-	2,48	-
TOTAL	100	100	100	100	100
Valor energético e Composição Centesimal					
NUTRIENTES					
PB % ⁵	35,20	35,20	35,26	35,20	34,81
ED Kcal/Kg ⁶	3151	3150	3151	3151	3110
GORD % ⁷	12,10	13,38	12,58	12,10	12,42
MM % ⁸	8,65	9,53	7,82	8,65	7,73
FDN % ⁹	8,88	17,85	16,25	8,88	16,04
Ca % ¹⁰	1,48	1,77	1,42	1,48	1,02
P % ¹¹	1,00	1,15	0,96	1,00	0,94
CSDN % ¹²	18,62	14,64	17,04	18,62	16,82
Tanino %				1,49	1,48

¹PS: farinha de peixe e farelo de soja; PC: farinha de peixe e farelo de canola; PCS: farinha de peixe, farelo de soja e farelo de canola; PStan: farinha de peixe, farelo de soja e tanino; PCStan: farinha de peixe, farelo de soja, farelo de canola e tanino. ²Composição da mistura vitamínica e mineral (por kg do produto): Ác. ascórbico 1.500,12 mg, Ác. Fólico 299,88 mg, Ác. pantotênico 3.000,10 mg, Biotina 0,06mg, Cloro 2,30%, Cobalto 60, 06 mg, Cobre 1.000,00 mg, Colina 103.500 mg, Enxofre 0,01%, Ferro 6.416,80 mg, Inositol 9.999,92 mg, Iodo 45,36 mg, Magnésio 5,10%, Manganês 8.000,40 mg, Niacina 9.000,32 mg, Selênio 60,30mg, Vit. A 1.000.000 UI, Vit. B1 1.500,38 mg, Vit. B2 1.500 mg, Vit. B6 1.500,38 mg, Vit. D3 240.000 UI, Vit. E 10.000 mg, Vit. K3 400mg, Zinco 13.999,50mg. ³Extrato de tanino de *Acacia mearnsi*, ⁴Inerte: areia, ⁵PB: proteína bruta. ⁶ED: $[(\%PB \times 5,64 \times 0,83) + (\%gordura \times 9,44 \times 0,88) + (CSDN \times 4,11 \times 0,65)] \times 10$ (MEYER e FRACALOSSO, 2004). ⁷GORD: gordura. ⁸MM: material mineral. ⁹FDN: fibra em detergente neutro. ¹⁰Ca: Cálcio. ¹¹P: fósforo disponível. ¹²CSDN: carboidratos solúveis em detergente neutro (calculado por diferença entre o teor de matéria seca e as demais frações nutricionais).

Tabela 2. Parâmetros de desempenho zootécnicos e índices digestivos de juvenis de jundiá alimentados com dietas contendo fontes proteicas de distintas velocidades de digestão aos 60 dias de experimento.

Variáveis	TRATAMENTOS				
	PS	PC	PCS	PStan	PCStan
RC (%)	48,04±0,66	51,70±0,53	49,91±1,08	50,28±1,32	49,72±0,64
RF (%)	30,36±0,58	30,74±0,19	30,45±1,02	29,64±0,45	30,66±0,97
IDS (%)	3,19±0,11	3,66±0,13	3,51±0,21	3,89±0,36	3,62±0,17
QI	1,43±0,12	1,38±0,06	1,29±0,09	1,37±0,08	1,44±0,09
IHS (%)	1,47 ^a ±0,10	1,14 ^b ±0,05	1,27 ^{ab} ±0,11	1,28 ^{ab} ±0,04	1,35 ^{ab} ±0,07
IGV (%)	1,92±0,36	2,26±0,48	1,89±0,43	2,35±0,44	2,15±0,37
IGS (%)	5,78 ^a ±1,39	1,67 ^b ±0,41	3,84 ^{ab} ±1,12	2,90 ^{ab} ±1,35	3,10 ^{ab} ±0,59
PF (g)	77,70±1,21	66,68±1,83	68,47±6,90	73,95±1,51	66,48±4,22
CT (cm)	19,27±0,04	18,36±0,17	18,39±0,58	19,00±0,20	18,23±0,36
FC	1,08±0,01	1,07±0,00	1,09±0,02	1,07±0,02	1,09±0,00
TCE ¹	1,19±0,02	0,93±0,04	0,96±0,17	1,10±0,03	0,92±0,10
GPD ²	0,66±0,02	0,47±0,03	0,50±0,11	0,59±0,02	0,47±0,07
GPR (%)	104,51±3,14	75,49±4,90	80,30±18,16	94,62±3,89	74,93±11,11
CAA ³	1,89±0,03	2,48±0,17	2,59±0,54	2,05±0,04	2,66±0,42

PS: farinha de peixe e farelo de soja; PC: farinha de peixe e farelo de canola; PCS: farinha de peixe, farelo de canola e farelo de soja; PStan: farinha de peixe, farelo de soja e tanino; PCStan: farinha de peixe, farelo de canola, farelo de soja e tanino. RC: Rendimento de carcaça. RF: Rendimento de filé. IDS: Índice digestivo-somático. IHS: Índice hepato-somático. IGV: Índice de gordura visceral. IGS: Índice gonado-somático PF: peso final; CT: comprimento final; FC: fator de condição; ¹TCE: taxa de crescimento específico (%/dia); ²GPD: ganho de peso diário (g/dia); GPR: ganho de peso relativo; ³CAA: conversão alimentar aparente (Kg/Kg). Valores expressos ± erro padrão da média. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha são diferentes estatisticamente pelo teste de Duncan (P<0,05).

Tabela 3. Composição centesimal e índices de deposição de nutrientes no peixe inteiro e nos filés de jundiás alimentados com dietas contendo fontes proteicas de distintas velocidades de digestão aos 60 dias de experimento.

Peixe inteiro ²	Tratamentos ¹				
	PS	PC	PCS	PStan	PCStan
PB (%)	15,27±0,38	15,04±0,41	15,44±0,10	15,10±0,32	15,52±0,42
GOR (%)	8,49 ^{ab} ±0,68	5,63 ^b ±0,39	8,14 ^{ab} ±0,87	8,01 ^{ab} ±0,91	9,87 ^a ±0,83
MS (%)	29,20±0,94	26,72±0,55	29,12±1,22	28,75±1,23	22,96±0,40
MM (%)	3,24±0,35	3,30±0,19	3,45±0,16	3,42±0,13	3,15±0,21
DPC(mg/dia)	5,96±0,35	4,25±0,056	4,80±1,02	5,40±0,14	4,51±0,30
DGC(mg/dia)	3,50±0,93	0,65±0,33	2,62±1,33	2,82±0,36	3,55±1,31
CRP (%)	1,04 ^a ±0,14	0,71 ^b ±0,002	0,79 ^{ab} ±0,14	0,88 ^{ab} ±0,02	0,77 ^{ab} ±0,04
Filés²					
PB (%)	18,48±0,22	17,98±0,51	18,27±0,31	18,26±0,19	18,85±0,15
GOR (%)	3,03±0,43	2,30±0,26	3,00±0,42	2,74±0,47	3,64±0,36
MS (%)	22,00±0,22	22,30±0,23	22,33±0,29	22,19±0,32	22,96±0,40
MM (%)	1,61±0,03	1,21±0,03	1,15±0,02	1,15±0,03	3,15±0,21
DPF(mg/dia)	7,36±0,28	4,97±0,30	5,54±0,90	6,49±0,15	5,51±0,46
DGF(mg/dia)	1,35±0,35	0,51±0,16	1,09±0,35	1,01±0,35	1,09±0,18

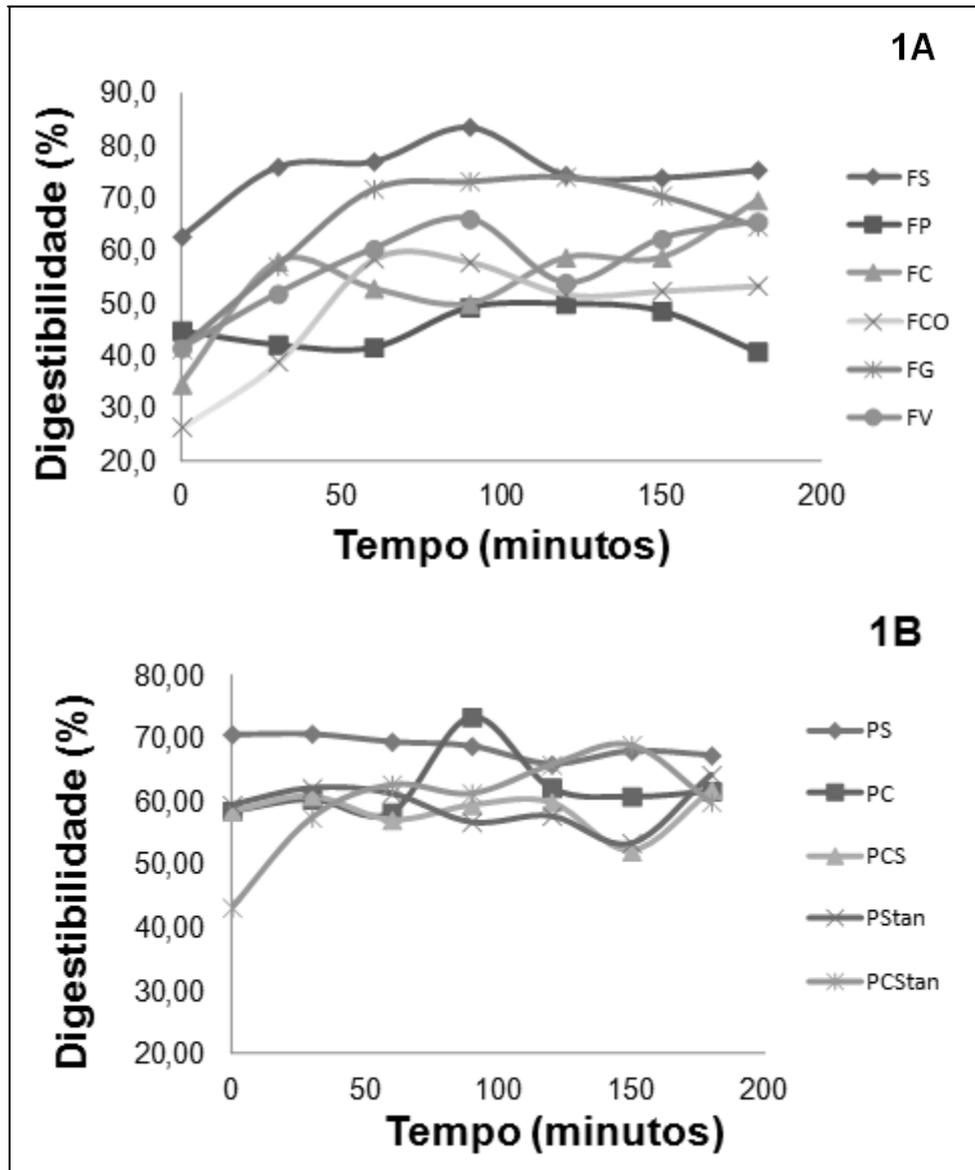
¹PS: farinha de peixe e farelo de soja; PC: farinha de peixe e farelo de canola; PCS: farinha de peixe, farelo de canola e farelo de soja; PStan: farinha de peixe, farelo de soja e tanino; PCStan: farinha de peixe, farelo de canola, farelo de soja e tanino. ²PB: proteína bruta; GOR: gordura; MS: matéria seca; MM: matéria mineral; DPC: Deposição de proteína na carcaça; DPF: Deposição de proteína no filé; DGC: Deposição de gordura na carcaça; DGF: Deposição de gordura no filé; CRP: Coeficiente de retenção de proteína. Valores expressos ± erro padrão da média. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha são diferentes estatisticamente pelo teste de Duncan (P<0,05).

Tabela 4. Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes das rações pelo jundiá.

CDA (%) ²	TRATAMENTOS ¹				
	PS	PC	PCS	PStan	PCStan
PB	84,59 ^a ±0,04	77,70 ^b ±2,56	75,07 ^{bc} ±1,20	71,62 ^c ±0,98	71,09 ^c ±0,49
MO	59,96 ^a ±1,91	42,17 ^b ±3,57	39,52 ^b ±3,95	41,85 ^b ±4,96	42,12 ^b ±1,17
MS	49,25 ^a ±2,22	35,86 ^b ±4,96	33,05 ^b ±4,34	32,85 ^b ±4,79	38,50 ^{ab} ±1,55
MM	76,77 ^a ±1,26	65,50 ^b ±1,73	63,89 ^b ±2,12	63,71 ^b ±4,05	65,65 ^b ±1,07

¹PS:farinha de peixe e farelo de soja; PC: farinha de peixe e farelo de canola; PCS: farinha de peixe, farelo de canola e farelo de soja; PStan: farinha de peixe, farelo de soja e tanino; PCStan: farinha de peixe, farelo de canola, farelo de soja e tanino. ²PB: proteína bruta; MO: matéria orgânica; MS: matéria seca e MM: matéria mineral. Valores expressos ± erro padrão da média. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha são diferentes estatisticamente pelo teste de Duncan (P<0,05).

Figura 1. A: Digestibilidade *in vitro* em função de tempo dos ingredientes proteicos testados: farinha de peixe (FP), farelo de soja (FS), farelo de canola (FC), farinha de carne e ossos suína (FCO), farelo de girassol (FG) e farinha de vísceras de aves (FV). B: Digestibilidade *in vitro* das rações testadas: PS: farinha de peixe e farelo de soja; PC: farinha de peixe e farelo de canola; PCS: farinha de peixe, farelo de canola e farelo de soja; PStan: farinha de peixe, farelo de soja e tanino; PCStan: farinha de peixe, farelo de canola, farelo de soja e tanino.



3. ARTIGO 2

Sincronismo proteico e influência no metabolismo de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*)

Synchronism and influence protein metabolism of juvenile silver catfish (*Rhamdia quelen*)

Suziane Ghedini Martinelli, Leila Picolli da Silva, Alexandra Pretto, Suzete Rossato, Daniel Maschio, Viviani Corrêa, Silvano Tonetto de Freitas, Rodrigo Stochero Teixeira

Resumo - O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de dietas com diferentes velocidades de digestão proteica sobre parâmetros metabólicos, curva glicêmica e proteica de jundiás. Adicionalmente, foi avaliado o efeito da adição de tanino, sobre a dinâmica digestiva e metabólica dos animais. Foram utilizados 375 juvenis de jundiá (peso inicial 38 ± 3 g), distribuídos em 15 unidades experimentais. Os tratamentos testados foram PS (farinha de peixe e farelo de soja), PC (farinha de peixe e farelo de canola), PCS (farinha de peixe, farelo de canola e farelo de soja), PStan e PCStan (com adição de tanino). Ao final do experimento os animais foram pesados, sendo selecionados dois animais por caixa para coleta de sangue (punção da veia caudal), fígado e trato digestório para análise de enzimas. As curvas glicêmica e proteica foram realizadas com 39 peixes de cada tratamento. O sangue de cada peixe foi coletado antes do arraçoamento e de hora em hora após o fornecimento das rações experimentais (2,5% peso vivo), totalizando 12 pontos de análise. Observou-se que a dieta PS teve curva glicêmica e proteica com maior estabilidade, em relação às demais dietas, mostrando suprimento de nutrientes mais estável, o que refletiu no peso final dos animais, aliado a este fato os maiores teores de albumina no sangue, demonstram a qualidade nutricional desta dieta. Os jundiás do tratamento PCStan apresentaram menores valores de proteína sanguínea e maiores valores de albumina, tendo também níveis de glicose mais elevados ao longo das coletas da curva glicêmica, com maiores dificuldades para manutenção destes níveis. Para as demais análises (fígado e trato digestório), não foram observadas diferenças significativas. Pode-se concluir que o tratamento PS obteve curva glicêmica e proteica mais estável e maior concentração de albumina no plasma. A adição de tanino provocou alterações sanguíneas e elevação da glicose nos animais.

Palavras chave: Digestibilidade, Peixes, Fontes proteicas.

Abstract - The objective of this study was to evaluate the effect of diets with different speeds of protein digestion on metabolic parameters, glucose curve and protein silver catfish. We also evaluated the effect of adding tannin on the digestive and metabolic dynamics of animals. We used 375 juvenile silver catfish (initial weight $38 \text{ g} \pm 3\text{g}$), over water recirculation circuit, consisting of 15 experimental units. The treatments were PS (fishmeal and soybean meal), PC (fish meal and canola meal), PCS (fish meal, canola meal and soybean meal), PStan and PCStan (with added tannin). At the end of the experiment the animals were weighed, and selected two animals per box for blood (caudal vein puncture) and analysis of enzyme

activity in liver and digestive tract. The glucose and protein curves were made with 39 fishes of each treatment. The blood was collected from each fish before feeding and every hour after delivery of the experimental diets (2.5% weight), totaling 12 of points of analyses. It was observed that the PS diet had glucose curve and protein with greater stability, compared to other diets, showing more stable supply of nutrients, which resulted in the final weight of the animals. This fact combined with the highest levels of albumin in the blood demonstrate the nutritional quality of the diet. The silver catfishes PCStan treatment had lower levels of blood protein and higher values of albumin, glucose levels and also higher along the collections of the glucose curve, with greater difficulties in maintaining these levels for the remaining analyzes (liver and digestive tract) no significant differences were observed. It can be concluded that treatment PS glucose curve was obtained and protein more stable and higher albumin concentration in plasma. The addition of tannin caused changes and elevation of blood glucose in the animals.

Key words: Keywords: Digestibility, Fishes, Protein sources.

Introdução

Na aquicultura busca-se utilizar dietas com fontes proteicas de origem vegetal, em substituição a farinha de peixe, devido ao seu custo e a sua baixa disponibilidade no mercado (EL-SAYED, 1998). Dentre estas fontes, grande destaque tem se dado ao farelo de soja, devido ao seu valor proteico e a boa disponibilidade no mercado (GALDIOLI, et al., 2001; FURUYA, 2010). Vários trabalhos demonstraram a boa aceitação deste ingrediente para a alimentação de peixes (COLDEBELLA; RADÜNZ NETO, 2002; LAZZARI et al., 2008; KAUSHIK et al., 1995). Outro ingrediente que vem ganhando destaque é o farelo de canola, por possuir perfil de aminoácidos semelhante ao do farelo de soja (MOREIRA et al., 1996), mas com níveis mais baixos de lisina (2,03%) e mais elevados de metionina (0,79%) e cistina (1,64%) (SOARES et al., 2000).

Para melhorar o aproveitamento dos nutrientes, são testadas continuamente misturas de ingredientes, muitas vezes com resultados contraditórios, uma vez que as diferenças nos respectivos tempos de digestão e absorção intrínsecos da natureza da fonte podem gerar tanto efeitos sinérgicos como antagônicos ao desempenho dos animais (KAUSHIK; SEILIZ, 2010). Outra alternativa é a utilização de produtos que retardem a digestão de ingredientes de rápida disponibilidade de nutrientes, a fim de aumentar o tempo pós prandial. Neste cenário, o tanino surge como uma possibilidade a ser explorada, uma vez que vem sendo testado na alimentação de animais ruminantes para melhorar o aproveitamento de N no intestino delgado (KOZLOSKI et al., 2012), mas ainda não foi testado com o objetivo de retardar a digestão na nutrição de peixes.

Na nutrição de peixes é sabido que a utilização de aminoácidos sintéticos muitas vezes não reflete em resultados satisfatórios devido à diferença em sua velocidade digestiva e absorptiva quando comparado a fontes proteicas convencionais (AMBARDEKAR et al. 2009; SCHUMACHER et al, 1997). Porém, são poucos os estudos abordando as diferenças de dinâmica de digestão proteica com ingredientes de origem vegetal e animal, convencionalmente utilizados nas formulações de dietas comerciais.

Neste contexto, o presente trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar o efeito da aplicação de dietas com diferentes velocidades de digestão proteica sobre parâmetros metabólicos, curva glicêmica e curva de absorção proteica de jundiás. Adicionalmente, foi avaliado o efeito da adição de tanino nas dietas experimentais, sobre a dinâmica digestiva e metabólica dos animais.

Material e Métodos

1. Digestibilidade *in vitro*

As análises de digestibilidade *in vitro* dos ingredientes proteicos unitários e das combinações foram realizadas conforme Dias et al. (2010). As amostras foram incubadas com pepsina em solução de HCL 0,1 N, em banho de 37°C sob agitação constante por uma hora. Após esse período o pH das amostras foi ajustado para 7 com adição de NaOH 0,4 N, adicionado enzima pancreatina e levadas novamente ao banho com agitação por um período de três horas. Uma alíquota de 2ml da solução digerida foi retirada a cada meia hora, com o intuito de determinar a dinâmica digestiva de cada ingrediente testado. O restante das amostras foram centrifugadas (10.000rpm por 10min.), retirada outra alíquota de 2ml e realizada digestão da proteína por microKjeldhal.

2. Tratamentos

A partir da determinação da velocidade de digestão da farinha de peixe (lenta velocidade de digestão), do farelo de canola (média velocidade de digestão) e do farelo de soja (rápida velocidade de digestão), as fontes foram combinadas a fim de obter os seguintes tratamentos: PS (50% do aporte proteico advindo da farinha de peixe e 50% do farelo de soja); PC (50% do aporte proteico advindo da farinha de peixe e 50% do farelo de canola) e PCS, composta por farinha de peixe, farelo de soja e de canola (33% do aporte proteico advindo de cada ingrediente), percentagens excetuando-se o valor proteico advindo do milho.

Neste ensaio também foi avaliado o efeito da adição de 1,5% de tanino na dinâmica de digestão e aproveitamento dos nutrientes, sendo adicionado extrato de *Acacia mearnsii* (Weibull Black, Tanac SA, Montenegro, Brasil, tendo 720 g/ kg de taninos totais) nas rações PS e PCS, que passaram a ser denominadas PStan e PCStan. Os tratamentos foram formados por dietas isonutritivas (Tabela 1).

3. Ensaio biológico com animais

O experimento foi realizado no Laboratório de Piscicultura da Universidade Federal de Santa Maria (RS), usando sistema de recirculação de água, com dois filtros biológicos e um reservatório de água (2000L). O circuito contava com quinze unidades experimentais, com volume útil de 280L, entrada e saída de água individual em cada unidade. Foram utilizados 375 juvenis de jundiá, com peso inicial de 38 ± 3 g, sendo distribuídos 25 peixes por unidade experimental, sendo cinco tratamentos e três repetições. Os animais passaram por período de adaptação de sete dias antes do início do experimento, tendo início em fevereiro e término em abril de 2012, com duração de 60 dias.

Os animais foram alimentados duas vezes ao dia (09:00 e 17:00), considerando o fornecimento de 2,5% de ração sobre o peso vivo, sendo os valores ajustados a cada 15 dias. Antes das alimentações foram realizadas sifonagens nas unidades experimentais (08:00 e 15:30), com o intuito de retirar as fezes e as eventuais sobras de ração e manter satisfatória a qualidade da água.

4. Análises

Ao final do experimento foram realizadas pesagem de todos os animais e coleta de sangue (punção na veia caudal com agulha heparinizada), de dois animais por unidade experimental. Posteriormente a coleta de sangue, estes animais foram abatidos por overdose de anestésico (benzocaína 250mg/L), para posterior coleta de fígado e trato gastrointestinal.

O sangue foi centrifugado (3200rpm, por 10min.), sendo coletado o plasma para análise de proteínas totais circulantes, glicose, triglicerídeos totais, colesterol total e albumina, todas as análises feitas com kit colorimétrico da marca Doles[®], sendo ainda realizada análise de aminoácidos livres (SPIES, 1957).

No fígado foram realizadas análises de glicose (PARK; JONSON, 1994), glicogênio (BIDINOTTO et al., 1998), proteína (BRADFORD, 1976), amônia (VENDROUW et al., 1977), alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST), por kit colorimétrico da marca Doles[®] e aminoácidos livres (SPIES, 1957).

No estômago foram analisados teor proteico (BRADFORD, 1976) e atividade de protease ácida pelo método de hidrólise da caseína modificado por HIDALGO et al. (1999). As enzimas digestivas intestinais analisadas foram tripsina, quimotripsina (HUMMEL, 1959) e lipase (GAWLICKA et al., 2000).

5. Curva glicêmica e proteica

As curvas glicêmica e proteica foram realizadas com 39 unidades experimentais (peixes) de cada tratamento. O sangue de cada peixe foi coletado antes do arraçoamento e de hora em hora após o fornecimento das rações experimentais (2,5% peso vivo), totalizando 12 pontos de análise. As coletas foram realizadas por punção na veia caudal, com agulha heparinizada. A glicose foi mensurada com aparelho digital Accu-Check Active[®] e o restante do sangue foi centrifugado (3200rpm por 10min.) e coletado o plasma para análise de proteína (BRADFORD, 1976).

6. Análise da água

Diariamente foi verificada a temperatura da água e oxigênio (oxímetro digital, modelo 550A-YSI). Semanalmente foram avaliados os demais parâmetros pH, alcalinidade, dureza, amônia e nitrito, todos com auxílio de kit colorimétrico da marca Alfakit. Os parâmetros de qualidade da água mantiveram-se dentro dos padrões para a criação da espécie durante o período experimental, segundo Baldisserotto; Radünz Neto, (2005). A média de temperatura ficou em $25,5 \pm 1,7$ °C, o oxigênio apresentou valor de $5,11 \pm 0,7$ mg/L, pH $7,16 \pm 0,2$, alcalinidade $41 \pm 9,8$ mgCaCO₃/L, dureza $24,04 \pm 25,6$ mgCaCO₃/L, amônia total $0,37 \pm 0,2$ ppm e nitrito $0,11 \pm 0,1$ ppm.

7. Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado no trabalho foi o inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e três repetições. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade, seguido de análise de variância e teste F. As médias foram comparadas pelo teste de Duncan em nível de 5% de probabilidade, utilizando o pacote estatístico SAS 9.2.

Resultados e Discussão

O tratamento contendo farinha de peixe e farelo de soja como fontes proteicas proporcionou menor variação nas curvas glicêmica e proteica ao longo do tempo pós prandial (Figura 1), indicando fornecimento mais estável de nutrientes advindos da dieta e melhor sincronismo nutricional na combinação destas duas fontes. Esta resposta metabólica se refletiu positivamente no peso final dos animais, porém sem diferir estatisticamente dos demais tratamentos (Figura 2). Os valores mais elevados de albumina sanguínea (Tabela 2) nos peixes submetidos ao tratamento PS também é indicativo de melhor qualidade nutricional desta dieta, (BACILA, 2003).

Nos animais submetidos ao tratamento PC não foram observadas variações expressivas na curva glicêmica. No entanto, a curva proteica teve queda drástica a partir de 4 horas após alimentação, demonstrando assincronismo entre as fontes proteicas, e necessidade de mobilização de reservas para manter os níveis energéticos e proteicos estáveis. Esta diferença pode ser atribuída à organização química (estrutura tridimensional e tipos de ligações que as unem) e a prevalência de grupos proteicos diferenciados nas distintas fontes, que possuem diferente sequenciamento de aminoácidos (BOBBIO; BOBBIO, 1985; HOSENEY; ALONSO, 1999; GALDIOLI et al., 2000). Este descompasso digestivo-metabólico se refletiu no peso final dos jundiás, menores para o tratamento PC (66,68 g). Os animais submetidos ao tratamento PCS demonstraram curva proteica relativamente estável, porém com picos glicêmicos intensos a partir de 5 horas de coleta.

Nas dietas com adição de taninos os níveis de glicose plasmática foram maiores quando comparados aos demais tratamentos, decrescendo antecipadamente entre 7 e 8 horas após alimentação. Esta observação, aliada aos maiores valores de albumina sanguínea e menores valores de proteínas nos animais submetidos ao tratamento PCStan, podem ser um indicativo que os peixes estavam em situação de estresse, pois Falcon (2007) relata que em casos de estresse e de inflamações a quantidade de albumina e globulinas pode variar, sendo os menores valores de globulinas relacionados a menor resistência a situações adversas. Em estudos avaliando cortisol, Van Der Boon, Van Der Thillart e Adalink (1991) indicam que quando há saturação da capacidade de ligação à alfa-globulina ocorre ligação inespecífica do cortisol com a albumina, elevando os valores destes dois indicadores. Mais um indicativo é o fato dos animais deste tratamento apresentarem menor peso final, 66,48 g (Figura 2), demonstrando que a maior concentração de albumina neste tratamento, não estaria indicando melhor qualidade da dieta.

Para os demais parâmetros sanguíneos analisados, não foram detectadas diferenças entre os tratamentos (Tabela 2). Os valores de glicose e albumina encontrados no presente trabalho foram menores que os encontrados por HIGUCHI et al. (2011) testando dietas com diferentes níveis de proteína e energia para jundiá.

Os parâmetros hepáticos podem ser usados como ferramenta para avaliar a condição fisiológica e nutricional dos animais (ALMEIDA et al., 2011). Segundo Tirapegui; Rogero (2007), estudos com animais mostraram que durante um curto período de jejum ocorre diminuição de proteína hepática, mas não muscular. No presente estudo não constatou-se diferença para proteína hepática entre os tratamentos (Tabela 3). Também não foi verificada diferença quanto à concentração de amônia e aminoácidos no fígado. Em altas

concentrações, os aminoácidos podem ser indicativos de mobilização de reservas, pois segundo Tirapegui; Rogero, (2007) quando o animal está em jejum passa a utilizá-los para a manutenção da glicemia. Van Waarde et al. (1983) relatam que o aumento do catabolismo proteico aumenta os níveis de amônia no plasma.

No catabolismo dos aminoácidos ocorre transferência do grupo α -amino do aminoácido pela transaminação, sendo uma reação catalisada, por enzimas aminotransferases, em especial a ALT (alanina-aminotransferase) e a AST (aspartato-aminotransferase) (TIRAPEGUI; ROGERO, 2007). No presente trabalho não houve diferença nestas enzimas. Melo (2004) destaca que o aumento da sua atividade esta associada à síntese proteica ou à utilização da proteína como fonte de energia para o organismo.

Para glicogênio hepático não foi detectada diferença, sendo os valores deste trabalho relativamente maiores que os encontrados por Veiverberg, (2011), trabalhando com misturas de fontes proteicas de origem animal e vegetal (média 2,89 mmol). Segundo BARCELLOS et al. (2010) quando o glicogênio, é exigido para a manutenção da glicemia, sua quebra e transporte para tecidos extra-hepáticos, se dá na forma de glicose, sendo que sua depleção ocorre continuamente a partir do início do jejum. Pode-se supor que os animais ainda não estavam utilizando suas reservas proteicas para produção de energia, pois ainda tinham reservas de glicogênio no fígado, a glicose e a proteína estavam elevadas e aliado a estes dados as quantidades de amônia e aminoácidos encontravam-se baixos.

No tratamento PCStan pode-se notar uma tendência, mesmo sem diferenças significativas, a maiores níveis de amônia e aminoácidos no fígado, demonstrando que nesta dieta os animais estariam iniciando a mobilização de reservas, o que se confirma na curva glicêmica (Figura 2), onde foi possível perceber a dificuldade de manutenção dos níveis de glicose a partir de 7 horas após alimentação.

A atividade das enzimas digestivas pode inferir sobre a adaptação dos animais à dieta. A protease ácida, a qual é a mais comum enzima proteolítica do estômago de peixes (BALDISSEROTTO, 2009) não apresentou diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 4). LAZZARI et al.(2010), trabalhando com diferentes fontes proteicas para o jundiá encontrou menores valores desta enzima em dieta composta por farinha de peixe e farelo de soja (35 μ g tirosina/minuto/mg de proteína).

Melo (2004), trabalhando com diferentes níveis de proteína na dieta de jundiás (20, 27, 34 e 41% de proteína bruta), constatou que a atividade da enzima protease ácida teve aumento com a elevação do nível de proteína na dieta. Como neste trabalho o nível proteico foi o mesmo para todas as dietas, não houve diferenças nos teores desta enzima entre os tratamentos testados.

Os tratamentos também não influenciaram significativamente os valores de tripsina, quimotripsina e lipase, as quais não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. Melo (2004) destaca que para jundiá existe uma atividade máxima de tripsina e quimotripsina para o nível de 34% de proteína. Já para lipase o mesmo autor cita que quanto mais elevado o nível de proteína menor a atividade desta enzima.

Pode-se supor que os animais estavam bem adaptados às dietas, pois a atividade das enzimas digestivas não foi alterada pelos tratamentos. Isto fica evidente, pois em vários trabalhos com farelo de soja e canola, foram verificadas diminuições na atividade de enzimas digestivas como a pepsina e tripsina com o aumento da adição destas fontes (SANTIGOSA et al., 2008; CHENG et al., 2010).

As curvas glicêmica e proteica obtidas no presente trabalho demonstraram diferenças quanto ao aproveitamento das dietas isonutritivas formuladas com fontes proteicas de distintas velocidades de digestão. Este fato demonstra a necessidade de conduzir mais estudos sobre o assunto a fim de obter resultados norteadores para otimizar o desempenho animal, com vistas a melhor qualidade de pescado e menor impacto ambiental.

Conclusão

Os animais alimentados com o tratamento contendo farinha de peixe e farelo de soja como fontes de proteína apresentaram curvas glicêmica e proteica mais estável, aliadas à maior concentração de albumina sanguínea. As enzimas digestivas, assim como os parâmetros hepáticos não foram alterados nos diferentes tratamentos. A adição de taninos provocou elevação da glicose e alterações sanguíneas na proteína e albumina plasmática.

AGRADECIMENTOS

A CAPES pela concessão de bolsa de mestrado (Suziane Ghedini Martinelli). Ao CNPq pela bolsa de apoio a produtividade (João Radünz Neto e Leila Picolli da Silva). À Giovelli pela doação do farelo de canola.

Este trabalho passou pela aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais- UFSM, número do protocolo 038/2012.

Referências Bibliográficas

- ALMEIDA, L. C.; AVILEZ, I. M.; HONORATO, C. A.; HORI, T. S. F.; MORAES, G. Growth and metabolic responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed different levels of protein and lipid. **Aquaculture Nutrition**, v 17, p. 253-262, 2011.
- AMBARDEKAR, A. A.; REIGH, R. C.; WILLIAMS, M. B. Absorption of amino acids from intact dietary proteins and purified amino acid supplements follows different time-courses in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**, v. 291, p.179–187, 2009.
- BACILA, M. **Bioquímica Veterinária**. São Paulo, Ed. RobeEditorial, 2003, p. 425-426.
- BALDISSEROTTO, B.; RADÜNZ NETO, J. Jundiá (*Rhamdia quelen*). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria, Ed. UFSM, 2005, 468 p.
- BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Santa Maria, Ed. UFSM, 2009, 352 p.
- BARCELLOS, L. J. G.; MARQUEZE, A.; TRAPP, M.; QUEVEDO, R. M.; FERREIRA, D. The effects of fasting on cortisol, blood glucose and liver and muscle glycogen in adult jundiá *Rhamdia quelen*. **Aquaculture**, v. 300, p. 231–236, 2010.
- BIDINOTTO, P. M.; MORAES, G.; SOUZA, R. H. S. Hepatic glycogen and glucose in eight tropical freshwater teleost fish: A procedure for field determinations of micro samples. **Boletim Técnico CEPTA**, v. 10, p.53-60, 1998.

- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.
- CHENG, Z.; AI, Q.; MAI, K.; XU, W.; MA, H.; LI, Y.; ZHANG, J. Effects of dietary canola meal on growth performance, digestion and metabolism of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. **Aquaculture**, v 305, p. 102-108, 2010.
- BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Introdução à química de alimentos**. São Paulo, Ed. Fundação Cargill, 1985, 306 p.
- COLDEBELLA, I. J.; RADÜNZ NETO, J. Farelo de soja na alimentação de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência Rural**, v. 32, n. 3, p. 499-503, 2002.
- DIAS, D. R.; ABREU, C. M. P.; SILVESTRE, M. P. C.; SCHWAN, R. F. In vitro digestibility of enzymatically pre-treated bean (*Phaseolus vulgaris L.*) flour using commercial protease and bacillus sp. Protease. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 94-99, 2010.
- EL-SAYED, A. F. M. Total replacement of fish meal with animal protein sources in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus (L.)*, feeds. **Aquaculture Research**, v. 29, p. 275–280, 1998.
- FALCON, D. R. **β -glucano e vitamina C no desempenho produtivo e parâmetros fisiopatológicos em juvenil de tilápia do Nilo: nível de suplementação e tempo de administração**. 2007, 158 f. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.
- FURUYA, W. M. **Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias**. Toledo, Ed. Grafia & Editora, 2010, 100p.
- GALDIOLI, E. M.; HAYASHI, C.; FARIA, A. C. E. A.; SOARES, C. M. Substituição parcial e total da proteína do farelo de soja pela proteína dos farelos de canola e algodão em dietas para alevinos de piavuçu, *Leporinus macrocephalus* (Garavello & Britski, 1988). **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 4, p. 841-847, 2000.
- GALDIOLI, E. M.; HAYASHI, C.; SOARES, C. M.; FURUYA, V. R. B.; FARIA, A. C. E. A. Substituição da proteína do farelo de soja pela proteína do farelo de canola em rações para alevinos de curimatá (*Prochilodus lineatus V.*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 2, p. 552-559, 2002.
- GAWLICKA, A.; PARENT, B.; HORN, M. H.; ROSS, N.; OPSTAD, I.; TORRISSEN, O. J. Activity of digestive enzymes in yolk-sac larvae of Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*: Indication of readiness for first feeding. **Aquaculture**, v. 184, p.303–314, 2000.
- HIDALGO, M.C.; UREA, E.; SANZ, A. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities. **Aquaculture**, v. 170, p. 267-283, 1999.
- HIGUCHI, L. H.; FEIDEN, A.; MALUF, M. L. F.; DALLAGNOL, J. M.; ZAMINHAN, M.; BOSCOLO, W. R. Avaliação eritrocitária e bioquímica de jundiás (*Rhamdia quelen*) submetidos à dieta com diferentes níveis proteicos e energéticos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 12, n. 1, p. 70-75, jan./mar. 2011.
- HOSENEY, R. C.; ALONSO, M. G. Proteína de lós cereales. ed. Acribia, Espanha, p. 67- 85 1999.
- HUMMEL, B.C.W. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin and thrombin. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 12, p. 1393-1399, 1959.
- KAUSHIK, S. J.; CRTAVEDI, J.P.; LALLES, J. P.; SUMPTER, J.; FAUCONNEAU, B.; LAROCHE, M. Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential

- estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**, v. 133, p. 257–274, 1995.
- KAUSHIK, S. J.; SEILIEZ, I. Review article: Protein and amino acid nutrition and metabolism in fish: current knowledge and future needs. **Aquaculture Research**, v. 41, p. 322-332, 2010.
- KOZLOSKI, G. V.; HÄRTER C. J.; HENTZ, F.; ÁVILA, S. C.; ORLANDI, T.; STEFANELLO, C. Intake, digestibility and nutrients supply to wethers fed ryegrass and intraruminally infused with levels of *Acacia mearnsii* tannin extract. **Small Ruminant Research**, v. 106, p. 125–130, 2012.
- LAZZARI, R.; RADÜNZ NETO, J.; PEDRON, F. A.; VEIVERBERG, C. A.; BERGAMIN, G. T.; LIMA, R. L.; EMANUELLI, T.; STEFFENS, C. Desempenho e composição dos filés de jundiás (*Rhamdia quelen*) submetidos a diferentes dietas na fase de recria. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 2, p. 477-484, 2008.
- LAZZARI, R.; RADÜNZ NETO, J.; PEDRON, F. A.; LORO, V. L.; PRETTO, A.; GIODA, C. R. Protein sources and digestive enzyme activities in jundiá (*Rhamdia quelen*). **Scientia Agricola**, v. 67, n. 3, p. 259-266, May/June 2010.
- MELO, J. F. B. **Digestão e metabolismo de jundiá *Rhamdia quelen* submetido a diferentes regimes alimentares**. 2004. 95 f. Tese (Doutorado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2004.
- MEYER, G.; FRACALOSSI, D. M.; MAUDE, R. B. A. Importância da qualidade de energia na ração de peixes. **Panorama da Aquicultura**. v. 14, n. 83, 2004.
- MOREIRA, I.; MARANGONI, I.; FURLAN, A.C. et al. Utilização do farelo de canola na alimentação de suínos na fase total de crescimento e terminação (61-141 dias). **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 25, n. 4, p. 697-712, 1996.
- PARK, J.T., JOHNSON, M.J., A submicro determination of glucose. **Journal of Biologic Chemistry**. v. 181, p. 149-151. 1994.
- SANTIGOSA, E.; SÁNCHEZ, J.; MÉDALE, F.; KAUSHIK, S.; PÉREZ-SÁNCHEZ, J.; GALLARDO, M. A. Modifications of digestive enzymes in trout (*Oncorhynchus mykiss*) and sea bream (*Sparus aurata*) in response to dietary fish meal replacement by plant protein sources. **Aquaculture**, v. 282, p. 68-74, 2008.
- SCHUMACHER, A.; WAX, C.; GROPP, J. Plasma amino acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed intact protein or a crystalline amino acid diet. **Aquaculture**, v. 151, p. 15 – 28, 1997.
- SOARES, C. M.; HAYASHI, C.; FURUYA, V. R. B.; FURUYA, W. M.; GALDIOLI, E. M. Farelo de canola na alimentação de alevinos de carpa-capim (*Ctenopharyngodon idella* V.). **Acta Scientiarum**, v. 20, n. 3, p. 395-400, 1998.
- SOARES, C. M.; HAYASHI, C.; FURUYA, V. R. B.; FURUYA, W. M.; GALDIOLI, E. M. Substituição Parcial e Total da Proteína do Farelo de Soja pela Proteína do Farelo de Canola na Alimentação de Alevinos de Piavuçu (*Leporinus macrocephalus*, L.). **Revista brasileira de zootecnia**, v. 29, n. 1, p. 15-22, 2000.
- SPIES, J.R. Colorimetric procedures for amino acids. **Methods in Enzymology**, v. 3, p. 467-477, 1957.

TIRAPEGUI, J.; ROGERO, M. M. Metabolismo de Proteínas. In: **Fisiologia da Nutrição Humana. Aspectos Básicos, Aplicados e Funcionais**. DE ANGELIS, R. C.; TIRAPEGUI, J., São Paulo, Ed. Atheneu, 2007, p. 69-109.

VAN WAARDE, A.; VAN DEN THILLART, G.; KESBEKE, F. Anaerobic energy metabolism of the European eel, *Anguilla Anguilla* L. J. Comp. **Biochemical Physiology**, v.149, p. 469-475, 1983.

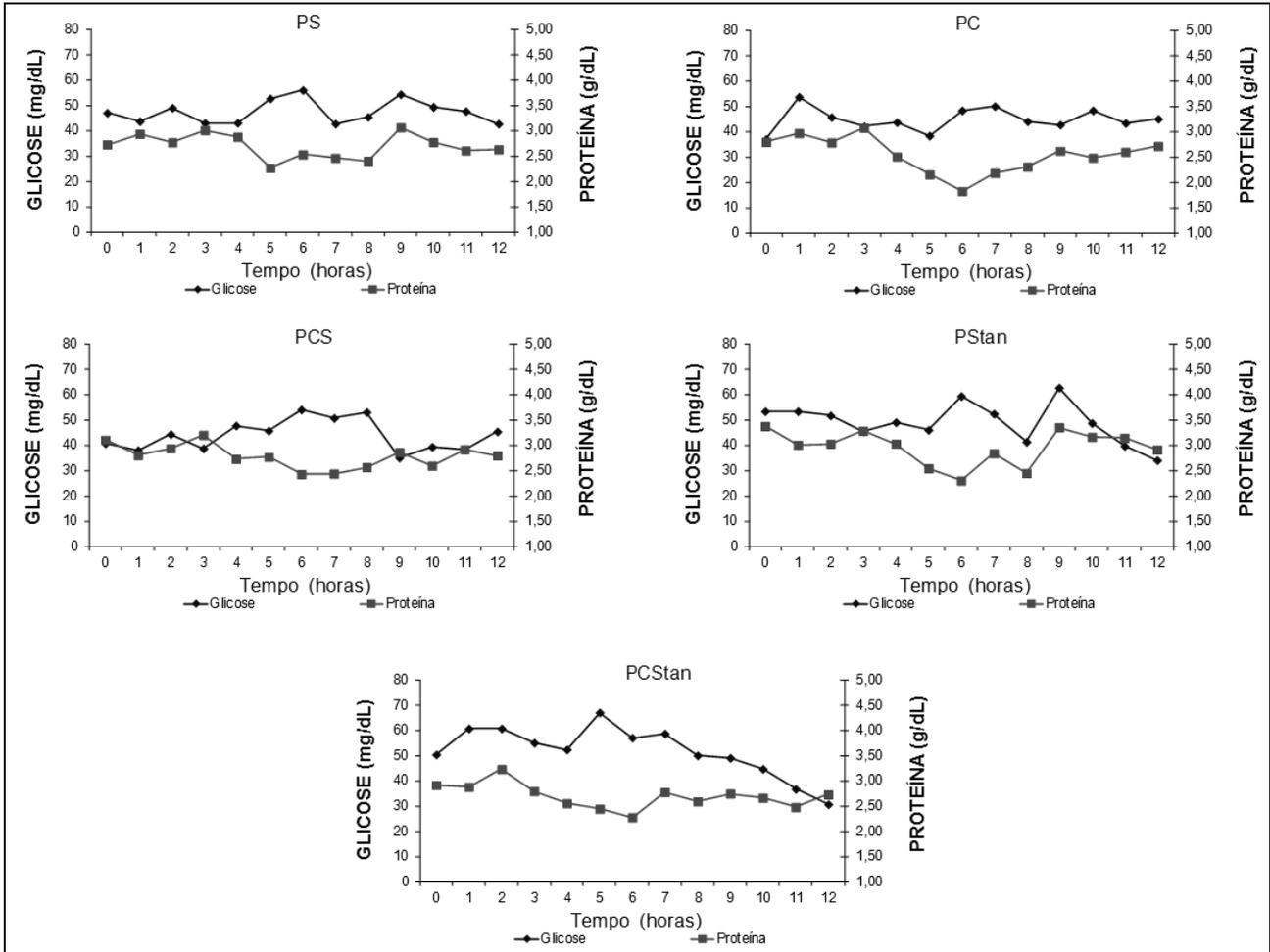
VENDROUW, H.; VAN ECHELD, C. J. A.; DEKKERS, E. M. J. Ammonia determination based on indophenols formation with sodium salicylate. **Water Research**, v. 12, p. 399-402, 1977.

VEIVERBERG, C. **Alimentos convencionais e não-convencionais na engorda e qualidade de pescado do jundiá (*Rhamdia quelen*)**. 2011. 91 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

Legendas das figuras:

Figura 1. Curva glicêmica e proteica, de juvenis de jundiá alimentados com dietas contendo fontes proteicas de distintas velocidades de digestão. PS: farinha de peixe e farelo de soja, PC: farinha de peixe e farelo de canola, PCS: farinha de peixe, farelo de canola e farelo de soja, PStan: farinha de peixe, farelo de soja e tanino e PCStan: farinha de peixe, farelo de canola, farelo de soja e tanino. Gli= glicose.

Figura 2: Peso final dos jundiás alimentados com dietas contendo fontes proteicas de distintas velocidades de digestão aos 60 dias experimentais. PS: farinha de peixe e farelo de soja; PC: farinha de peixe e farelo de canola; PCS: farinha de peixe, farelo de canola e farelo de soja; PStan: farinha de peixe, farelo de soja e tanino; PCStan: farinha de peixe, farelo de canola, farelo de soja e tanino. Valores expressos \pm erro padrão da média.



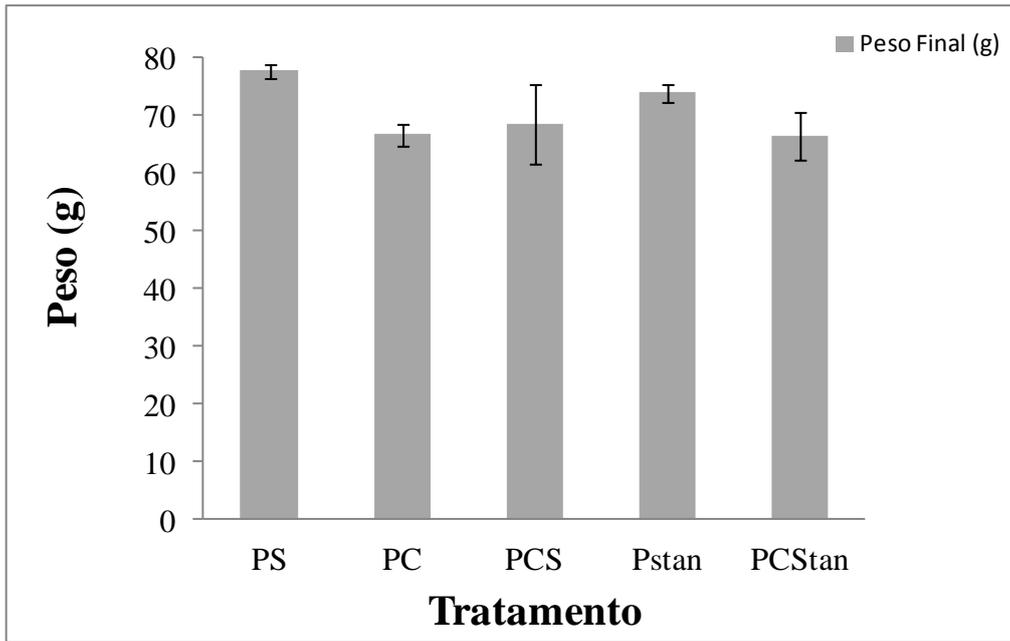


Tabela 1. Composição das rações experimentais contendo fontes proteicas de distintas velocidades de digestão.

INGREDIENTES	Dietas ¹				
	PS	PC	PCS	PStan	PCStan
Farinha de Peixe	27	27,48	18,31	27	18,08
Farelo de Canola	-	46,9	31,26	-	30,86
Farelo de Soja	35	-	23,89	35	23,59
Milho	22	13,9	14,7	22	14,51
Óleo de Soja	8,3	8,2	8,34	8,3	8,23
Fosfato bicálcico	0,4	0,4	0,4	0,4	0,39
Sal	0,5	0,5	0,5	0,5	0,49
Premix vit. Min. ²	2,6	2,6	2,6	2,6	2,57
Extrato de tanino ³	-	-	-	1,72	1,28
Inerte ⁴	4,2	0,02	-	2,48	-
TOTAL	100	100	100	100	100

Valor energético e Composição Centesimal					
NUTRIENTES					
PB % ⁵	35,20	35,20	35,26	35,20	34,81
ED Kcal/Kg ⁶	3151	3150	3151	3151	3110
GORD % ⁷	12,10	13,38	12,58	12,10	12,42
MM % ⁸	8,65	9,53	7,82	8,65	7,73
FDN % ⁹	8,88	17,85	16,25	8,88	16,04
Ca % ¹⁰	1,48	1,77	1,42	1,48	1,02
P % ¹¹	1,00	1,15	0,96	1,00	0,94
CSDN % ¹²	18,62	14,64	17,04	18,62	16,82
Tanino%				1,49	1,48

¹PS: farinha de peixe e farelo de soja; PC: farinha de peixe e farelo de canola; PCS: farinha de peixe, farelo de soja e farelo de canola; PStan: farinha de peixe, farelo de soja e tanino; PCStan: farinha de peixe, farelo de soja, farelo de canola e tanino. ²Composição da mistura vitamínica e mineral (por kg do produto): Ác. ascórbico 1.500,12 mg, Ác. Fólico 299,88 mg, Ác. pantotênico 3.000,10 mg, Biotina 0,06mg, Cloro 2,30%, Cobalto 60, 06 mg, Cobre 1.000,00 mg, Colina 103.500 mg, Enxofre 0,01%, Ferro 6.416,80 mg, Inositol 9.999,92 mg, Iodo 45,36 mg, Magnésio 5,10%, Manganês 8.000,40 mg, Niacina 9.000,32 mg, Potássio 0,00%, Selênio 60,30mg, Vit. A 1.000.000 UI, Vit. B1 1.500,38 mg, Vit. B2 1.500 mg, Vit. B6 1.500,38 mg, Vit. D3 240.000 UI, Vit. E 10.000 mg, Vit. K3 400mg, Zinco 13.999,50mg. ³Extrato de tanino de *Acacia mearnsii*. ⁴Areia. ⁵PB: proteína bruta. ⁶ED: $[(\%PB \times 5,64 \times 0,83) + (\%gordura \times 9,44 \times 0,88) + (CSDN \times 4,11 \times 0,65)] \times 10$ (MEYER e FRACALOSSO, 2004). ⁷GORD: gordura. ⁸MM: material mineral. ⁹FDN: fibra em detergente neutro. ¹⁰Ca: Cálcio. ¹¹P: fósforo disponível. ¹²CSDN: carboidratos solúveis em detergente neutro (calculado por diferença entre o teor de matéria seca e as demais frações nutricionais).

Tabela 2. Parâmetros sanguíneos de juvenis de jundiás alimentados com dietas contendo fontes proteicas de distintas velocidades de digestão aos 60 dias experimentais.

Variáveis ²	TRATAMENTOS ¹				
	PS	PC	PCS	PStan	PCStan
GLI	49,53±5,00	47,11±2,83	56,51±3,86	47,98±5,05	49,85±5,52
PRO	3,59 ^{ab} ±0,10	3,39 ^{ab} ±0,19	3,60 ^{ab} ±0,06	3,80 ^a ±0,23	3,31 ^b ±0,22
COL	110,72±7,51	108,98±8,23	116,93±6,88	120,26±7,75	105,01±11,05
TRIG	360,50±39,35	431,96±91,32	332,04±39,91	531,05±83,26	396,27±57,78
ALB	1,35 ^{ab} ±0,22	1,02 ^b ±0,30	1,06 ^b ±0,18	0,95 ^b ±0,11	1,76 ^a ±0,28
AA	4,47±0,47	5,09±0,38	5,14±0,24	5,02±0,40	3,87±0,25

¹PS: farinha de peixe e farelo de soja; PC: farinha de peixe e farelo de canola; PCS: farinha de peixe, farelo de canola e farelo de soja; PStan: farinha de peixe, farelo de soja e tanino; PCStan: farinha de peixe, farelo de canola, farelo de soja e tanino. ²GLI: glicose (mg/dL); PRO: proteínas totais (g/dL); COL: colesterol total (mg/dL); TRIG: triglicerídeos (mg/dL); ALB: albumina (g/dL); AA: aminoácidos livres (mmol/dL). Valores expressos ± erro padrão da média. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha são diferentes estatisticamente pelo teste de Duncan (P<0,05).

Tabela 3. Parâmetros hepáticos de juvenis de jundiá alimentados com dietas contendo fontes proteicas de distintas velocidades de digestão aos 60 dias experimentais.

Variáveis ²	TRATAMENTOS ¹				
	PS	PC	PCS	PStan	PCStan
PRO	49,64±4,02	50,06±4,89	52,45±2,22	47,57±2,85	45,02±3,94
GLI	110,87±4,93	117,19±11,17	106,96±9,31	104,96±7,04	95,37±9,07
GLC	3,60±0,30	3,87±0,25	3,86±0,69	3,42±0,36	3,29±0,40
AM	8,18±0,92	6,94±1,19	6,75±0,71	6,52±0,79	9,13±0,70
AA	14,72±0,47	15,82±0,39	14,25±0,92	16,53±0,91	16,28±0,82
AST	558,16±28,80	459,36±32,87	487,65±84,10	517,35±42,3	538,91±10,68
ALT	38,34±5,06	48,20±4,92	27,97±4,27	30,67±5,04	34,97±4,83

¹PS: farinha de peixe e farelo de soja; PC: farinha de peixe e farelo de canola; PCS: farinha de peixe, farelo de canola e farelo de soja; PStan: farinha de peixe, farelo de soja e tanino; PCStan: farinha de peixe, farelo de canola, farelo de soja e tanino. ²PRO: proteína (mg/g de tecido); GLI: glicose (µmol/g de tecido); GLC: glicogênio (µmol/g de tecido); AM: amônia (µmol/g de tecido); AA: aminoácidos (µmol/g de tecido); AST: aspartato aminotransferase (UI/mg de tecido); ALT: alanina aminotransferase (UI/mg de tecido). Valores expressos ± erro padrão da média. Não houve diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Duncan (P>0,05).

Tabela 4. Atividade de enzimas digestivas de juvenis de jundiá alimentados com dietas contendo fontes proteicas de distintas velocidades de digestão aos 60 dias experimentais.

Variáveis ²	Tratamentos ¹				
	PS	PC	PCS	PStan	PCStan
Tri	4,58±0,22	4,47±0,19	4,59±0,22	4,97±0,26	4,71±0,22
Qui	4094,47±172,7	3772,09±126,9	4230,51±224,6	4228,43±252,2	4314,31±126,8
Pro	50,69±7,40	56,65±5,57	44,29±6,48	69,22±7,35	51,61±6,22
Lip	2,21±0,11	2,16±0,20	2,32±0,18	2,07±0,09	2,22±0,19

¹PS: farinha de peixe e farelo de soja; PC: farinha de peixe e farelo de canola; PCS: farinha de peixe, farelo de canola e farelo de soja; PStan: farinha de peixe, farelo de soja e tanino; PCStan: farinha de peixe, farelo de canola, farelo de soja e tanino. ²Tri: tripsina ($\mu\text{mol TAME}/\text{minuto}/\text{mg}$ de proteína); Qui: quimotripsina ($\mu\text{mol BTEE}/\text{minuto}/\text{mg}$ de proteína); Pro: protease ácida (μg tirosina/ minuto/mg de proteína); Lip: lípase (μg substrato/ minuto/mg de proteína). Valores expressos \pm erro padrão da média. Não houve diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Duncan ($P>0,05\%$).

4. DISCUSSÃO GERAL

Foi possível notar diferenças nas curvas de digestão *in vitro* dos ingredientes e das rações (Artigo 1, Figura 1A e B), mostrando que as características estruturais, perfil de aminoácidos, os tipos de proteínas e as ligações que as unem nas fontes proteicas de origem animal e vegetal, são responsáveis por diferenças na dinâmica com que estes ingredientes são digeridos e aproveitados pelos animais.

Pode-se verificar que a dieta PS que apresentou curva digestiva mais estável, sem variações bruscas, teve tendência, mesmo que sem diferenças significativas, a melhores resultados de desempenho (Artigo 1, Tabela 2). Este fato é comprovado na avaliação do coeficiente de retenção de proteína (CRP), onde a dieta PS obteve melhores resultados em comparação com a dieta PC, a qual apresentou variações bruscas na curva digestiva (Artigo 1, Tabela 3).

Alterações metabólicas podem influenciar na deposição de nutrientes na carcaça e no filé dos peixes, podendo afetar a qualidade do pescado (VEIVERBERG, 2011). Os peixes do tratamento PC apresentaram menores teores de gordura no peixe inteiro, porém menor deposição de proteína na carcaça em comparação com os demais tratamentos (Artigo 1, Tabela 3). Este fato pode estar ligado aos tipos de proteína que compõem as fontes proteicas das dietas, assim como sua estrutura, já que Bobbio; Bobbio, (1985), citam que a proteína fibrosa, de origem animal, apresenta ligações mais fortes que as de origem vegetal, o que poderia causar diferença na velocidade com que estas duas fontes são digeridas. Aliado a este fato, a canola apresenta em sua composição grupos proteicos com menor valor nutricional, além de elevado teor de fibra (HOSENEY; ALONSO, 1999, GALDIOLI et al., 2000), fatores esses que unidos podem ter provocado um assincronismo na digestão destes ingredientes.

A dieta PS também apresentou os melhores resultados de digestibilidade aparente e *in vitro*, que juntamente com os maiores valores de albumina sanguínea (Artigo 2, Tabela 2) podem permitir inferir em melhor qualidade da proteína ingerida (BACILA, 2003) (Artigo 1, Tabela 4, Artigo 2, Tabela 2). Entretanto no tratamento PCStan, que também obteve elevados níveis de albumina, esta suposição de melhor qualidade nutricional pode não se encaixar, já que a digestibilidade aparente foi pior neste tratamento. Desta forma, uma hipótese para estes maiores níveis pode estar relacionada com uma menor quantidade de globulinas (FALCON, 2007), indicando possível sinal de estresse, já que nas curvas glicêmicas (Artigo 2, Figura 1),

a glicose é mais elevada que nos demais tratamentos, sendo verificado maior dificuldade para realizar a manutenção destes níveis.

Através da análise de parâmetros sanguíneos e hepáticos, pode-se inferir sobre o metabolismo dos animais (FERREIRA, 2011), dando uma ideia do seu estado nutricional. No presente trabalho pode-se observar que provavelmente os jundiás dos diferentes tratamentos, ainda não estavam utilizando suas reservas para manutenção da glicemia, já que os valores de glicose e proteína no fígado estavam elevados, assim como os valores de aminoácidos e de amônia encontravam-se baixos, no mesmo passo que os níveis de glicose sanguínea e de aminoácidos encontravam-se em equilíbrio (Artigo 2, Tabela 3).

Uma vez que o IHS pode estar ligado à quantidade de glicogênio armazenado no fígado, que pode variar de 1 a 6% o seu peso total (NAVARRO; GUTIÉRREZ, 1995), uma redução em seus valores era esperada em peixes de jejum (BARCELLOS et al, 2010). Porém como no presente experimento não houve diferenças quanto aos valores de glicogênio hepático, pode-se supor que os maiores valores de IHS, devem-se também aos maiores valores de IGS (Artigo 1, Tabela 2, Artigo 2, Tabela 3). Estes maiores índices podem ter sido estimulados pela presença de isoflavonas, nas dietas com farelo de soja, as quais tem efeito semelhante ao do hormônio 17- β -estradiol (SILVA et al., 2009).

Na avaliação das curvas de glicose e proteína dos jundiás (Artigo 2, Figura 1), é possível perceber que quando há queda nos níveis de glicose os níveis de proteínas sanguíneas tendem a aumentar. Esse fato deve-se à tentativa de manutenção da glicemia (RIEGEL, 1998). Entretanto na dieta PC, é possível perceber uma dificuldade na manutenção da proteína sanguínea em valores normais, o que se refletiu no desempenho e composição destes animais (Artigo 1, Tabelas 2 e 3).

As dietas com adição de tanino apresentaram valores de glicose mais elevados que os demais tratamentos e maior dificuldade em manter estes níveis. Esse fato aliado aos demais parâmetros sanguíneos, hepáticos e de digestibilidade aparente das dietas (Artigo 2, Tabela 2 e 3, Artigo 1, Tabela 4), mesmo que sem apresentar diferença, dão uma ideia de que os animais estavam iniciando a mobilização de suas reservas, para manutenção da glicemia. Esses dados mostraram que a adição de 1,5% de tanino, provocou diferenças prejudiciais na dinâmica de digestão e aproveitamento do alimento.

Era esperado que a dieta PCS tivesse melhores resultados de desempenho, pois segundo Fabregat et al. (2011) quando várias fontes vegetais são misturadas, os níveis de fatores anti-nutricionais podem ser reduzidos. Porém, mesmo com a mistura de ingredientes,

os resultados de desempenho foram semelhantes aos demais tratamentos. Esse fato pode ter sido devido às diferenças estruturais das proteínas destas fontes, fatores antinutricionais presentes nos ingredientes de origem vegetal, que podem ter provocado assincronismo proteico.

Dessa forma seriam interessantes mais estudos nesta área, já que Larsen et al., (2012), sugere que os ingredientes proteicos vegetais são diferentes na forma como eles afetam a absorção de aminoácidos. Da mesma forma Santigosa et al. (2008), trabalhando com substituição de farinha de peixe por fontes proteicas de origem vegetal para truta, notou, que nos animais alimentados com as dietas com 50 e 75 % de substituição, houve um atraso de absorção de aminoácidos no intestino, e redução dos níveis de absorção total no tratamento com 100% de substituição de farinha de peixe. Ambardekar et al., (2009), trabalhando com dietas com fontes proteicas convencionais e aminoácidos sintéticos, simulando o perfil aminoacídico destes ingredientes para catfish, também relata uma diferença na velocidade de digestão dos aminoácidos do farelo de soja, sugerindo que esse ingrediente teria uma velocidade de digestão mais lenta.

Outra lacuna é com relação ao sincronismo proteico energético e frequência alimentar, fatores que poderiam melhorar o desempenho dos animais. Avaliando-se melhor também a frequência alimentar, talvez seria possível diminuir esse efeito de assincronismo de digestão.

As curvas de glicose e proteína podem nos dar uma noção do metabolismo de utilização dos nutrientes das dietas, porém seriam interessantes maiores estudos, também com avaliação de aminoácidos. Muitos trabalhos testando dietas com fontes proteicas versus aminoácidos sintéticos (AMBARDEKAR et al., 2009; SCHUMACKER et al., 1997), tem mostrado algumas diferenças na dinâmica de digestão. Mas com relação a diferenças com fontes proteicas de origem vegetal e animal, ainda faltam estudos. Larsen et al. (2012) em seu trabalho, constatou que a ingredientes proteicos de origem vegetal na dieta, podem retardar a absorção e alterar o padrão plasmático, pós-prandial de aminoácidos livres em truta arco-íris. Santigosa et al. (2008) destaca que espécies carnívoras tendem a ter uma digestão mais lenta de ingredientes de origem vegetal. Devido a isso são necessários mais estudos nesta área a fim de melhorar o aproveitamento dos nutrientes das rações, assim como o desempenho dos animais.

5. CONCLUSÕES

Após análise dos resultados pode-se concluir que:

- O desempenho dos animais não foi afetado pela combinação de fontes proteicas com distintas velocidades de digestão.
- Maior coeficiente de retenção de proteína na carcaça foi observado em animais arraçados com dieta PS, que proporcionou curva de digestão *in vitro* mais estável, em relação ao PC.
- Menor retenção de proteína e percentagem de gordura na carcaça foi observada nos animais do tratamento PC, com dietas de maiores variações nas curvas *in vitro*
- Houve alterações nos índices gonado e hepato-somáticos nos tratamentos com farelo de soja.
- Foi observado alterações nos parâmetros sanguíneos, dos jundiás alimentados com as dietas PS, PStan e PCStan.
- As enzimas digestivas, assim como os parâmetros hepáticos não foram afetados nos diferentes tratamentos
- Os animais alimentados com tratamento contendo farinha de peixe e farelo de soja como fontes de proteína apresentaram curvas glicêmica e proteica mais estável
- A adição de taninos nas rações não resultou em melhora no desempenho dos jundiás, sendo observados níveis glicêmicos mais elevados. Sua adição piorou a digestibilidade aparente das rações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMBARDEKAR, A. A.; REIGH, R. C.; WILLIAMS, M. B. Absorption of amino acids from intact dietary proteins and purified amino acid supplements follows different time-courses in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**, v. 291, p. 179–187, 2009.

BACILA, M. **Bioquímica veterinária**. São Paulo, Ed. RobeEditorial, 2003, p. 425-426.

BARCELLOS, L. J. G.; MARQUEZE, A.; TRAPP, M.; QUEVEDO, R. M.; FERREIRA, D. The effects of fasting on cortisol, blood glucose and liver and muscle glycogen in adult jundiá *Rhamdia quelen*. **Aquaculture**, v. 300, p. 231–236, 2010.

BERGAMIN, G. T.; MARTINELLI, S. G.; DELLA FLORA, M. A. L.; PEDRON, F. A.; SILVA, L. P.; RADÜNZ NETO, J. Fontes proteicas vegetais na alimentação da carpa húngara. **Ciência Rural**, v. 41, n. 9, p. 1660-1666, set, 2011

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Introdução à química de alimentos**. São Paulo, Ed. Fundação Cargill, 1985, 306 p.

COLDEBELLA, I. J.; RADÜNZ NETO, J. Farelo de soja na alimentação de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência Rural**, v. 32, n. 3, p. 499-503, 2002.

EL-SAIDYED, D. M. S. D.; GABER, M. M. A. Replacement of fish meal with a mixture of different plant protein sources in juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) diets. **Aquaculture Research**, v. 34, p. 1119-1127, 2003.

FABREGAT, T. E. H. P.; PEREIRA, T. S.; BOSCOLO, C. N.; ALVARADO, J. D.; FERNANDES, J. B. K. Substituição da farinha de peixe pelo farelo de soja em dietas para juvenis de curimba. **Bolletim do Instituto da Pesca**, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 289–294, 2011.

FALCON, D. R.; **β -glucano e vitamina C no desempenho produtivo e parâmetros fisiopatológicos em juvenil de tilápia do Nilo: nível de suplementação e tempo de administração**. 2007, 158 F. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

FERREIRA, C. C. **Farelos de arroz desfitinizados na nutrição de jundiá (*Rhamdia quelen*)**. 2011, 66 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

GALDIOLI, E. M.; HAYASHI, C.; SOARES, C. M.; FURUYA, W. M.; NAGAE, M. Y. Diferentes fontes proteicas na alimentação de alevinos de curimba (*Prochilodus lineatus* V.). **Acta Scientiarum**, v. 22, n. 2, p. 471-477, 2000.

GOMES, E. F.; REMA, P.; KAUSHIK, S. J. Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) : digestibility and growth performance. **Aquaculture**, v. 130, p. 177-186, 1995.

HOSENEY, R. C.; ALONSO, M. G. **Principios de ciencia y tecnologia de los cereales**. Espanha, Ed. Acribia, 1999, p. 67- 85.

KAUSHIK, S. J.; SEILIEZ, I. Review article: Protein and amino acid nutrition and metabolism in fish: current knowledge and future needs. **Aquaculture Research**, v. 41, p. 322-332, 2010.

KOZLOSKI, G. V.; HÄRTER C. J.; HENTZ, F.; ÁVILA, S. C.; ORLANDI, T.; STEFANELLO, C. Intake, digestibility and nutrients supply to wethers fed ryegrass and intraruminally infused with levels of *Acacia mearnsii* tannin extract. **Small Ruminant Research**, v. 106, p. 125–130, 2012.

LARSEN, B. K.; DALSGAARD, J.; PEDERSEN, P. B. Effects of plant proteins on post prandial, free plasma amino acid concentrations in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 326-329, p. 90-98, 2012.

LAZZARI, R.; RADÜNZ NETO, J.; VEIVERBERG, C. A.; BERGAMIN, G. T.; CORRÊIA, V.; PEDRON, F. A. Alimentação do jundiá (*Rhamdia quelen*, *heptateridae*) com ingredientes proteicos. **Archivos de Zootecnia**, v. 56, n. 214, p. 115-123, 2007.

NAVARRO, I., GUTIÉRREZ, J., 1995. Fasting and starvation. In: Hochachka, P.W., Mommsen, T. (Eds.), **Biochemistry and Molecular Biology of Fishes**. Elsevier Science B.V, p. 393–434.

RIEGEL, R. E. **Bioquímica**, São Leopoldo, Ed. UNISINOS, 1998, 401 p.

SANTIGOSA, E.; SÁNCHEZ, J.; MÉDALE, F.; KAUSHIK, S.; PÉREZ-SÁNCHEZ, J.; GALLARDO, M. A. Modifications of digestive enzymes in trout (*Oncorhynchus mykiss*) and sea bream (*Sparus aurata*) in response to dietary fish meal replacement by plant protein sources. **Aquaculture**, v. 282, p. 68-74, 2008.

SCHUMACHER, A.; WAX, C.; GROPP, J. Plasma amino acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed intact protein or a crystalline amino acid diet. **Aquaculture**, v. 151, p. 15 – 28, 1997.

SILVA, M. C. P.; LADEIRA, A. M.; GARCIA, D.; FURLAN, M. R. Isoflavona. **THESIS**, n. 12, p. 31-59, 2009.

VEIVERBERG, C. A; BERGAMIN, G. T.; RADÜNZ NETO, J.; LAZZARI, R.; CORRÊIA, V.; ROSSATO, S.; SUTILI, F. J.; FERREIRA, C. C. Farelo de soja como substituto à farinha de carne e ossos em dietas para juvenis de carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*). **Boletim do Instituto da Pesca**, v. 34, n. 3, p. 463 - 472, 2008.

VEIVERBERG, C. **Alimentos convencionais e não-convencionais na engorda e qualidade de pescado do jundiá (*Rhamdia quelen*)**. 2011. 91 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

ANEXOS

ANEXO 1 – Normas de publicação da Semina: Ciências Agrárias, UEL. – Artigos 1 e 2

INSTRUÇÕES PARA SUBMISSÃO DE TRABALHOS NA REVISTA SEMINA: CIÊNCIAS AGRÁRIAS

(Disponível em: <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias>)

Os artigos poderão ser submetidos em português e após o aceite serem traduzidos para o inglês.

Os artigos em inglês terão prioridade de publicação.

Os artigos em inglês deverão estar acompanhados (como documento suplementar) do comprovante de tradução; correção de um dos seguintes tradutores.

American Journal Experts.

Editage

Elsevier

O autor principal deverá anexar no sistema **documento comprobatório** dessa correção.

Categorias dos Trabalhos

- a) Artigos científicos: no máximo 20 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas;
- b) Comunicações científicas: no máximo 12 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 16 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;
- b) Relatos de casos: No máximo 10 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 12 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;
- c) Artigos de revisão: no máximo 25 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas.

Apresentação dos Trabalhos

Os originais completos dos artigos, comunicações, relatos de casos e revisões podem ser escritos em português, inglês ou espanhol, no editor de texto Word for Windows, com espaçamento 1,5, em papel A4, fonte Times New Roman, tamanho 11 normal, com margens esquerda e direita de 2 cm e superior e inferior de 2 cm, respeitando-se o número de páginas, devidamente numeradas, de acordo com a categoria do trabalho. Figuras (desenhos, gráficos e

fotografias) e Tabelas serão numeradas em algarismos arábicos e devem estar separadas no final do trabalho.

As figuras e tabelas deverão ser apresentadas nas larguras de 8 ou 16 cm com altura máxima de 22 cm, lembrando que se houver a necessidade de dimensões maiores, no processo de editoração haverá redução para as referidas dimensões. As legendas das figuras deverão ser colocadas em folha separada obedecendo à ordem numérica de citação no texto. Fotografias devem ser identificadas no verso e desenhos e gráfico na parte frontal inferior pelos seus respectivos números do texto e nome do primeiro autor. Quando necessário deve ser indicado qual é a parte superior da figura para o seu correto posicionamento no texto.

Preparação dos manuscritos

Artigo científico:

Deve relatar resultados de pesquisa original das áreas afins, com a seguinte organização dos tópicos: Título; Título em inglês; Resumo com Palavras-chave (no máximo seis palavras); Abstract com Key words (no máximo seis palavras); Introdução; Material e Métodos; Resultados e Discussão com as conclusões no final ou Resultados, Discussão e Conclusões separadamente; Agradecimentos; Fornecedores, quando houver e Referências Bibliográficas. Os tópicos devem ser escritos em letras maiúsculas e minúsculas e destacados em negrito, sem numeração. Quando houver a necessidade de subitens dentro dos tópicos, os mesmos devem receber números arábicos. O trabalho submetido não pode ter sido publicado em outra revista com o mesmo conteúdo, exceto na forma de resumo de congresso, nota prévia ou formato reduzido.

A apresentação do trabalho deve obedecer à seguinte ordem:

1. *Título do trabalho*, acompanhado de sua tradução para o inglês.
2. *Resumo e Palavras-chave*: Deve ser incluído um resumo informativo com um mínimo de 150 e um máximo de 300 palavras, na mesma língua que o artigo foi escrito, acompanhado de sua tradução para o inglês (*Abstract e Key words*).
3. *Introdução*: Deverá ser concisa e conter revisão estritamente necessária à introdução do tema e suporte para a metodologia e discussão.
4. *Material e Métodos*: Poderá ser apresentado de forma descritiva contínua ou com subitens, de forma a permitir ao leitor a compreensão e reprodução da metodologia citada com auxílio ou não de citações bibliográficas.
5. *Resultados e discussão com conclusões ou Resultados, Discussão e Conclusões*: De acordo com o formato escolhido, estas partes devem ser apresentadas de forma clara, com auxílio de

tabelas, gráficos e figuras, de modo a não deixar dúvidas ao leitor, quanto à autenticidade dos resultados, pontos de vistas discutidos e conclusões sugeridas.

6. *Agradecimentos*: As pessoas, instituições e empresas que contribuíram na realização do trabalho deverão ser mencionadas no final do texto, antes do item Referências Bibliográficas.

Observações:

Quando for o caso, antes das referências, deve ser informado que o artigo foi aprovado pela comissão de bioética e foi realizado de acordo com as normas técnicas de biosegurança e ética.

Notas: Notas referentes ao corpo do artigo devem ser indicadas com um símbolo sobrescrito, imediatamente depois da frase a que diz respeito, como notas de rodapé no final da página.

Figuras: Quando indispensáveis figuras poderão ser aceitas e deverão ser assinaladas no texto pelo seu número de ordem em algarismos arábicos. Se as ilustrações enviadas já foram publicadas, mencionar a fonte e a permissão para reprodução.

Tabelas: As tabelas deverão ser acompanhadas de cabeçalho que permita compreender o significado dos dados reunidos, sem necessidade de referência ao texto.

Grandezas, unidades e símbolos: Deverá obedecer às normas nacionais correspondentes (ABNT).

7. *Citações dos autores no texto*: Deverá seguir o sistema de chamada alfabética seguidas do ano de publicação de acordo com os seguintes exemplos:

- a) Os resultados de Dubey (2001) confirmam que
- b) De acordo com Santos et al. (1999), o efeito do nitrogênio.....
- c) Beloti et al. (1999b) avaliaram a qualidade microbiológica.....
- d) [...] e inibir o teste de formação de sincício (BRUCK et. al., 1992).
- e) [...]comprometendo a qualidade de seus derivados (AFONSO; VIANNI, 1995).

Dentro do parêntese, separar por ponto e vírgula.

Ex: (RUSSO; FELIX; SOUZA, 2000).

Incluídos na sentença, utilizar virgula para os dois primeiros autores e (e) para separar o segundo do terceiro.

Ex: Russo, Felix e Souza (2000), apresentam estudo sobre o tema....

Indicar o primeiro autor seguido da expressão et al.

Observação: Todos os autores devem ser citados nas Referências Bibliográficas.

8. *Referências Bibliográficas*: As referências bibliográficas, redigidas segundo a norma NBR 6023, ago. 2000, da ABNT, deverão ser listadas na ordem alfabética no final do artigo. Todos os autores participantes dos trabalhos deverão ser relacionados, independentemente do número de participantes (única exceção à norma – item 8.1.1.2). A exatidão e adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto do artigo, bem como opiniões, conceitos e afirmações são da inteira responsabilidade dos autores.

As outras categorias de trabalhos (Comunicação científica, Relato de caso e Revisão) deverão seguir as mesmas normas acima citadas, porém, com as seguintes orientações adicionais para cada caso:

Comunicação científica

Uma forma concisa, mas com descrição completa de uma pesquisa pontual ou em andamento (nota prévia), com documentação bibliográfica e metodologia completas, como um artigo científico regular. Deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key words; Corpo do trabalho sem divisão de tópicos, porém seguindo a seqüência – introdução, metodologia, resultados (podem ser incluídas tabelas e figuras), discussão, conclusão e referências bibliográficas.

Relato de caso

Descrição sucinta de casos clínicos e patológicos, achados inéditos, descrição de novas espécies e estudos de ocorrência ou incidência de pragas, microrganismos ou parasitas de interesse agrônomo, zootécnico ou veterinário. Deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key-words; Introdução com revisão da literatura; Relato do (s) caso (s), incluindo resultados, discussão e conclusão; Referências Bibliográficas.

Artigo de revisão bibliográfica

Deve envolver temas relevantes dentro do escopo da revista. O número de artigos de revisão por fascículo é limitado e os colaboradores poderão ser convidados a apresentar artigos de interesse da revista. No caso de envio espontâneo do autor (es), é necessária a inclusão de resultados relevantes próprios ou do grupo envolvido no artigo, com referências bibliográficas, demonstrando experiência e conhecimento sobre o tema.

O artigo de revisão deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key-words; Desenvolvimento do tema proposto (com subdivisões em tópicos ou não); Conclusões ou Considerações Finais; Agradecimentos (se for o caso) e Referências Bibliográficas.

Outras informações importantes

- 1 A publicação dos trabalhos depende de pareceres favoráveis da assessoria científica "Ad hoc" e da aprovação do Comitê Editorial da Semina: Ciências Agrárias, UEL.
2. Não serão fornecidas separatas aos autores, uma vez que os fascículos estarão disponíveis no endereço eletrônico da revista (<http://www.uel.br/revistas/uel>).
3. Os trabalhos não aprovados para publicação serão devolvidos ao autor.
4. Transferência de direitos autorais: Os autores concordam com a transferência dos direitos de publicação do referido artigo para a revista. A reprodução de artigos somente é permitida com a citação da fonte e é proibido o uso comercial das informações.
5. As questões e problemas não previstos na presente norma serão dirimidos pelo Comitê Editorial da área para a qual foi submetido o artigo para publicação.
6. Informações devem ser dirigidas a:

<p>Universidade Estadual de Londrina Centro de Ciências Agrárias Departamento de Medicina Veterinária Preventiva Comitê Editorial da Semina Ciências Agrárias Campus Universitário - Caixa Postal 600186051-990 Londrina, Paraná, Brasil. Informações: Fone: 0xx43 33714709 Fax: 0xx43 33714714 Emails: vidotto@uel.br; csvjneve@uel.br</p>	<p>ou Universidade Estadual de Londrina Coordenadoria de Pesquisa e Pós-graduação Conselho Editorial das revistas Semina Campus Universitário - Caixa Postal 600186051-990 Londrina, Paraná, Brasil. Informações: Fone: 0xx43 33714105 Fax: Fone 0xx43 3328 4320 Emails: eglema@uel.br;</p>
---	---

Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, deve-se justificar em "Comentários ao Editor".
2. **Devem ser preenchidos dados de autoria de todos os autores no processo de submissão.**
Utilize o botão "**incluir autor**"
3. **No passo seguinte preencher os metadados em inglês.**
Para incluí-los, após salvar os dados de submissão em português, clicar em "**editar metadados**" no topo da página - alterar o idioma para o inglês e inserir: título em inglês, abstract e key words. Salvar e ir para o passo seguinte.
4. A **identificação de autoria** do trabalho foi removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis em Assegurando a Avaliação Cega por Pares.
5. Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (desde que não ultrapassem 2MB)
6. O texto está em espaço 1,5; fonte Time New roman de tamanho 11; emprega itálico em vez de sublinhado (exceto em endereços URL);
O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em Diretrizes para Autores, na seção Sobre a Revista.
7. URLs para as referências foram informadas quando necessário.
8. **Taxa de Submissão de novos artigos**

Declaração de Direito Autoral

Os **Direitos Autorais** para artigos publicados nesta revista são de direito do autor. Em virtude da aparecerem nesta revista de acesso público, os artigos são de uso gratuito, com atribuições próprias, em aplicações educacionais e não-comerciais.

A revista se reserva o direito de efetuar, nos originais, alterações de ordem normativa, ortográfica e gramatical, com vistas a manter o padrão culto da língua e a credibilidade do veículo. Respeitará, no entanto, o estilo de escrever dos autores.

Alterações, correções ou sugestões de ordem conceitual serão encaminhadas aos autores, quando necessário. Nesses casos, os artigos, depois de adequados, deverão ser submetidos a nova apreciação.

As opiniões emitidas pelos autores dos artigos são de sua exclusiva responsabilidade.

Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.

Semina: Ciências Agrárias

Londrina – PR

ISSN 1676-546X

E-ISSN 1679-0359