

FRANCISCA GISELLE DA CRUZ

**COMPLEXO ENZIMÁTICO EM DIETAS EXTRUSADAS
PARA TILÁPIA DO NILO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2017

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa – campus Viçosa**

T

C957c
2017 Cruz, Francisca Giselle da, 1981-
Complexo enzimático em dietas extrusadas para tilápia do Nilo /
Francisca Giselle da Cruz. - Viçosa, MG, 2017.
ix, 58f. : il. ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Eduardo Arruda Teixeira Lanna.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Tilápia (Peixe) - Nilo, Rio - Alimentação e rações. 2.
Oreochromis niloticus. 3. Enzimas. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-graduação em
Zootecnia. II. Título.

CDD 22 ed. 639.3774

FRANCISCA GISELLE DA CRUZ

**COMPLEXO ENZIMÁTICO EM DIETAS EXTRUSADAS
PARA TILÁPIA DO NILO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 24 de março de 2017.

Arele Arlindo Calderano

Érllens Eder Silva

Juarez Lopes Donzele
(Coorientador)

Guilherme de Souza Moura

Eduardo Arruda Teixeira Lanna
(Orientador)

Um Recado em Cordel
De Crato-CE Para Viçosa-MG
Autora: Rosário Lustosa

01- Agora eu peço licença
Para o que vou relatar
Dizer que Viçosa e Crato
Estiveram a montar
Um curso de doutorado
Para Zootecnia ensinar

02- A nossa eterna escola
Que é o Instituto Federal
Em Viçosa, na UFV
Fez projeto temporal
Abraçando essa ideia
Que é institucional

03- E todos os professores
Que vieram lecionar
Visitando a região
Chegaram a se encantar
Com a beleza existente
Em nosso rico lugar

04- A Chapada do Araripe
Todos foram conhecer
De Nova Olinda a Santana
Gostaram muito de ver
Crato Barbalha e Juazeiro
Jamais irão esquecer

05- O Soldadinho do Araripe
Conheceram em batalhão
Nosso pássaro exclusivo
Próprio dessa região
Que já foi anunciada
Sua provável extinção

06- Francisca Giselle da Cruz
A minha filha querida
Na listagem dos alunos
Também está inserida
E toda a sua tarefa
Ficou muito bem cumprida

07- O seu projeto estudado
Sua pesquisa em ação
Foi feita com a tilápia
Tendo por inspiração
O criatório de peixes
Do açude Castanhão

08- E em nome da Giselle
Eu quero agradecer
O pessoal do estágio
Do LabNut com prazer
Pelo carinho e atenção
Que esteve a receber

09- Na turma de gente boa
Tem Felipe e Edinael
Dupla bastante presente
De uma forma fiel
E sem poder esquecer
Do amigo Rafael

10- Dr. Eduardo Lanna
Ilustre coordenador
Que é também integrante
Da lista de professor
Pra Giselle deu suporte
Como orientador

11- Tem o Dr. Juarez Donzele
Que fez parte do destino
Com a sua alegria
Tem a cara de menino
Gosta de nossa cultura
Dá valor a nordestino

12- De coração agradeço
Dizendo muito obrigada
Do estado do Ceará
Nesta cultura arraigada
Assinando esse cordel
Rosário, vossa criada.

Juazeiro do Norte, CE 07/03/2017.

“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)

AGRADECIMENTOS

Ao Pai Celestial, pelo dom da vida.

À Universidade Federal de Viçosa, MG e ao Departamento de Zootecnia pela oportunidade da realização deste curso.

Ao professor orientador Dr. Eduardo Arruda Teixeira Lanna, pela orientação, oportunidade e apoio imprescindível.

Aos professores Dr. Juarez Donzele, Dr. Guilherme Moura, Dr. Arele Calderano e Dr. Erlléns Eder, pelas sugestões, críticas, auxílio e realização deste trabalho.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, *campus* Crato, pelo convênio do Doutorado Interinstitucional e a oportunidade para ampliar os meus conhecimentos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

À Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado de Minas Gerais (EPAMIG), pelo fornecimento dos juvenis de tilápia para os experimentos da pesquisa.

À Alltech® agroindustrial do Brasil, por ter gentilmente cedido o complexo enzimático.

Aos amigos Dr. Alexmiliano Vogel de Oliveira, Dr. Rafael Alves Vianna, Dr. Bruno Carvalho, e Dra. Genaina Souza, MSc. Naiara Motta e aos professores Dr. Marcus Góes e Dr. Fabyano Fonseca e Silva pelas correções e auxílio nas análises estatísticas.

Aos estagiários do Laboratório de Nutrição de Peixes e Organismos Aquáticos, LabNut - DZO/UFV, pela valiosa colaboração na condução dos experimentos.

Aos meus pais, Gilson Medeiros da Cruz (*in memoriam*) e Maria do Rosário Lustosa da Cruz, pelo amor incondicional.

Ao Enio Alves Barbosa, pelo companheirismo, paciência e amor.

Aos estimados alunos do curso Bacharelado em Zootecnia/IFCE campus Crato, pelo incentivo, em especial à Priscila Izidro, pelo auxílio na formatação da tese.

Às minhas sobrinhas Clara Maria e Isabele Maria, pelos momentos de descontração.

Expresso meus sinceros agradecimentos a todos que diretamente ou indiretamente contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

FRANCISCA GISELLE DA CRUZ, filha de Gilson Medeiros da Cruz (*in memoriam*) e Maria do Rosário Lustosa da Cruz, nasceu em Juazeiro do Norte, Sul do Estado do Ceará, no dia 23 de janeiro de 1981.

Em dezembro de 2001, graduou-se em Tecnologia de Alimentos, pelo Instituto Centro de Ensino Tecnológico (CENTEC) Unidade Cariri, situado em Juazeiro do Norte, CE.

Em agosto de 2005, obteve o título de *Magister Scientiae* em Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal do Ceará (UFC), *campus* do Pici, concentrando seus estudos na área de Biotecnologia, sob orientação do professor Dr. Antonio Renato Soares de Casimiro.

Atuou como professora no curso superior de Tecnologia de Alimentos, pelo CENTEC, Unidades Sobral e Cariri, durante o período de 2005 a 2008.

Em janeiro de 2009, ingressou no concurso público Federal como professora de ensino básico, técnico e tecnológico no Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia, Estado de Alagoas, IFAL *campus* Satuba, dos cursos de Tecnologia de Laticínios, Técnicos em Zootecnia e Agropecuária. Atuou como chefe na seção de agroindústria.

Em agosto de 2010, foi redistribuída para o IFCE *campus* Crato, atuando no corpo docente do curso de Bacharelado em Zootecnia. E atuou ainda como coordenadora de Extensão, no período de 2010 a 2015.

Em março de 2013, foi admitida no programa de Pós-Graduação em Zootecnia, nível de Doutorado, pela Universidade Federal de Viçosa, MG concentrando seus estudos na área de Nutrição de não ruminantes (piscicultura).

Em 24 de março de 2017, submeteu-se aos exames finais de defesa de tese.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vii
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
CAPÍTULO 1 Referencial Teórico	10
1 INTRODUÇÃO GERAL	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 Características da Tilápia do Nilo	12
2.2 Enzimas	12
2.2.1 Celulase	13
2.2.2 Protease	14
2.3 Complexo enzimático na nutrição de não ruminantes	15
2.4 Fatores antinutricionais	16
2.5 Energia Digestível (ED)	18
2.6 Digestibilidade	19
BIBLIOGRAFIA	22
CAPÍTULO 2 Complexo enzimático em dietas com níveis subótimos de Energia Digestível para juvenis de tilápia do Nilo	28
RESUMO	29
ABSTRACT	30
1 INTRODUÇÃO	31
2 MATERIAL E MÉTODOS	32
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4 CONCLUSÃO	39
BIBLIOGRAFIA	40
CAPÍTULO 3 Efeito do complexo enzimático na digestibilidade de nutrientes de dietas para juvenis de tilápia do Nilo	43
RESUMO	44
ABSTRACT	45
1 INTRODUÇÃO	46
2 MATERIAL E MÉTODOS	47
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
4 CONCLUSÃO	53
BIBLIOGRAFIA	54

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Referencial Teórico

Tabela 1 – Enzimas exógenas utilizadas em dietas para não ruminantes.	15
---	----

CAPÍTULO 2

Complexo enzimático em dietas com níveis subótimos de energia digestível para juvenis de tilápia do Nilo

Tabela 1 – Níveis de garantia do aditivo, segundo rótulo e protocolo do fabricante.	33
Tabela 2 – Composição nutricional das dietas experimentais (matéria natural).	33
Tabela 3 – Valores médios dos parâmetros de desempenho de juvenis de tilápia do Nilo, suplementados com complexo enzimático, por um período de 56 dias.	36
Tabela 4 – Valores médios da composição bromatológica da carcaça de juvenis de tilápia do Nilo, suplementados com complexo enzimático, durante um período de 56 dias.	38

CAPÍTULO 3

Efeito do complexo enzimático na digestibilidade de nutrientes de dietas para juvenis de tilápia do Nilo

Tabela 1 - Níveis de garantia do aditivo, segundo rótulo e protocolo do fabricante.	47
Tabela 2 - Composição da ração experimental (matéria natural).	49
Tabela 3 – Valores médios dos coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes em dietas suplementadas com complexo enzimático, para juvenis de tilápia do Nilo. ...	51

RESUMO

CRUZ, Francisca Giselle da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2017. **Complexo enzimático em dietas extrusadas para tilápia do Nilo.** Orientador: Eduardo Arruda Teixeira Lanna. Coorientador: Juarez Lopes Donzele.

Com este estudo objetivou-se avaliar o efeito da suplementação de um complexo enzimático (celulase e protease) em dietas extrusadas para juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), sobre o desempenho, a composição bromatológica da carcaça e os coeficientes de digestibilidade aparente de nutrientes e energia bruta. Foram realizados dois experimentos com níveis de energia digestível (ED) das dietas reduzidos em 0, 40, 80 e 120 kcal.kg⁻¹, em relação a dieta controle. O primeiro experimento foi realizado com 600 peixes, revertidos, com peso médio de 16,82±1,76 g, por um período de 56 dias, em delineamento inteiramente casualizado. Sendo os peixes distribuídos por cinco tratamentos (1+4), um de controle positivo (sem enzima) e quatro dietas suplementadas com 500 ppm de um complexo enzimático em seis repetições, com 20 peixes por aquário, considerada uma unidade experimental. A suplementação de 500 ppm do complexo enzimático contendo celulase e protease viabiliza a redução de ED em até 120 kcal.kg⁻¹, sem comprometer o desempenho zootécnico, exceto para a conversão alimentar, da mesma forma que mantém a composição bromatológica da carcaça de juvenis de tilápia do Nilo. O segundo experimento foi conduzido com o objetivo de avaliar o efeito da suplementação do mesmo complexo enzimático, em dietas de juvenis de tilápia do Nilo, sobre os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca (CDA_{MS}), proteína bruta (CDA_{PB}), amido (CDA_{Amido}) e energia bruta (CDA_{EB}). Foram utilizados 750 peixes, com peso inicial de 23±6,82 g, revertidos, em delineamento inteiramente casualizado em cinco tratamentos (1+4), um de controle positivo (sem enzima) e quatro com dietas suplementadas com 500 ppm de um complexo enzimático, em três repetições (no tempo), contendo 50 peixes por cuba, considerada uma unidade experimental, por um período de dez dias. A suplementação de 500 ppm do complexo enzimático contendo celulase e protease em dietas para juvenis de tilápia do Nilo possibilita a redução do nível energético da ração sem comprometer a digestibilidade da proteína e do amido, favorecendo a digestibilidade da matéria seca e da energia bruta.

ABSTRACT

CRUZ, Francisca Giselle da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2017. **Enzyme complex in extruded diets for Nile tilapia.** Advisor: Eduardo Arruda Teixeira Lanna. Co-advisor: Juarez Lopes Donzele.

This study aimed to evaluate the effects of supplementation of an enzyme complex (cellulase and protease) in extruded diets for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) on the performance, carcass bromatological composition, and apparent digestibility coefficients of nutrients and gross energy. Two experiments were performed, with digestible energy (DE) levels of diets being reduced in 0, 40, 80, and 120 kcal.kg⁻¹ in relation to the control diet. The first experiment was performed with 600 sex-reversed fish, each weighting an average 16,82±1,76 g, during a 56-day period in a completely randomized design. Fish were distributed in five treatments (1+4), one positive control (no enzyme) and four diets supplemented with 500 ppm of an enzyme complex, in six replicates. The experimental unit consisted of 20 fish per aquarium. Supplementation with 500 ppm of the enzyme complex containing cellulase and protease yielded a reduction in DE of up to 120 kcal.kg⁻¹ without compromising zootechnical performance, except for feed conversion, while maintaining carcass bromatological composition of juvenile Nile tilapia. The second experiment aimed to evaluate the effect of supplementation of the same enzyme complex in diets of juvenile Nile tilapias on the apparent digestibility coefficients of dry matter (ADC_{DM}), crude protein (ADC_{CP}), starch (ADC_{starch}) and gross energy (ADC_{GE}). A total 750 sex-reversed fish were used, each having an average initial weight of 23±6,82 g, in a completely randomized design with five treatments (1+4), one positive control (no enzyme) and four diets supplemented with 500 ppm of an enzyme complex, in three replicates (in time) of 50 fish per tank, each tank consisting in an experimental unit, along a ten-day period. Supplementation with 500 ppm of the enzyme complex containing cellulase and protease in diets for juvenile Nile tilapias enables the reduction of the feed energy level without compromising digestibility of protein or starch, thus favoring digestibility of both dry matter and gross energy.

CAPÍTULO 1

Referencial Teórico

1 INTRODUÇÃO GERAL

O segundo maior grupo de peixes de água doce cultivados no mundo é o da tilápia, cuja produção tem uma ampla distribuição especialmente na África, Ásia e Américas. Em 2013, a produção mundial de peixes atingiu 4.507,002 toneladas (FAO, 2014). No Brasil, a produção de peixes de água doce está representada pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), sendo a espécie mais cultivada, com a produção de 253 toneladas aproximadamente (BRASIL, 2011).

Com o desenvolvimento da piscicultura, os sistemas de criação vêm se intensificando e uma das exigências desses sistemas é a utilização de rações que possuam alta digestibilidade dos nutrientes, não só visando o desempenho desses animais, mas também com o intuito de reduzir a quantidade de nutrientes perdidos nas fezes, o qual pode interferir diretamente na qualidade da água, prejudicando o desenvolvimento dos peixes. Assim, a utilização de enzimas exógenas na alimentação de peixes pode ser uma alternativa para melhorar a digestibilidade dos ingredientes que compõem as rações (SILVA et al., 2017).

Com o intuito de melhorar o aproveitamento dos nutrientes em dietas a base de milho moído e farelo de soja, aditivos biotecnológicos têm sido utilizados na nutrição de não ruminantes. A inclusão de aditivos zootécnicos nas rações é uma prática empregada na produção de aves e suínos, mas o complexo enzimático na suplementação em dietas para peixes é pouco estudado (SIGNOR *et al.*, 2013).

A adição de complexo enzimático em dietas para esses animais ainda jovens pode promover melhorias no aproveitamento dos nutrientes, pois esses animais ainda estão com o trato digestório imaturo e com produção de enzimas endógenas ainda em quantidade insuficiente (DOURADO *et al.*, 2014). A idade e espécie do animal pode afetar a disponibilidade dos nutrientes pela ação das enzimas.

A suplementação por meio de aditivos em dietas para monogástricos representa uma forma de reduzir ou substituir o uso de nutrientes, evitando assim o consumo de reservas não renováveis do planeta, bem como a diminuição na contaminação ambiental.

Com isso, intenta-se com este trabalho avaliar a suplementação de um complexo enzimático, por meio de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas em diferentes níveis de energia digestível sobre o desempenho, a composição

bromatológica da carcaça, além de determinar os coeficientes de digestibilidade aparente de nutrientes e da energia bruta das dietas.

Esta tese foi redigida conforme as normas da Universidade Federal de Viçosa, MG e de acordo com as exigências da Revista Brasileira de Zootecnia.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Características da Tilápia do Nilo

Oreochromis niloticus é um peixe oriundo do continente africano, nas bacias dos rios Nilo, Níger, Chade e nos lagos do Centro-Oeste, pertence à ordem Perciformes (VERANI, 1980) e apresenta distribuição cosmopolita (PHILIPPART & RUWET, 1982).

Além disso, essa espécie é conhecida pela capacidade de utilizar eficientemente a inclusão de diferentes alimentos sucedâneos na dieta, sem prejuízos significativos ao seu desempenho produtivo (FURUYA, 2010). É uma espécie tropical, cuja temperatura ideal para seu desenvolvimento varia entre 28 a 32°C e amônia menos que 0,20 mg/L, podendo resistir a concentração baixa de oxigênio (ideal > 6,0 mg/L) (KUBITZA, 2000).

A tilápia do Nilo destaca-se, ainda, por apresentar adaptações morfológicas e fisiológicas que possibilitam a utilização de rações com elevadas porcentagens de ingredientes vegetais, pois utiliza melhor os carboidratos e a proteína dessas fontes em relação aos peixes carnívoros, segundo Furuya (2010), qualidades essas, associadas ao fato dessa espécie aceitar facilmente dietas artificiais desde o estágio larval, o que faz desta espécie um potencial aquícola (ZIMMERMANN & FITZSIMMONS, 2004).

Dessa forma, países localizados em regiões tropicais e subtropicais introduziram tilápia do Nilo, na tentativa de melhorar a produtividade pesqueira, por apresentar versatilidade, rusticidade, precocidade e hábito alimentar onívoro (SIGNOR *et al.*, 2007).

2.2 Enzimas

As enzimas são proteínas e podem ser divididas em dois tipos: enzimas destinadas a complementar quantitativamente as próprias enzimas digestórias endógenas

dos animais (proteases, amilases, lipase etc.) ou enzimas que esses animais não podem sintetizar (β -glucanases, pentosanases e α -galactosidases) (HENN, 2002).

O estudo de enzimas iniciou-se em 1890, quando Emil Fischer desenvolveu a teoria da especificidade baseada nas propriedades das enzimas gliconeogênicas, envolvidas na síntese da glicose e frutose a partir do glicerol (ROSA & UTTPATEL, 2007).

O início da utilização de enzimas na prática mundial, dará mais de uma década. Nagashiro (2007) cita que houve um maior incremento no uso de enzimas a partir de 1992, em que eram utilizadas para a melhoria na digestão dos polissacarídeos não amiláceos (PNAs), os quais aumentam a viscosidade da digesta, sendo uma barreira física para ação das enzimas. O autor coloca ainda, que nessa mesma época iniciou-se a utilização da enzima fitase para reduzir o fósforo excretado no meio ambiente.

As enzimas são derivadas de fontes animais, vegetais e microbianas. A maioria delas provém da fermentação de microrganismos, principalmente fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Trichoderma*. Entretanto, essas enzimas fúngicas se caracterizam pela alta produção, menor custo, maior variabilidade e estabilidade (COSTA *et al.*, 2004).

Quanto à estrutura, as enzimas contêm um bolsão, uma cavidade ou fenda especial denominado sítio ativo, que contêm aminoácidos, cujas cadeias laterais criam uma estrutura tridimensional, onde há o encaixe complementar ao substrato, sendo este muitas vezes chamado de chave-fechadura (LEHNINGER *et al.*, 2002).

A maioria das reações catalisadas por enzimas é altamente eficiente, ocorrendo de 10³ a 10⁸ vezes mais rápido do que as reações não catalisadas. Normalmente, cada molécula de enzima é capaz de transformar entre 100 a 1.000 moléculas de substrato em produto, a cada segundo (TORRES, 2003).

Após a suplementação enzimática, a ação catalítica destas enzimas depende de uma série de fatores, dentre eles as concentrações do substrato e da enzima, temperatura, variação do pH, umidade, presença de coenzimas, resistência à atividade proteolítica e inibidores no local, em que ocorrerá a reação (OFFICER, 2000).

2.2.1 Celulase

Os animais monogástricos não produzem a enzima celulase. Os nutrientes não digeridos passam através do trato digestivo e vão ser fermentados por bactérias nas

partes terminais do intestino, produzindo ácidos graxos voláteis (AGVs) e gases prejudiciais ao desempenho animal. A celulase degrada a celulose (polímero de glicose de longas cadeias de glicopirranose), que libera nutrientes contidos no interior da célula vegetal e até a própria glicose que integra a estrutura celulolítica. Desse modo, reduz a capacidade da fibra em reter a água presente nos alimentos, fato esse que afeta negativamente o consumo de ração e conseqüentemente o crescimento dos animais (CAMPESTRINI *et al.*, 2005). Ainda existe dúvida quanto a origem da celulase: endógena ou microbiana (BALDISSEROTTO *et al.*, 2014).

2.2.2 Protease

As enzimas responsáveis pela digestão de proteínas são as proteases. A ação das proteases ácidas e básicas depende do meio em que elas atuam. Ambas estão presentes em peixes que apresentam estômago bem delimitado e funcional, já as espécies agástricas, ou seja, sem estômago, possuem apenas a protease básica, produzida pelo pâncreas ou parede da mucosa intestinal (FILHO, 2003). Sendo assim, quando adicionadas às dietas contendo soja ou seus derivados, estas proteases têm como alvo a degradação de fatores antinutricionais, como inibidores de tripsina, lectinas e proteínas alergênicas (THORPE & BEAL, 2001).

A utilização de proteases nas dietas para não ruminantes ainda carece de informações específicas, tais como pH e temperaturas ótimas de atuação, além da cinética e substrato ideal, bem como seu modo de ação. Pesquisas com dietas contendo proteases, por vezes apresentam resultados inconsistentes. Segundo Adeola & Cowieson (2011), as proteases fúngicas e bacterianas, mesmo com respostas positivas *in vitro*, podem não apresentar os mesmos resultados *in vivo*. A divergência entre os resultados de desempenho com uso de proteases, não está bem elucidada. Entretanto, estas respostas podem estar relacionadas à compatibilidade entre as enzimas endógenas e aquelas fornecidas na ração.

Diversos benefícios são relatados com a adição de proteases endógenas nas rações, como: o aumento da produção endógena de peptídeos e, conseqüentemente, da digestibilidade dos aminoácidos (BEDFORD & PARTRIDGE, 2001) e a hidrólise de fatores antinutricionais, tais como a lectinas e inibidores de tripsina (GHAZI *et al.*, 2002) e redução na excreção de nitrogênio (DESSIMONI, 2011).

2.3 Complexo enzimático na nutrição de não ruminantes

Os aditivos enzimáticos, ou seja, compostos enzimáticos são fornecidos via ração e não possuem função nutricional direta, porém auxiliam o processo digestório melhorando a digestibilidade dos nutrientes presentes na dieta (CAMPESTRINI *et al.*, 2005).

A utilização de complexos enzimáticos foi um marco importante na nutrição animal, permitindo um melhor aproveitamento dos nutrientes. Referindo-se à suplementação em dietas para não ruminantes, as enzimas são divididas em dois grupos: as endógenas, que são sintetizadas pelo próprio organismo, e as exógenas (Tabela 1) que não são produzidas pelo próprio organismo. Estas são produzidas por outros organismos, tais como bactérias, lactobacilos e fungos (SOTO-SALANOVA, 1996). Entretanto, a adição de enzimas exógenas em dietas para monogástricos não é essencial na composição das mesmas, sendo apenas uma estratégia para potencializar o desempenho dos animais.

Tabela 1 – Enzimas exógenas utilizadas em dietas para não ruminantes.

Enzima	Ação	Alimento	Benefício Esperado
β -glucanase	Degradação de β -glucanos a oligossacarídeos.	Aveia Cevada Arroz	Redução da viscosidade.
Amilase	Degradar o amido a dextrina e açúcares.	Amido Milho	Aumento da disponibilidade de glicose.
Celulase	Degrada celulose a produtos de menor peso molecular e açúcares.	Farelo de trigo Cevada	Aumento da disponibilidade de energia.
Xilanases	Degrada arabinoxilanas a produtos de menor peso molecular e açúcares.	Aveia Trigo Milho Cevada Arroz	Melhora utilização de nutrientes.
Galactosidases	Degrada oligossacarídeos e fatores antinutricionais.	Soja Leguminosas Oleaginosas	Melhora a utilização de nutrientes e reduz viscosidade.
Fitase	Degrada as ligações do fitato com íons divalentes (fósforo e a molécula de inositol).	Cereais Oleaginosas Farelo de: arroz, milho, soja e outros	Reduz a necessidade de fósforo inorgânico e a excreção de fósforo.
Proteases	Degrada proteínas a peptídeos e aminoácidos.	Leguminosas	Aumenta a digestibilidade dos aminoácidos e reduz a excreção de nitrogênio.
Lipases	Degrada lipídeos a ácidos graxos e monoacilglicerol.	Óleo de origem animal ou vegetal	Melhora a digestibilidade da gordura.

Fonte: Adaptado de Thorpe & Beal (2001)

A utilização de uma enzima isolada deve ser feita quando se tem por objetivo degradar um determinado fator antinutricional conhecido, quando o animal apresenta alguma deficiência específica ou quando o uso da enzima combinada com outra possa reduzir a atividade de ambas (WENK, 1993).

Quanto ao uso dos complexos enzimáticos é recomendado quando a dieta apresenta variadas quantidades de fatores antinutricionais, em dietas com ingredientes alternativos com grande variação na composição química, em animais sob efeito de estresse, em desafio sanitário, efeitos esses que reduzem a produção de enzimas endógenas, já que esses complexos possuem enzimas que atuam em diversos substratos. Os *blends* ou coquetéis são misturas físicas de enzimas que podem ou não atuar sobre o mesmo substrato e se diferenciam dos complexos por serem uma mistura de enzimas produzidas em separado, enquanto os complexos são enzimas produzidas em conjunto (CARVALHO, 2013).

Aplica-se exclusivamente enzimas hidrolases (que são compostas por fosfatases, glicosidades e proteases), na elaboração de rações para não ruminantes, pela adição direta (forma granular), de incorporação feita na indústria em pré-misturas (premixes). Ou ainda por via água (pulverizada) a depender de alguns fatores como qualidade da água e processo térmico ao qual a ração é submetida (DOURADO *et al.*, 2014).

O uso de complexos enzimáticos está difundido em dietas de suínos (BEDFORD, 2000; TEIXEIRA *et al.*, 2005; RUIZ *et al.*, 2008), aves (GARCIA, 2000; TEJEDOR *et al.*, 2001; FISCHER, 2002; PUCCI *et al.*, 2010; CARVALHO, 2013; DALÓLIO, 2014), codorna (CUNHA, 2014), peru (SENS, 2009) e coelhos (YU & TSEN, 1993; DIAS, 1999; SANTIAGO, 2001; RIBEIRO *et al.*, 2017). Entretanto, são escassas na literatura as informações sobre a utilização dos mesmos em dietas para peixes.

2.4 Fatores antinutricionais

No Brasil, a aplicabilidade das enzimas teve grandes avanços nas últimas décadas, decorrentes principalmente do aumento do número de empresas e produtos lançados no mercado, com número expressivo de pesquisas realizadas nesta área, esclarecendo os benefícios da utilização das enzimas na fisiologia da digestão, na

redução de problemas digestivos e na redução dos efeitos provocados pelos fatores antinutricionais, presentes em alguns tipos de alimentos (DOURADO *et al.*, 2014).

Os ingredientes de origem vegetal mais utilizados em dietas para não ruminantes são relativamente ricos em amido e proteína e contêm nutrientes indigeríveis presentes na parede celular, o que justifica o efeito antinutricional na dieta (OLIVEIRA *et al.*, 2007). Estes fatores antinutricionais incluem os inibidores de proteases (tripsina, quimotripsina, plasmina, pronase, trombina, subtilisina, endopeptidase, proteases de insetos, papaína, elastina, proteases microbianas), hemoaglutinantes (lectina), antifatores de vitamina E, A, D e B12, alérgenos, polissacarídeos não amiláceos (PNAs), oligossacarídeos, tiaminase, gossipol, fitoestrógenos, alcaloides e ácido fítico (YANG *et al.*, 2011).

De acordo com Coon *et al.* (1990), os oligossacarídeos da família dos α -galactosídeos reduzem a energia da dieta, da digestão de fibras e do tempo de trânsito gastrointestinal. Além disso, a sua fermentação em relação ao intestino promove aumento na produção de gases, causando desconforto ao animal.

Os animais monogástricos, não possuem a capacidade enzimática de digerir celulose, arabinoxilano, β -glucanos, pectinas, entre outros (MEDEL *et al.*, 2002).

Define-se por PNAs macromoléculas de polímeros de açúcares simples, resistentes a hidrólise no trato gastrintestinal de animais não ruminantes, devido ao tipo de ligações entre as unidades existentes de açúcares IUPAC (2015), os quais fazem parte da parede celular de diversos vegetais.

O termo PNAs é usado frequentemente para se referir à porção antigamente referida como fibra bruta e classificam-se em solúveis e insolúveis. Os PNAs solúveis compõem-se por pectinas, gomas e a hemicelulose, sendo a hemicelulose constituída por arabinoxilanos, β -glucanos, D-xilanos, D-mananos e xiloglucanos. Quanto aos PNAs insolúveis compõem-se por celulosas, ligninas e algumas hemiceluloses (TAVERNARI *et al.*, 2008).

Os PNAs exercem “efeito barreira” à ação das enzimas hidrolíticas ao aprisionarem, os grãos de amido no interior das células do endosperma e/ou outros nutrientes, como as proteínas nas paredes celulares. Os tratamentos térmicos não são capazes de liberar, por si só, os nutrientes não digeríveis de ingredientes de origem vegetal, como a soja. Portanto, faz-se necessária a adoção de outras estratégias para remover os efeitos deletérios dessas substâncias (OLIVEIRA *et al.*, 2007).

Os peixes não possuem enzimas suficientes para digerir os fatores antinutricionais em dietas vegetais. Por isso, o uso de complexo enzimático nas rações pode ser uma importante característica para produção dessa espécie.

2.5 Energia Digestível (ED)

A energia não é considerada um nutriente, e sim, o resultado da oxidação de componentes orgânicos do alimento consumido ou das reservas corporais de proteína, gorduras e glicogênio (KAUSHIK & MÉDALE, 1994). Portanto, a energia é de fundamental importância para a realização das funções bioquímicas, fisiológicas, formação de novos tecidos e manutenção do balanço osmótico. Indispensável à sobrevivência, crescimento e reprodução (BICUDO, 2008).

Os peixes, por serem animais pecilotérmicos, não necessitam manter a temperatura corporal constante, exigindo deste modo, menos energia dietética. Quando comparados a animais terrestres, como mamíferos e aves, apresentam menor gasto de energia para manterem a sua postura na água (PANNEVIS & HOULIHAN, 1992).

Conforme o Agricultural Research Council (1981), a energia digestível (ED) descreve adequadamente o conteúdo energético dos alimentos, além de representar a energia do alimento que é absorvido após o processo de digestão nos animais. Determina-se a ED pela diferença entre energia bruta (EB) do alimento consumido e a EB das fezes (SAKOMURA & ROSTAGNO, 2016).

A energia bruta está relacionada diretamente com a concentração de compostos orgânicos presentes nos alimentos, dentre eles: proteína, lipídeos e carboidratos que compõem a matéria seca. Estes compostos apresentam diferentes graus de combustão, os quais fornecem energia em maior ou menor grau aos animais (MOTA, 2012).

Em sistemas intensivos de produção, as tilápias do Nilo são alimentadas com rações balanceadas, com níveis de proteína bruta entre 28 e 55% e níveis de ED entre 8,50 e 9,50 kcal.kg⁻¹ (NRC, 2011).

Em se tratando das exigências de ED para tilápia do Nilo, Furuya (2010) estima em 3.036 kcal.kg⁻¹ de ED na dieta, durante a fase pós-reversão de até 100g. Vale ressaltar que, o equilíbrio entre o conteúdo em energia e os nutrientes em uma ração é importante para as atividades de manutenção, crescimento e reprodução dos peixes.

Hoar & Randall (1969) e Van Trung *et al.* (2011) afirmam em seus estudos que a exigência diária de ED pela tilápia do Nilo pode ser caracterizada pelas diferentes

classes de peso, 10; 50; 100; 500 e 1.000 g foi de 7,74; 19,48; 29,14; 75,36 e 114,33 kJ/peixe/dia, respectivamente.

2.6 Digestibilidade

A digestibilidade é um dos critérios empregados em estudos com animais para avaliar a qualidade nutricional dos alimentos e medir a eficiência de dietas completas, através da quantificação da fração do nutriente ou energia absorvida do alimento que não é excretada nas fezes (CHOUBERT *et al.*, 1979; NRC, 1993).

Em relação à digestibilidade, Fracalossi *et al.* (2013) observaram dois tipos: primeira, a aparente, que não considera a perda da fração endógena, antes o que foi consumido, diminuindo do que foi excretado. E segunda a verdadeira, que se mostra mais acurada, por ser a diferença entre o consumido e o excretado nas fezes, levando em consideração a perda endógena. Em ensaios de digestibilidade com ingredientes proteicos, a fração endógena pode causar alterações na composição de aminoácidos, devido à influência da microbiota intestinal.

No entanto, a diferença entre digestibilidade aparente e verdadeira pouco influência nas práticas de alimentação (NRC, 2011).

Os peixes possuem dependência direta e indireta do meio em que vivem. Os métodos utilizados para determinar a digestibilidade em animais aquáticos, diferem daqueles aplicados para os demais animais não ruminantes, principalmente em relação à coleta de fezes. Entre as dificuldades da coleta de fezes no meio aquático, podemos citar o estresse sentido pelos peixes (devido a excessiva manipulação em seu ambiente), bem como a possível lixiviação dos nutrientes na água, que dificultam a realização da coleta total sem que haja perdas (SAKOMURA & ROSTAGNO, 20161).

Várias metodologias têm sido utilizadas para determinar os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes em ingredientes e rações para peixes. Dentre os métodos mais empregados, destacam-se: pipetagem direta no fundo do tanque Watanable & Ohta (1995); filtragem contínua Choubert *et al.* (1979); coleta mecânica Choubert *et al.* (1982); decantação Cho *et al.* (1985); extrusão Nose *et al.* (1960); sucção anal Lovell *et al.* (1977) e dissecação Austreng *et al.* (1978).

Uma das metodologias mais utilizadas em trabalhos de digestibilidade é o método caracterizado como decantação, desenvolvido por Cho *et al.* (1985), sendo também chamado de Sistema “Guelph”, consiste em determinar a digestibilidade dos

nutrientes e da energia bruta, contidos em rações para peixes. Cho *et al.* (1975) descreveram o método de Guelph, para coleta de fezes, sem precisar tirar os peixes da água.

O método de Guelph utiliza um aquário cilíndrico de fundo cônico no qual as fezes decantam em direção ao tubo coletor, onde ficam depositadas e posteriormente coletadas. Isso foi inicialmente desenvolvido para trabalhos de digestibilidade com salmonídeos, na Universidade de Guelph, Canadá, e hoje tem sido utilizado por diversos pesquisadores para outras espécies de peixes (COUTO *et al.*, 2016; TIBALDI *et al.*, 2015; YILMAZ & EROLDGAN, 2015).

Os primeiros estudos sobre a determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDAs) para peixes foram realizados por Homburger em 1877 (HEPHER, 1988).

Em se tratando de CDAs, as espécies animais assimilam de forma diferente os alimentos, sendo essa variação quantificada através da determinação de seus CDAs (ANDRIGUETO *et al.*, 1982).

A determinação dos CDAs da energia e/ou nutrientes de um alimento é o primeiro passo quando se pretende avaliar o potencial de sua inclusão em uma dieta balanceada para peixes (ALLAN *et al.*, 2000).

Segundo Opalinski *et al.* (2010), a utilização de enzimas exógenas na alimentação animal é uma prática que permite melhorar o aproveitamento nutricional de ingredientes que apresentam baixo coeficiente de digestibilidade, resultantes da própria composição ou da própria fisiologia do animal. Com isso, a suplementação dessas enzimas na alimentação de monogástricos pode suprir deficiências enzimáticas dos animais e melhorar a utilização de matérias-primas bem como permitir o uso de produtos alternativos.

Os ingredientes proteicos ou energéticos de origem animal ou vegetal possuem diferentes coeficientes de digestibilidade, dependendo da capacidade digestiva dos peixes cultivados, a qual está diretamente relacionada ao seu hábito alimentar (ZAVALA-CAMIM, 1996). De forma geral, os alimentos proteicos (de origem vegetal e animal), exceto os farelos de algodão com 28 e 32% de proteína bruta, apresentam coeficientes de digestibilidade aparente maiores que 70% (FURUYA, 2010).

Apesar da sua importância socioeconômica em diversos países, poucos são os estudos sobre a determinação dos coeficientes de digestibilidade da energia e nutrientes

dos principais ingredientes que são utilizados na formulação de dietas completas para a tilápia do Nilo (FURUYA *et al.*, 2001).

BIBLIOGRAFIA

ADEOLA, O.; COWIESON, A.J. Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve non ruminant animal production. **Journal of Animal Science**, v. 89: p. 3189–3218, 2011.

AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL. **The Nutrient Requirements of Pigs: Technical Review**. Rev. ed. Slough, England. Commonwealth Agricultural Buureaux. xxii, p.307, 1981.

ALLAN, G.L., PARKINSON, S., BOOTH, M.A. *et al.* Replacement of fish meal in diets for Australian silver perch, *Bidyanus bidyanus*: I. Digestibility of alternative ingredients. **Aquaculture**, 186:293-310, 2000.

ANDRIGUETO, J.M.; PERLY, L.; MINARDI, I.; GEMAEL, A.; FLEMING, J.S.; SOUZA, G.A.; BONA-FILHO, A. **Nutrição Animal**. Vol. 1, Ed. Universidade do Paraná-PR, Nobel. 395p, 1982.

AUSTRENG, E. Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segments of the gastrointestinal tract. **Aquaculture** 13, 265–272, 1978.

BALDISSEROTTO, B.; CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C. **Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce**. Editora Funep. 366 p., 2014.

BEDFORD, M.R. Exogenous enzymes in monogastric nutrition - their current value and future benefits. **Animal Feed Science and Technology**, v.86, p.1-13, 2000.

BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. **Enzymes in farm animal nutrition**. CABI. Publishing. Ed. Finnfedds International, Marlborough, Wiltshire, UK. p.432, 2001.

BICUDO, A.J.A. Exigências nutricionais de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887): proteína, energia e aminoácidos. **Tese (Doutorado)** – ESALQ/USP, Piracicaba, 103p., 2008.

BRASIL. **Ministério da Pesca e Aquicultura**. Estatísticas da pesca e aquicultura 2011. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/index.php/monitoramento-e-controle/informacoes-e-estatisticas>>. Acesso em 19 de abril de 2017.

CAMPESTRINI, E.; SILVA, V.T.M.; APPET, M.D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, n.6, p.254-267, 2005.

CARVALHO, B.R. Avaliação de um complexo enzimático em rações para frangos de corte com diferentes idades. **Dissertação (Mestrado)**. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Viçosa. p. 75, 2013.

CHO, C. Y., BAYLEY, H. S.; SLINGER, S. J. An automated fish respirometer for nutrition studies. *Prec. 28th Ann. Meeting of Canadian Conference for fish. Research*, Vancouver, B. C. 1975.

CHO, C.Y.; COWEY, C.B.; WATANABE, T. **Methodological approaches to research and development**. In: Cho, C.Y., Cowey, C.B., Watanabe, T. (Eds.), *Finfish Nutrition in Asia*. IDRC, Ottawa, Canada, pp. 10–80, 1985.

CHOUBERT, G.; NOUE, D. L. J.; LUQUET, P.; P. Continuous quantitative automatic collector for fish feces. **Progressive fish culturist**, v.41, p.64-67, 1979.

COON, C.N.; LESKE, K.L.; AKAVANISHAN, O., CHENG, T.K. Effect of oligosaccharide-free soybean meal on true metabolizable energy and fiber digestion in adults roosters. **Poultry Science**, v.69, p.787-793, 1990.

COSTA, F.G.P.; CLEMENTINO, R.H.; JÁCOME, I.M.T.D.; NASCIMENTO, G.A.J.; PEREIRA, W.E. Utilização de um complexo multienzimático em dietas de frangos de corte. **Ciência Animal Brasileira**. V.5, n.2, p. 63-71, 2004.

COUTO, A., PERES, H., OLIVA-TELES, A., et al. Screening of nutrient digestibility, glycaemic response and gut morphology alterations in glithead seabream (*Sparus aurata*) fed whole cereal meals. **Aquaculture**, 450, 31-37. 2016.

CUNHA, T.M.R. Utilização de complexo enzimático em dietas de codornas de corte. **Dissertação (Mestrado)**. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo - AL, 2014.

DALÓLIO, F.S. Frangos de corte submetidos às dietas contendo complexo enzimático SSF (*Solid State Fermentation*). **Dissertação (Mestrado)**. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina - MG, 2014.

DESSIMONI, G.V. Planos nutricionais com suplementação de protease em dietas de frangos de corte. **Tese (Doutorado)**. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Diamantina, 2011.

DIAS, J.C.C.A. Níveis decrescentes de proteína em dietas suplementadas com complexo enzimático para coelhos em crescimento. **Dissertação (Mestrado)**. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais. p. 89, 1999.

DOURADO, L.R.B; BARBOSA, N.A.A; SAKOMURA, N.K. **Enzimas na nutrição de não ruminantes**. In: nutrição de não ruminantes. Funep. p. 466- 484, 2014.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Global aquaculture production**. Disponível em: <<http://www.fao.org/fishery/statistics/global-aquaculture-production/en>>. Acessado em: Dez. 27, 2014.

FISCHER, G., MAIER, J.C., RUTZ, F., BERMUDEZ, V.L. Desempenho de frangos de corte alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja, com ou sem adição de enzimas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.31, n.1, p.402-410, 2002.

FILHO, J.T.S. Revisão sobre as enzimas digestivas nos peixes teleósteo e seus métodos de determinação. **Augustus**. Rio de Janeiro, vol. 08, n. 17, Jul./Dez., 2003.

FRACALOSSO, D.M.; RODRIGUES, A.P.O.; SILVA, T.S.C.; CYRINO, J.E.P. Técnicas experimentais em nutrição de peixes. In: FRACALOSSO, D.M.; CYRINO,

J.E.P. NUTRIAQUA: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira. 1ª ed. Florianópolis: **Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática**. p.37-63, 2013.

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

FURUYA, W.N.; PEZZATO, L.E.; PEZZATO, A.C.; BARROS, M.M.; MIRANDA, E.C. Coeficientes de digestibilidade e valores de aminoácidos digestíveis de alguns ingredientes para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia** v.30, n.4, p.1143-1149, 2001.

GARCIA, E.R.M.; MURAKAMI, A.E.; BRANCO, A.F.; FURLAN, A.C.; MOREIRA, I. Efeito da suplementação enzimática em rações com farelo de soja e soja integral extrusada sobre a digestibilidade de nutrientes, o fluxo de nutrientes na digesta ileal e o desempenho de frangos. **Rev. Bras. Zootec.**, 29(5): 1414-1426. 2000.

GHAZI, S.; ROOKE, J.A.; GALBRAITH, H.; BEDFORD, M.R. The potential for the improvement of the nutritive value of soya-bean meal by different proteases in broiler chicks and broiler cockerels. **British Poultry Science**. 43, p.70–77, 2002.

HENN, J. D. **Aditivos enzimáticos em dietas de suínos e aves**. Seminário apresentado na disciplina Bioquímica do Tecido Animal do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da UFRGS, 2002.

HEPHER, B. **Nutrition of pond fishes**. New York: Cambridge University Press, 1988.

HOAR, W.S.; RANDALL, D.J. Fish Physiology: excretion, ionic regulation and metabolism. **Academic Press**, New York, NY, 1969.

IUPAC, INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY. Recommendations on organic & biochemical nomenclature, symbols & terminology, etc. [online]. 31 December 2015. Disponível em: <<http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/>>. Acesso em: 11 jul. 2016.

KAUSHIK, S.J.; MÉDALE, F. Fish nutrition and feeding Energy requirements, utilization and dietary supply to salmonids. **Aquaculture**, v. 124, n. 1, p. 81–97, 1994.

KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí. 285p, 2000.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. 3.ed. São Paulo: SAVIER, p. 975, 2002.

LOVELL, R.T. Digestibility of nutrientes in feedstuffs for catfish. In: Stickney R.R. e Lowell, R.T. (Ed.), Nutrition and Feeding of channel catfish. **Southern Cooperative Serial Bulletin**, v.218, p.33-37. 1977

MEDEL, P.; BAUCCELLS, F.; GRACIA, M. I.; DE BLAS, C.; MATEOS, G. G. Processing of barley and enzyme supplementation in diets for young pigs. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 95, n. 3-4, p. 113-122, 2002.

MOTA, C.S. Diferentes métodos de coleta de fezes sobre os coeficientes de digestibilidade aparente para o tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Zootecnia)**, Universidade Federal De Goiás - UFG *campus* Jataí, 54p. 2012.

NAGASHIRO, C. Enzimas na nutrição de aves. In: Conferência Apinco. **Anais...** Santos, FACTA, Santos, SP. p.307-327, 2007.

NOSE, T. On the digestion of food protein by goldfish (*Carassiu auratus* L.) and rainbow trout (*Saimo irideus* g.). Bull. **Freshwater Fish. Res.** Lab.10, p.11-22, 1960.

NRC, National Research Council. **Nutrients Requirements of Fish and Shrimp.** Washington: National Academy Press. p. 376. OFFICER, D.I. Feed enzymes. In: D'Mello, J.P.F. (Ed.). Farm animal metabolism and nutrition. The Scottish Agricultural College, Edinburgh, UK. p. 405-426., 2011.

NRC, National Research Council. **Nutrient requirements of fish.** Washington, D.C.: National Washington Academy Press, 114p. 1993.

OFFICER, D.I. Feed enzymes. In: D'Mello, J.P.F. (Ed.). **Farm animal metabolism and nutrition.** The Scottish Agricultural College, Edinburgh, UK. p. 405-426, 2000.

OLIVEIRA, G.R.; LOGATO, P.V.R.; FREITAS, R.T.F.; RODRIGUES, P.B.; FIALHO, E.T.; DIODATTI, F.C. **Digestibilidade de nutrientes em ração com complexo enzimático para tilápia-do-Nilo.** Revista Brasileira de Zootecnia, v. 36, n. 6, p. 1945-1952, 2007.

OPALINSKI, M.; MAIORKA, A.; CUNHA, F.; ROCHA, C.; BORGES, S.A. Adição de complexo enzimático e da granulometria da soja integral desativada sobre o desempenho de frangos de corte. **Ciência Rural**, v.40, n.3, p.628-632, 2010.

PANNEVIS, M.C.; HOULIHAN, D.F. The energetic cost of protein synthesis in isolated hepatocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal of Comparative Physiology B**, v. 162, n. 5, p. 393-400, 1992.

PHILIPPART, J.; RUWET, C. L. Ecology and distribution of tilapias. In: PULLIN, R. S. V.; LOWE-MCCONNELL, R. H. (Ed.). The biology and culture of tilapias. Manila: **Internatinal Center for Living Aquatic Resources**, p. 15-59, 1982.

PUCCI, L.E.A.; RODRIGUES, P.B.; FREITAS, R.T.F.; FIALHO, E.T.; NASCIMENTO, G.A.J.; ALVARENGA, R.R. Efeito do processamento, suplementação enzimática e nível nutricional da ração para frangos de corte no período de 22 a 42 dias de idade. **Ciênc. agrotec.** vol.34 no.6 Lavras Nov./Dec. 2010.

RIBEIRO, M.A.; MOURA, G.S.; PINTO, B.L.N.; PENA, S.M.; OLIVEIRA, D.; MIRANDA, R.M. Desempenho de coelhos alimentados com dietas contendo diferentes níveis de complexo enzimático. **X Semana da Zootecnia - Produção animal buscando a eficiência do sistema.** IF Sudeste MG - *campus* Rio Pomba, Minas Gerais, 10 a 12 de maio, 2017.

ROSA, A.P.; UTPATEL, R. Uso de enzimas nas dietas para frangos de corte. In: **Simpósio Brasil Sul De Avicultura**, 8. Anais... Chapecó, p. 102-115, 2007.

RUIZ, U.S.; THOMAZ, M.C.; HANNAS, M.I.; FRAGA, A.L.; WATANABE, P.H.; SILVA, S.Z. Complexo enzimático para suínos: digestão, metabolismo, desempenho e impacto ambiental. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.3, p. 458-468, 2008.

SAKOMURA, N.K.; ROSTAGNO, H.S. **Métodos de pesquisa em nutrição de não ruminantes**, 2 ed., Jaboticabal: Funep, p.262, 2016.

SANTIAGO, G.S. Suplementação enzimática a dietas com diferentes teores e fontes de proteína para coelhos em crescimento. **Tese (Doutorado)**. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, Minas Gerais. p.98, 2001.

SENS, R.F. Avaliação da suplementação das enzimas xilanase e β -mananase em rações para perus. **Dissertação (Mestrado)** em Ciências Veterinárias - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

SIGNOR, A. A.; LUCHESE, J.D.; COSTA, J.M.; FRIES, E.M.; SIGNOR, A.; FEIDEN, A.; BOSCOLO, W.R. Complexo enzimático na dieta de alevinos de kinguio (*Carassius auratus*). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 3, p. 1381-1388, 2013.

SIGNOR, A.A.; BOSCOLO, W.R.; FEIDEN, A.; SIGNOR, A.; REIDEL A. Triguilho na alimentação da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.): digestibilidade e desempenho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.4, p.1116-1121, jul./ago., 2007.

SILVA, J.T.; MENDES, H.R.C.; FONSECA, J.D.R.; OLIVEIRA, M.M.; AIURA, F.S., SOUZA, I.G.; PEREIRA, P.A.; SIMAS, D.A. Avaliação do desempenho da tambatinga alimentada com rações contendo a enzima protease. **Zootec**, Santos, SP. 2017. Disponível em: <<http://abz.org.br/trabalhos/avaliacao-do-desempenho-da-tambatinga-alimentada-com-racoes-contendo-enzima-protease/>>. Acesso em: 21 de maio de 2017.

SOTO-SALANOVA. M.F.; GARCIA, O.; GRAHAN, H. Uso de enzimas em dietas de milho e soja para frangos de corte. In: Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 1996, Curitiba. **Anais...** Campinas: FACTA. p.71-76, 1996.

TAVERNARI, F.C.; CARVALHO, T.A.; ASSIS, A.P.; LIMA, H.J.D. Polissacarídeo não-amiláceo solúvel na dieta de suínos e aves. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.5, n.5, p.673-689. 2008.

TEIXEIRA, A.O.; LOPES, D.C.; FERREIRA, V.P.A.; PENA, S.M.; NOGUEIRA, E.T.; MOREIRA, J.A.; BÜNZEN, S.; NERY, L.R. Utilização de enzimas exógenas em dietas com diferentes fontes e níveis de proteína para leitões na fase de creche. **R. Bras. Zootec**, 34(3): p. 900-906, 2005.

TEJEDOR, A.A.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S. Efeito da adição de enzimas em dietas de frangos de corte à base de milho e farelo de soja sobre a digestibilidade ileal de nutrientes. **Rev. Bras. Zootec.**, 30 (3): 809-816, 2001.

THORPE, J.; BEAL, J.D. Vegetable protein meals and the effects of enzymes. In: BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. **Enzymes in farm nutrition**. Londres: Cab International, p. 125-143, 2001.

TIBALDI, E.G.; CHINI Z. G.; PARISI, M.; BRUNO, G.; GIORGI, F.; TULLI, S.; VENTURINI, M.R.; TREDICI, B.M.; POLI. Growth performance and quality traits of

European sea bass (*D. labrax*) fed diets including increasing levels of freeze-dried *Isochrysis* sp. (T-ISO) biomass as a source of protein and n-3 long chain PUFA in partial substitution of fish derivatives. **Aquaculture**, v. 440, p. 60–68, 2015.

TORRES, D.M. Valor nutricional de farelos de arroz suplementados com fitase, determinado por diferentes metodologias com aves. **Tese (Doutorado)**. Lavras: UFLA, p.172, 2003.

VAN TRUNG, D.; DIU, N. T.; HAO, N. T.; GLENCROSS, B. Development of a nutritional model to define the energy and protein requirements of tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v. 320, n. 1–2, p. 69–75, 2011.

VERANI, J.R. Controle populacional em cultivo intensivo consorciado entre tilapia-donilo *Oreochromis niloticus* (LINNAEUS, 1757) e o tucunaré comum, *Cichla ocellaris* (SCHNEIDER, 1801) – aspectos quantitativos. **Dissertação (Mestrado)**. Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais. p.116, 1980.

WATANABE, T.; OHTA, M. Digestible and metabolizable energy of various diets for carp and rainbow trout. **Fisheries Science** v.61, n.2, p.215-222, 1995.

WENK, C. What are the benefits of carbohydrases in the nutrition of monogastric farm animals? **In: SYMPOSIUM KARTAUSE ITTINGEN, 1993, Switzerland. Enzymes in animal nutrition: proceedings**. Switzerland., p.41-48, 1993.

ZAVALA-CAMIM, L.A. **Introdução aos estudos sobre alimentação natural em peixes**. Maringá: Nupelia, 129p. 1996.

ZIMMERMANN, S.; FITZSIMMONS, K. **Tilapicultura intensiva**. *In: CYRINO, J. E. P., URBINATI E. C., FRACALOSSO D.M.; CASTAGNOLLI C. (Eds.). Tópicos Especiais em Piscicultura de Água Doce Tropical Intensiva*. São Paulo, TecArt, p.239-266, 2004.

YANG, Y.H., WANG, Y.Y., LU, Y., LI, Q.Z. Effect of replacing fish meal with soybean meal on growth, feed utilization and nitrogen and phosphorus excretion on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture International**, vol. 19, p. 405-419, 2011.

YILMAZ, H.A.; ERODOGAN, O.T. Effects of fish oil substitution with two different vegetable oil classes on fatty acid digestibility in juvenile European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.15, p.1-12, 2015.

YU, B.; TSEN, H.Y. An in vitro assessment of several enzymes for the supplementation of rabbit diets. **Animal Feed Science and Technology**, 40(4): p. 309-320, 1993.

CAPÍTULO 2

Complexo enzimático em dietas com níveis subótimos de Energia Digestível para juvenis de tilápia do Nilo

CAPÍTULO 2 - COMPLEXO ENZIMÁTICO EM DIETAS COM NÍVEIS SUBÓTIMOS DE ENERGIA DIGESTÍVEL PARA JUVENIS DE TILÁPIA DO NILO.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação de um complexo enzimático comercial (celulase e protease) em dietas extrusadas para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em sistema de recirculação de água, sobre o desempenho e a composição bromatológica das carcaças. Foram utilizados juvenis revertidos com peso médio de $16,82 \pm 1,76$ g, e com período experimental de 56 dias. O delineamento utilizado foi o delineamento inteiramente casualizado com os peixes, sendo distribuídos em cinco tratamentos (1+4), um de controle positivo (sem enzima) e quatro com enzimas. Nas dietas com enzimas, utilizou-se 500 ppm de um complexo enzimático, com os tratamentos diferenciados através da redução dos níveis de energia digestível (ED) de 0, 40, 80 e 120 kcal.kg⁻¹, em seis repetições, sendo a parcela experimental composta por 20 peixes por aquário. A suplementação de 500 ppm do complexo enzimático viabiliza a redução de ED em até 120 kcal.kg⁻¹, sem comprometer o desempenho zootécnico, exceto para a conversão alimentar, da mesma forma que mantém a composição bromatológica da carcaça de juvenis de tilápia do Nilo.

Palavras-chave: Nutrição de peixes, enzimas exógenas, *Oreochromis niloticus*.

CHAPTER 2 - ENZYME COMPLEX IN DIETS WITH SUBOPTIMAL LEVELS OF DIGESTIBLE ENERGY FOR JUVENILE NILE TILAPIA.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of supplementation of a commercial enzyme complex (cellulase and protease) in extruded diets for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in a water recirculation system, on carcass performance and bromatological composition. Sex-reversed juvenile individuals weighing an average $16,82 \pm 1,76$ g were evaluated after an experimental period of 56 days. The experimental design was completely randomized, with five treatments (1 + 4), one positive control (no enzyme) and four enzyme diets. In the enzyme treatments, 500 ppm of an enzyme complex were used, and treatments differed in the reduction of digestible energy (DE) levels (0, 40, 80, and 120 kcal.kg⁻¹). Six replicates were used, and the experimental plot consisted of 20 fish per aquarium. Supplementation of 500 ppm of the enzyme complex yielded a reduction in DE of up to 120 kcal.kg⁻¹ without compromising zootechnical performance, except for feed conversion, while maintaining carcass bromatological composition of juvenile Nile tilapia.

Keywords: fish nutrition, exogenous enzymes, *Oreochromis niloticus*.

1 INTRODUÇÃO

A piscicultura é uma das atividades agropecuárias que mais cresce em termos produtivos. Dentre as várias espécies, a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) vem se destacando por apresentar rusticidade, crescimento rápido, capacidade de adaptar-se em diferentes condições climáticas, carne de ótima qualidade e por não apresentar espinhos em forma de “Y” em seu filé (FURUYA *et al.*, 2005).

Considerando que a tilápia do Nilo aproveita bem os aminoácidos e monossacarídeos livres, é possível que a suplementação das rações com complexo enzimático, propicie o aproveitamento dos conteúdos proteico e energético, expressos nas consideráveis frações de polissacarídeos não amiláceos, PNAs e no amido que possa estar presente em ingredientes de origem vegetal, como farelos de soja e milho (OLIVEIRA *et al.*, 2007). Vale a pena ressaltar que os peixes não apresentam exigências nutricionais para carboidratos (NRC, 2011), mas este nutriente é frequentemente utilizado como fonte de energia.

Devido a proteína ser o componente mais oneroso das dietas, o aumento da utilização de aminoácidos e energia através da adição de enzimas exógenas pode ser uma alternativa lucrativa. As enzimas exógenas estão agregadas dentro do subgrupo funcional digestivo que faz parte do grupo de aditivos zotécnicos, que pode ser qualquer substância utilizada, para influir positivamente no desempenho dos animais (BRASIL, 2005).

De acordo com El-Sayed (2006), o valor energético de rações para tilápia do Nilo, expresso como energia digestível (ED), cujo valor de energia metabolizável (EM) é difícil de quantificar, por problemas associados à coleta dos metabólitos dos peixes. Todavia, como a perda energética via brânquias e excreção de urina é pequena, torna-se mais prático determinar o valor de ED, em relação ao valor de EM de um alimento ou ração.

Com isso, torna-se de suma importância o estudo do desempenho de peixes alimentados com dietas contendo o complexo enzimático composto de celulase e protease. Embora os complexos enzimáticos já estejam sendo usados, em escala industrial a aplicabilidade destes aditivos em rações para peixes ainda é escassa.

Diante disso, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito da suplementação de um complexo enzimático comercial (celulase e protease) em dietas extrusadas, com

diferentes reduções de ED sobre o desempenho e a composição bromatológica da carcaça de juvenis de tilápia do Nilo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição e Produção de Organismos Aquáticos (Labnut) do Departamento de Zootecnia (DZO), da Universidade Federal de Viçosa, MG (UFV). As dietas foram processadas na fábrica de ração do mesmo departamento. A pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFV, sob protocolo de número 062/2015, estando de acordo com os princípios éticos da experimentação animal.

Foram utilizadas 600 juvenis de tilápias do Nilo, revertidos, com peso médio inicial de $16,82 \pm 1,76$ g, por um período de 56 dias, oriundos da Estação de Piscicultura da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), em Leopoldina, MG. Os peixes foram transportados em sacos plástico com 1/3 de água e 2/3 de oxigênio, em jejum. O delineamento experimental adotado foi o delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições e cinco tratamentos (1+4), um de controle positivo (sem enzimas) e quatro com dietas 500 ppm do complexo enzimático. A diferença entre os tratamentos com enzima se fez através da redução da ED da dieta da seguinte forma: 0, 40, 80 e 120 kcal.kg⁻¹. A unidade experimental era composta por 20 peixes por aquário.

O aditivo enzimático utilizado para suplementação animal foi o VegPro/AllTech® (Tabela 1), sendo este um produto oriundo da fermentação dos organismos *Aspergillus niger* e *Trichoderma longibrachiatum*.

Este complexo enzimático comercial é indicado para melhorar a disponibilidade de aminoácidos e energia de rações animais, podendo também ser suplementado em dietas, para aves e suínos, sob Registro no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, n° PR-05224 00048.

Tabela 1 – Níveis de garantia do aditivo, segundo rótulo e protocolo do fabricante.

Enzima Exógena	Atividade Enzimática (U/g)
Protease (mín.)	7.500 ¹
Celulase (mín.)	45 ²

¹Uma unidade de HUT representa a quantidade de enzima que produz um hidrolizado de hemoglobina com a mesma absorvância a 275nm que uma solução contendo 1,10-ug/ml de tirosina em 0,006N HCl, em condições de pH 4,7 e a uma temperatura de 40° C, durante 30 minutos.

²Uma unidade de carboximetil celulose (CMCU) libera 1 micromole de açúcar redutor (expressado como equivalentes de glicose) de carboximetil celulose em um minuto, quando o ensaio é realizado a pH 4,8 e a 50°C, durante 10 minutos.

As dietas (Tabela 2) foram formuladas visando atender ou exceder a exigência da espécie de acordo com Furuya (2010).

Tabela 2 – Composição nutricional das dietas experimentais (matéria natural).

Ingrediente (g.kg ⁻¹)	Níveis de Energia Digestível (kcal.kg ⁻¹)				
	Sem enzima		Com enzima		
	3.040	3.040	3.000	2.960	2.920
Farelo de soja	563,40	563,50	552,90	542,10	531,50
Farelo de arroz	250,00	250,00	250,00	250,00	250,00
Milho moído	145,23	144,60	155,10	165,90	176,40
Soja concentrado	0,07	0,07	0,06	0,06	0,05
Fosfato bicálcico	24,60	24,60	24,70	24,70	24,80
Calcário calcítico	6,10	6,13	6,14	6,14	6,15
Sal comum	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Complexo enzimático	-	0,50	0,50	0,50	0,50
Suple. Vitam. e mineral ¹	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Vitamina C	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
BHT	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Composição calculada ²					
Matéria seca (g.kg ⁻¹)	891,0	891,1	890,0	890,8	890,6
Proteína bruta (g.kg ⁻¹)	300,0	300,0	296,1	292,1	288,2
Energia digestível (kcal.kg ⁻¹)	3.040	3.040	3.000	2.960	2.920
Fibra bruta (g.kg ⁻¹)	52,90	52,90	52,50	52,10	51,80
Extrato etéreo (g.kg ⁻¹)	50,30	50,90	50,40	50,40	50,30
Cálcio total (g.kg ⁻¹)	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Fósforo total (g.kg ⁻¹)	12,20	12,20	12,20	12,20	12,20
Fósforo disponível (g.kg ⁻¹)	6,50	6,50	6,50	6,50	6,50
Lisina total (g.kg ⁻¹)	17,70	17,70	17,40	17,10	16,90
Ácido linoleico (g.kg ⁻¹)	13,40	13,90	13,50	13,50	13,40
Composição analisada					
Matéria seca (g.kg ⁻¹)	925,90	930,00	922,70	922,70	931,20
Proteína bruta (g.kg ⁻¹)	324,90	323,00	312,80	296,70	294,50
Energia bruta (kcal.kg ⁻¹)	3.950	3.808	3.842	3.917	3.894
Fibra bruta (g.kg ⁻¹)	22,20	18,90	19,00	19,70	21,40
Extrato etéreo (g.kg ⁻¹)	1,70	2,97	1,40	1,90	2,90
Cálcio total (g.kg ⁻¹)	9,50	9,50	9,30	9,30	9,50
Fósforo total (g.kg ⁻¹)	8,90	8,90	8,70	8,60	8,70

¹Suplemento vitamínico e mineral comercial para peixes; níveis de garantia (por kg do produto): vit. A, 1.200.000 UI; vit. B1, 4.800 mg; vit. B12, 4,8 mg; vit. B2, 4.800 mg; vit. B6, 4.800 mg; vit. C, 48 g; vit. D3, 200.000 UI; vit. E, 1.200 mg; vit. K3, 2.400 mg; ác. fólico, 1.200 mg; biotina, 48 mg; pantotenato de

cálcio, 12.000 mg; cloreto de colina, 108 g; niacina, 24.000 mg; selênio, 100 mg; iodo, 100 mg; cobalto, 10 mg; cobre, 3.000 mg; ferro, 50.000 mg; manganês, 20.000 mg; zinco, 30.000 mg; veículo Q.S.P., 1.000 g; antioxidante, 25 g. ²Valores baseados no coeficiente de digestibilidade dos ingredientes de acordo com Furuya *et al.* (1996), Furuya *et al.* (2000), Bomfim *et al.* (2008), Botaro *et al.* (2007); Gonçalves *et al.* (2009); Lanna *et al.* (2004); Furuya *et al.* (2004), Furuya *et al.* (2006), Takishita *et al.* (2009); Bomfim *et al.* (2010); Rostagno *et al.* (2011); Furuya (2010).

No início do experimento, os peixes foram alimentados com dieta basal, *ad libitum* até saciedade aparente dos animais, distribuídas em quatro refeições diárias, mantidas em horários fixos (às 08:00, 11:00, 14:00 e 17:00 h), antes do início do experimento, os peixes passaram por um período de adaptação de uma semana. O fotoperíodo foi de 12 horas de luz, mantido por meio de iluminação proveniente de lâmpadas fluorescentes, controladas por *timer* automático.

O sistema de recirculação com temperatura controlada continha aquários de 150 L, dotado de abastecimento individual de água e aeração. Os parâmetros físico-químicos da qualidade da água para o cultivo da espécie em estudo (como o pH, a temperatura, o oxigênio dissolvido) foram avaliados com o auxílio de uma sonda tipo YSI Proplus multiparameter. A amônia foi quantificada de acordo com o método proposto pela APHA (2005). Esses parâmetros foram monitorados semanalmente e a limpeza das unidades experimentais, foi feita por meio de sifonagem, realizada diariamente.

Foram registrados os fornecimentos e as sobras de ração para posterior cálculo do consumo (g) e conversão alimentar ($\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Durante o período, foram registrados a taxa de mortalidade para correção do consumo. Para a determinação da taxa de crescimento específico (TCE), foi empregada a equação abaixo, utilizando-se transformações logarítmicas:

$$\text{TCE} = (100 \times (\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial}) / \text{dias de experimentação}).$$

Os ingredientes foram pesados, triturados em moinho Imbramaq®, peneirados em 0,8 mm (granulometria padronizada) e colocados em misturador horizontal de duas hélices, revestido em aço inox. Triturado por 10 minutos formando uma mistura homogênea dos ingredientes, umedecida com 20% de água. Utilizou-se uma extrusora modelo MX 40, Imbramaq®, capacidade de produção de 40 kg de extrusas por hora, em matrizes de 2 a 4 mm de diâmetro, que recebeu a mistura úmida, originando assim, dietas extrusadas.

Após a extrusão, as dietas foram armazenadas em estufas de ventilação forçada à 50°C, por 12 horas. Posteriormente, elas foram retiradas da estufa e colocadas para resfriar, em temperatura ambiente. Então foram pesadas, identificadas e embaladas em

sacos plásticos. O complexo enzimático foi adicionado nas rações “on top”, depois da extrusão, tendo como veículo solução de gelatina. As dietas prontas foram mantidas refrigeradas (4°C), em potes identificados até o momento de alimentar os peixes.

As amostras de rações extrusadas (alíquotas de 50 g, por tratamento) foram trituradas em moinho tipo bola e embaladas em potes plásticos providos de tampas com roscas e identificados. Estas foram enviadas para o CBO Análises Laboratoriais, em Campinas-SP. Os métodos analíticos seguiram as normas da AOAC (2000) e BRASIL (2005).

Os animais foram abatidos conforme as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal - CONCEA (BRASIL, 2009).

Ao final do experimento todos os peixes das unidades experimentais passaram por 24 horas de jejum para esvaziamento do trato gastrointestinal. Os peixes foram anestesiados com dose letal de uma solução de eugenol (Biodinâmica®, Ibiporã-PR) na proporção de 1:9 (v/v) com álcool comercial 98%, e concentração de 370mg.L⁻¹, por cinco minutos (VIDAL *et al.*, 2008). Em seguida foram inseridos em sacos plásticos, identificados por tratamento e repetição, congelados (-18°C/ duas semanas) inteiros com vísceras e escamas. Posteriormente os peixes foram triturados, acondicionados em embalagem de alumínio (tipo marmitex) com tampas e identificados do mesmo modo citado à cima, para em seguida serem liofilizados.

As carcaças foram liofilizadas segundo o método proposto por Detmann *et al.* (2012). Os métodos para as análises bromatológicas (matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, matéria mineral, cálcio e fósforo) dessas carcaças, seguiram as mesmas normas analíticas dos procedimentos descritos acima.

Os dados de desempenho e composição bromatológica das carcaças foram submetidos à análise de variância (ANOVA) sendo as médias comparadas pelo teste de Dunnet utilizando o software R, versão 3.2.3 (R CORE TEAM, 2015).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período experimental, os parâmetros de qualidade da água caracterizados por pH (6,4±0,16), temperatura (27,15±0,05°C), oxigênio dissolvido (6,37±0,16 ppm) e amônia total (0,015±0,003 ppm). O sistema de recirculação manteve a qualidade da água em níveis aceitáveis por Kubitzka (2000) e não influenciou no desempenho dos peixes.

A suplementação de 500 ppm do complexo enzimático nas rações, em detrimento a diferentes níveis de energia digestível, mantiveram os parâmetros zootécnicos avaliados semelhantes ao tratamento controle (Tabela 3).

Tabela 3 – Valores médios dos parâmetros de desempenho de juvenis de tilápia do Nilo, suplementados com complexo enzimático, por um período de 56 dias.

Parâmetro	Níveis de Energia Digestível (kcal.kg ⁻¹)					CV (%)
	Sem enzima	Com enzima				
	3.040	3.040	3.000	2.960	2.920	
PIM (g)	16,82±1,76	16,82±1,76	16,82±1,76	16,82±1,76	16,82±1,76	10,46
PFM (g)	42,20±1,66	39,50±1,72	38,13±0,47	43,36±1,08	42,65±1,75	3,46
GPMD (g.dia ⁻¹)	0,453±0,02	0,410±0,04	0,380±0,00	0,474±0,01	0,461±0,03	19,23
CRMD (g.dia ⁻¹)	0,585±0,05	0,566±0,06	0,558±0,03	0,648±0,04	0,643±0,02	8,11
CA (g.g ⁻¹)	1,29±0,13b	1,38±0,08b	1,49±0,12a	1,35±0,07b	1,40±0,12b	8,07
TCE (%)	1,64±0,06	1,54±0,10	1,46±0,02	1,69±0,04	1,65±0,07	4,23
SOB (%)	98,23±2,73	97,85±3,40	98,26±2,68	98,23±2,73	97,21±3,06	3,00

Médias seguidas na mesma linha por diferentes letras são diferentes estatisticamente, pelo teste de Dunnet. PIM: peso inicial médio; PFM: peso final médio; GPMD: ganho em peso médio diário; CRMD: consumo de ração médio diário; CA: conversão alimentar; TCE: taxa de crescimento específico; SOB: sobrevivência (100% - mortalidade). CV: coeficiente de variação.

Nos 56 dias do experimento foram avaliados os seguintes índices zootécnicos: peso inicial médio (PIM), peso final médio (PFM), ganho em peso médio diário (GPMD), consumo de ração médio diário (CMRD), conversão alimentar (CA) e taxa de crescimento específico (TCE) em juvenis de tilápia do Nilo.

Em estudos realizados por Moura *et al.* (2015), utilizando SSF (*solid state fermentation*) em rações extrusadas para tilápia do Nilo, observou-se diferença significativa ($P \leq 0,05$) para os parâmetros avaliados de peso final, ganho em peso e conversão alimentar, dentre os quais no presente estudo somente a CA mostrou-se com diferença significativa.

A redução de ED de 40 kcal.kg⁻¹ na ração, promoveu uma redução de 16,11% no GPMD em relação à dieta controle, podendo justificar o efeito ($P \leq 0,05$) sobre a CA dos peixes arraçados com 500 ppm do complexo enzimático, onde apenas o tratamento com redução calórica de 40 kcal.kg⁻¹ proporcionou um aumento CA dos peixes, que em termos zootécnicos é uma resposta negativa, pois o animal demandará mais ração (kg) para conversão em carne (kg).

O GPMD é um importante parâmetro de desempenho zootécnico. A melhora observada na taxa de crescimento dos peixes estaria relacionada à maior biodisponibilização de nutrientes promovida pela ação enzimática do complexo

enzimático, fato este que pode ser justificado devido as carboidrases e proteases, ao aproveitarem melhor o aporte de aminoácidos e a energia contidos na dieta, por resultar em melhorias no ganho em peso e conversão alimentar dos animais.

A dieta com enzima e redução de ED de 80 kcal.kg⁻¹ proporcionou GPMD com médias semelhantes à dieta controle ($P \geq 0,05$), obtendo-se uma média geral para esta variável igual a 0,435 g.dia⁻¹.

Para o CRMD dos peixes não houve diferença ($P \geq 0,05$) em razão da redução do nível de ED das dietas. Esses resultados estão consistentes com os obtidos por Martins *et al.* (2016) avaliando a inclusão do complexo enzimático SSF (*solid state fermentation*) em dietas para juvenis de tambacu (*Colossoma macropomum*), os quais também não constataram variação significativa na ingestão voluntária pelos animais.

Em relação aos dados de desempenho obtidos neste estudo foi verificada diferença ($P \leq 0,05$) apenas para o parâmetro CA, tendo o tratamento com enzima e redução de 40 kcal.kg⁻¹ de ED apresentado uma CA menos vantajosa, onde houve um decréscimo de 13,42%, ou seja, de 1,29 g.g⁻¹ (controle) para 1,49 g.g⁻¹ (dieta com redução de 40 kcal.kg⁻¹). Os resultados deste estudo não corroboram com os obtidos por Signor *et al.* (2010) em relação a CA, onde os autores observaram que a inclusão de um complexo enzimático (amilase, protease, lipase, pectinase, xilanase, α -glucanase e fitase) em dietas peletizadas para juvenis de tilápia do Nilo não houve efeito ($P \geq 0,05$) no ganho em peso dos animais, porém melhorou significativamente a conversão e eficiência alimentar de 1,50 g.g⁻¹ e 0,67% para 1,26 g.g⁻¹ e 0,80%, respectivamente.

Não ocorreram variações ($P \geq 0,05$) na taxa de crescimento específico e nem na sobrevivência dos juvenis de tilápia do Nilo com a inclusão do complexo enzimático e redução dos níveis de ED kcal.kg⁻¹.

De acordo com Nunes *et al.* (2006) a amilase e a lipase exógenas influenciam o desempenho zootécnico de juvenis de tambaqui, nos níveis de inclusão na ração de 0,05 e 0,20%. Já a adição de protease não influenciou o desempenho zootécnico de juvenis de tambaqui, em nenhum dos níveis de inclusão testados, diferente do que foi obtido com a presente pesquisa, onde a inclusão de protease influenciou negativamente na CA.

Para Cavero (2004) a adição de protease teve influência positiva no desempenho zootécnico de juvenis de pirarucu (*Arapaima gigas*) que exigem alta concentração de proteína na dieta, em razão do seu hábito alimentar, fato que este que explica o efeito inverso em peixes de hábito alimentar onívoro, como a tilápia do Nilo utilizada neste estudo, a qual demanda menor teor proteico na ração.

Em pesquisa avaliando a inclusão de um complexo enzimático SSF, em rações para peixes à base milho e farelo de soja, Moura *et al.* (2012) observaram resultados positivos no desempenho destes animais possibilitando uma utilização eficiente do amido e proteína, em que a suplementação com complexo enzimático melhorou o peso final e ganho em peso dos animais. Ressalta-se que o complexo enzimático utilizado por estes autores continha maior variabilidade de enzimas digestivas favorecendo o desempenho dos animais, o que não foi observado nessa pesquisa, pois utilizou-se somente celulase e protease.

Portanto, a suplementação do complexo enzimático em estudo permitiu a redução de ED em até 120 kcal.kg⁻¹, não proporcionando diferença (P≥0,05) em relação à dieta controle, o que é um indicativo da eficiência da enzima em liberar a energia da dieta. Este comportamento se dá pelo mecanismo de ação dessas enzimas, que agem na degradação de polissacarídeos não amiláceos, PNAs e na disponibilidade de aminoácidos que compõe a ração (celulase e protease), quebrando esses PNAs e disponibilizando a energia, antes indisponível, para o organismo.

Em relação às análises bromatológicas das carcaças de juvenis de tilápia do Nilo, não foi verificado diferença (P≤0,05) para as características avaliadas (Tabela 4).

Tabela 4 – Valores médios da composição bromatológica da carcaça de juvenis de tilápia do Nilo, suplementados com complexo enzimático, durante um período de 56 dias.

Parâmetro (%)	Níveis de Energia Digestível (kcal.kg ⁻¹)					CV (%)
	Sem enzima		Com enzima			
	3.040	3.040	3.000	2.960	2.920	
MS	97,17±0,6	93,05±0,9	93,99±0,9	93,85±1,0	94,95±1,4	1,04
PB	57,10±3,2	55,58±1,7	56,76±1,3	56,34±2,2	55,00±3,3	4,37
EE	20,78±3,4	20,69±3,3	19,00±4,3	21,39±4,0	21,96±2,9	17,40
MM	16,81±2,1	16,02±0,6	17,28±2,2	15,28±1,1	15,00±1,0	9,60
Ca	5,29±0,7	5,21±0,3	5,44±0,7	4,89±0,3	4,82±0,4	10,30
P	2,55±0,3	2,73±0,1	2,96±0,3	2,60±0,3	2,37±0,2	9,15

Médias seguidas na mesma linha por diferentes letras são diferentes estatisticamente pelo teste de Dunnet. MS: matéria seca; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; MM: matéria mineral; Ca: cálcio; P: fósforo. CV: coeficiente de variação.

A composição bromatológica de uma carcaça está diretamente relacionada à nutrição submetida antes do abate. Possivelmente, uma maior concentração de enzimas aplicadas na ração “on top” depois da extrusão poderia resultar em diferenças nas

variáveis analisadas. Uma vez que essas enzimas por facilitarem a digestão de PNAs, ao degradar essas moléculas, resultariam em menor percentagem de matéria seca.

Não houve diferença ($P \geq 0,05$) para a retenção de cálcio e fósforo contidos nas carcaças. Isso pode ser explicado pela baixa eficiência das enzimas em melhorar a biodisponibilidade destes minerais utilizados na ração. Relatos de Furuya *et al.* (2001) em estudos com tilápia do Nilo apresentaram aumento no ganho em peso, no rendimento de carcaça e na retenção de minerais nos ossos e melhoria na conversão alimentar. Os autores associam estes efeitos positivos a ação da fitase sobre a digestibilidade da proteína e disponibilidade dos minerais (cálcio e fósforo). Tal efeito não foi verificado no presente estudo devido a não utilização da enzima fitase que degrada as ligações do fitato com íons divalentes (fósforo e a molécula de inositol).

Em um estudo realizado por Moura *et al.* (2015) em dietas suplementadas com 500 ppm de SSF para alevinos de tilápia do Nilo, substituindo o farelo de soja por farelo de crumbe (5, 10 e 20%), observaram que houve diferença ($P \leq 0,05$) apenas para retenção de fósforo.

Os resultados encontrados na presente pesquisa corroboram com os relatos de Martins (2014) avaliou-se a composição bromatológica da carcaça de tilápia do Nilo alimentadas com rações elaboradas com a inclusão de SSF e observou-se que não houve efeito ($P \geq 0,05$) para os parâmetros analisados: porcentagem de matéria seca, matéria mineral, cálcio, extrato etéreo, proteína bruta e fósforo.

4 CONCLUSÃO

A suplementação de 500 ppm do complexo enzimático contendo celulase e protease, viabiliza a redução de ED em até 120 kcal.kg^{-1} , sem comprometer o desempenho zootécnico, exceto para a conversão alimentar, da mesma forma que mantem a composição bromatológica da carcaça de juvenis de tilápia do Nilo.

BIBLIOGRAFIA

AOAC, Association Of Official Analytical Chemists. **Ofcial methods of analysis of association of official analytical chemists**. 17. ed. Arlington, 2000.

APHA; AWWA; WPCF. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 21.ed., Washington DC: American Public Health Association APHA, 2005.

BOMFIM, M.A.D.; LANNA, E.A.T.; DONZELE, J.L. ABREU, M.L.T.; RIBEIRO, F.B.; QUADROS, M. Redução de proteína bruta com suplementação de aminoácidos, com base no conceito de proteína ideal, em rações para alevinos de tilápia-do-Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.10, p.1713-1720, 2008.

BOMFIM, M.A.D.; LANNA, E.T.A.; DONZELE, J.L.D.; QUADROS, M.; RIBEIRO, F.B.; SOUSA, M.P. Níveis de lisina com base no conceito de proteína ideal em rações para alevinos de tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.1, p.1-8, 2010.

BOTARO, D.; FURUYA, W.M.; SILVA, L.C.R.; SANTOS, L.D.; SILVA, T.S.C.; SANTOS, V.G. Redução da proteína da dieta com base no conceito de proteína ideal para tilápias-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) criadas em tanques-rede. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.3, p.517-525, 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Sindicato Nacional da Indústria de Alimentação Animal. Associação Nacional dos Fabricantes de Rações. **Compêndio brasileiro de alimentação animal**. São Paulo: ANFAR/CBNA/SDR, 2005.

BRASIL. **Decreto nº 6.899, de 15 de Julho de 2009**. Dispõe sobre a composição do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA, estabelece normas para o seu funcionamento e de sua Secretaria Executiva, cria o Cadastro das Instituições de Uso Científico de Animais – CIUCA, mediante a regulamentação da Lei 11.794, de 8 de outubro de 2008, que dispõe sobre procedimentos para o uso científico de animais, e dá outras providências.

CAVERO, B.A.S. Uso de enzimas digestivas exógenas na alimentação de juvenis de Pirarucu, *Arapaima gigas* (Cuvier, 1829). **Tese (Doutorado)** - Universidade Federal do Amazonas, Manaus. p. 79, 2004.

DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S.; LADEIRA, M.M.; AZEVEDO, J.A.G. **Métodos para Análise de Ingredientes - INCT - Ciência Animal**. 1. ed. Visconde do Rio Branco: Suprema, p. 214, 2012.

EL-SAYED, A.M. **Tilapia culture**. CABI, Wallingford, CT, USA. 2006.

FURUYA, W.M. **Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias**. Toledo-PR, p. 100, 2010.

FURUYA, W.M.; BOTARO, D.; SANTOS, V.G.; SILVA, L.C.R.; SILVA, T.C.; FURUYA, V.R.B.; SAKAGUTI, E.S. Exigência de lisina digestível para juvenis de tilápia-do-Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.937-942, 2006.

FURUYA, W.M.; BOTARO, D.; MACEDO, R.M.G. et al. Aplicação do conceito de proteína ideal para redução dos níveis de proteína em dietas para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, p.1433-1441, 2005.

FURUYA, W.M.; GONÇALVES, G.S.; FURUYA, V.R.B.; HAYASHI, C. Fitase na alimentação da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), durante o período de reversão de sexo. **Acta Scientiarum Animal Science**, v.26, n.3, p.299-303, 2004.

FURUYA, W.M.; GONÇALVES, G.S.; FURUYA, V.R.B.; HAYASHI, C. Fitase na Alimentação da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Desempenho e Digestibilidade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.3 p.924-929, 2001.

FURUYA, W.M.; HAYASHI, C.; FURUYA, V.R.B. Exigência de proteína para alevino revertido de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.6, p.1912-1917, 2000.

FURUYA, W.M.; HAYASHI, C.; FURUYA, V.R.B. Exigência de proteína para machos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) na fase juvenil. **Revista Unimar**, v.18, n.2, p.307-319, 1996.

GONÇALVES, G.S.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; ROCHA, D.R.; KLEEMANN, G.K.; SANTA ROSA, M.J. Energia e nutrientes digestíveis de alimentos para tilápia do Nilo. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.35, p.201-213, 2009.

KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí. 285p, 2000.

LANNA, E.A.T.; PEZZATO, L.E.; CECON, P. R.; FURUYA, W. M.; BOMFIM, M. A. D. Digestibilidade aparente e trânsito gastrointestinal em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em função da fibra bruta da dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p. 2186-2192, 2004.

MARTINS, M.G. Complexo enzimático SSF em rações para juvenis de tilápia do Nilo e tambacu. **Dissertação (Mestrado em Zootecnia)** – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, p.57, 2014.

MARTINS, M.G.; MOURA, G.S.; FERREIRA, T.A.; FERREIRA, A.L.; SANTOS, T.G.; PEDREIRA, M.M. Inclusão de complexo enzimático SSF em rações para juvenis de tambacu. **Archives of Veterinary Science**. ISSN 1517-784X. v.21, n.1, p.19-24, 2016.

MOURA, G.S.; PEDREIRA, M.M.; LANNA, E.A.T.; SANTOS, A.E.S.; FERREIRA, T.A.; PIRES, A.V. Crambre meal in diets supplemented with enzyme complex *solid state fermentation* (SSF) for Nile tilapia. **Academic Journals**. Vol. 10(4), p.289-294, 22 January, 2015.

MOURA, G. S.; LANNA, E. A. T.; FILER, K.; FALKOSKI, D. L.; DONZELE, J. L., OLIVEIRA, M. G. A.; REZENDE, S. T.; Effects of enzyme complex SSF (solid state

fermentation) in pellet diets for Nile tilapia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 10, p. 2139-2143, 2012.

NRC. National Research Council. **Nutrients Requirements of Fish and Shrimp**. Washington: National Academy Press. p. 376. OFFICER, D.I. Feed enzymes. *In*: D'Mello, J.P.F. (Ed.). Farm animal metabolism and nutrition. The Scottish Agricultural College, Edinburgh, UK. p. 405-426., 2011.

NUNES, E.S.S.; CAVERO, B.A.S.; PEREIRA-FILHO, M.; ROUBACH, R. Enzimas digestivas exógenas na alimentação de juvenis de tambaqui. **Pesq. agropec. bras.**, v. 41(1), p.139-14., 2006.

OLIVEIRA, G.R.; LOGATO, P.V.R.; FREITAS, R.T.F.; RODRIGUES, P.B.; FIALHO, E.T.; DIODATTI, F.C. **Digestibilidade de nutrientes em ração com complexo enzimático para tilápia-do-Nilo**. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 36, n. 6, p. 1945-1952, 2007.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R. Foundation dor Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <<http://www.R-project.org/>>. 2015.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C.; FERREIRA, A.S.; BARRETO, S.L.T. EUCLIDES, R.F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3ª ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. p. 252, 2011.

SIGNOR, A.A., BOSCOLO, W.R., BITTENCOURT, F., FEIDEN, A., GONÇALVES, G.S. E FREITAS, J.M.A. Desempenho de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com rações contendo complexo enzimático. **Revista Brasileira de Zootecnia**, vol.39, n.5, p. 977-983, 2010.

TAKISHITA, S.S.; LANNA, E.A.T.; DONZELE, J.L.; BOMFIM, M.A.D.; QUADROS, M.; SOUSA, M.P. Níveis de lisina digestível em rações para alevinos de tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.38, n.11, p. 2099-2105, 2009.

VIDAL, L. V. O.; ALBINATI, R. C. B.; LIRA., A. D.; ALMEIDA, T. R.; SANTOS, G. B. Eugenol como anestésico para tilápia do Nilo. **Pesq. Agropec. bras.**, Brasília, v. 43, n.8, p. 1069-1074, ago. 2008.

CAPÍTULO 3

Efeito do complexo enzimático na digestibilidade de nutrientes de dietas para juvenis de tilápia do Nilo

CAPÍTULO 3 - EFEITO DO COMPLEXO ENZIMÁTICO NA DIGESTIBILIDADE DE NUTRIENTES DE DIETAS PARA JUVENIS DE TILÁPIA DO NILO.

RESUMO

Com este estudo, objetivou-se avaliar o efeito do complexo enzimático sobre a digestibilidade de nutrientes e de energia bruta em rações para tilápia do Nilo. Foram utilizados 750 juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), revertidos, com peso inicial de $23 \pm 6,82$ g em delineamento inteiramente casualizado com três repetições (no tempo). Foram avaliados cinco tratamentos (1+4), um de controle positivo dieta (sem enzima) e quatro dietas com 500 ppm de um complexo enzimático. Nas dietas com complexo enzimático, elas foram diferenciadas pelo nível de energia digestível (ED) que foi reduzido em 0, 40, 80 e 120 kcal.kg⁻¹. A unidade experimental foi composta por 50 peixes por cubas de digestibilidade. A digestibilidade aparente foi estimada pelo método indireto usando óxido de crômico (Cr₂O₃), na concentração de 0,5%, como indicador de digestibilidade. Cada cuba recebeu um tratamento e as coletas das fezes foram realizadas durante o período da manhã (07:00 h) por um período de dez dias. A suplementação de 500 ppm do complexo enzimático contendo celulase e protease em dietas para juvenis de tilápia do Nilo, possibilita a redução do nível energético da ração sem comprometer a digestibilidade da proteína e do amido, favorecendo a digestibilidade da matéria seca e da energia bruta.

Palavras-chave: Enzimas exógenas, nutrientes, nutrição de peixes, *Oreochromis niloticus*.

CHAPTER 3 - EFFECT OF THE ENZYME COMPLEX ON THE DIGESTIBILITY OF NUTRIENTS IN DIETS FOR JUVENILE NILE TILAPIAS.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of the enzymatic complex on the digestibility of nutrients and gross energy in Nile tilapia feed. A total 750 sex-reversed juvenile Nile tilapias (*Oreochromis niloticus*) weighing an average $23 \pm 6,82$ g were evaluated in a completely randomized experimental design with three replicates (in time). The experiment consisted of five treatments (1+4), one positive control (diet with no enzyme) and four diets with 500 ppm of an enzyme complex; these four diets with enzyme complex differed in digestible energy (DE), which was reduced in 0, 40, 80, and 120 kcal.kg⁻¹. The experimental unit was composed of 50 fish per digestibility tank. Apparent digestibility was estimated by the indirect method, using 0.5% chromium (III) oxide (Cr₂O₃) as an indicator of digestibility. Each tank received one treatment, and feces were collected in the morning (7:00 AM) along a ten-day period. Supplementation of 500 ppm of the enzyme complex containing cellulase and protease in diets for juvenile Nile tilapia enables the reduction of the feed energy level without compromising digestibility of protein or starch, thus favoring digestibility of both dry matter and gross energy.

Keywords: exogenous enzymes, nutrients, fish nutrition, *Oreochromis niloticus*.

1 INTRODUÇÃO

Segundo Oliveira (2005), a digestibilidade de uma ração é definida como a habilidade com que o animal digere e absorve os nutrientes e a eficiência de aproveitamento da energia contidos na mesma. A digestibilidade verdadeira dos alimentos é aquela que leva em conta as perdas endógenas durante a excreção. Essas perdas são produtos da oxidação das proteínas, lipídeos e carboidratos (NRC, 1993).

Devido a uma ampla gama de fatores antinutricionais em dietas à base de plantas, o uso de complexos enzimáticos é uma alternativa para melhorar a utilização dos nutrientes de ingredientes vegetais em peixes. Além de reduzir os custos de produção para melhorar a digestibilidade, reduz a carga de poluição dos dejetos, permitindo uma melhor sustentabilidade do sistema (MOURA, 2011).

A utilização de enzimas exógenas como aditivo alimentar tem por objetivo aumentar a disponibilidade dos nutrientes presentes nos alimentos (YIN *et al.*, 2001). Vale ressaltar que os aditivos enzimáticos não possuem função nutricional direta, mas auxiliam no processo digestivo, melhorando a digestibilidade dos nutrientes presentes na dieta.

Os animais monogástricos, por sua vez, não possuem atividade de certas enzimas específicas, ou as produzem de maneira ínfima, limitando o número de substâncias potencialmente nutritivas. Dessa forma, a suplementação de enzimas exógenas na ração permite o aumento da digestibilidade de compostos que antes seriam eliminados, disponibilizando substratos destinados para a produção, seja ela de carne, leite ou ovos (CARVALHO, 2013).

A avaliação dos coeficientes de digestibilidade de um alimento é um importante instrumento na obtenção de seu valor nutricional para formulação de rações nutricionalmente completas para peixes e a sua determinação tem sido baseada em medidas feitas pela coleta das fezes dos animais, o que poderá depender fundamentalmente das condições e metodologias utilizadas na realização dos experimentos com digestibilidade (PORTZ, 2001).

Diante disso, objetivou-se com este trabalho determinar os coeficientes de digestibilidade aparente (CDAs) de nutrientes e da energia bruta em dietas extrusadas,

suplementadas com 500 ppm de um complexo enzimático (celulase e protease), com diferentes níveis de redução de energia digestível (ED) para juvenis de tilápia do Nilo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição e Produção de Organismos Aquáticos (Labnut) do Departamento de Zootecnia (DZO), da Universidade Federal de Viçosa, MG (UFV). As dietas foram processadas na fábrica de ração do mesmo departamento. A pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFV, sob o protocolo de número 062/2015, estando de acordo com os princípios éticos da experimentação animal.

Foram utilizadas 750 juvenis de tilápias do Nilo, revertidos, com o peso de $23 \pm 6,82$ g, oriundos da Estação de Piscicultura da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, EPAMIG, em Leopoldina, MG. Os peixes foram transportados em sacos plásticos com 1/3 de água e 2/3 de oxigênio, em jejum. O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado em três repetições e cinco tratamentos (1+4), um controle positivo dieta (sem enzimas) e quatro com 500 ppm de complexo enzimático. A diferença entre os tratamentos com complexo enzimático ocorreu através da redução da ED da dieta em 0, 40, 80 e 120 kcal.kg⁻¹. A unidade experimental era composta por 50 peixes por cuba de digestibilidade.

O aditivo enzimático utilizado para suplementação animal, foi o VegPro/AllTech® (Tabela 1), sendo este um produto oriundo da fermentação dos organismos *Aspergillus niger* e *Trichoderma longibrachiatum*. Este complexo enzimático comercial é indicado para melhorar a disponibilidade de aminoácidos e energia de rações animais, podendo também ser suplementado em dietas, para aves e suínos, sob Registro no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, n° PR-05224 00048.

Tabela 1 - Níveis de garantia do aditivo, segundo rótulo e protocolo do fabricante.

Enzima Exógena	Atividade Enzimática (U/g)
Protease (mín.)	7.500 ¹
Celulase (mín.)	45 ²

¹Uma unidade de HUT representa a quantidade de enzima que produz um hidrolizado de hemoglobina com a mesma absorvância a 275nm que uma solução contendo 1,10-ug/ml de tirosina em 0,006N HCl, em condições de pH 4,7 e a uma temperatura de 40° C, durante 30 minutos.

²Uma unidade de carboximetil celulose (CMCU) libera 1 micromole de açúcar redutor (expressado como equivalentes de glicose) de Carboximetil celulose em um minuto, quando o ensaio é realizado a pH 4,8 e a 50°C, durante 10 minutos.

O sistema de recirculação de água foi dotado com temperatura controlada e abastecimento individual de água e aeração. O fotoperíodo foi de 12 horas de luz, mantido por meio de iluminação proveniente de lâmpadas fluorescentes, controladas por *timer* automático.

O período experimental teve duração de cinco dias para adaptação dos animais, com a oferta da dieta basal (às 08:00, 11:00, 13:00 e 17:00 h). Os ensaios de digestibilidade aparente foram realizados em um período de quinze dias, com alimentação *ad libitum*, sendo cinco dias para adaptação dos animais à dieta basal e dez dias de alimentação com as dietas experimentais e coleta da digesta. As rações extrusadas e suplementadas foram ofertadas aos peixes e mantidas nos mesmos horários da dieta basal, já citada.

Os ingredientes do preparo das dietas foram pesados, triturados em moinho Imbramaq®, peneirados em 0,8 mm (granulometria padronizada) e colocados em misturador horizontal de duas hélices, revestido em aço inox, triturados por 10 minutos, promovendo uma mistura homogênea dos ingredientes e umedecida com 20% de água.

Utilizou-se uma extrusora modelo MX 40, Imbramaq®, com capacidade de produção de 40 kg de extrusas por hora, em matrizes de 2 a 4 mm de diâmetro, que recebeu a mistura úmida, originando assim, dietas extrusadas.

As rações foram extrusadas com adição de óxido de cromo 0,5% inseridos na formulação, sendo este um marcador inerte. O complexo enzimático foi adicionado “*on top*” nas extrusas, depois da extrusão, tendo como veículo solução de gelatina. As dietas prontas foram mantidas refrigeradas (4°C), em potes identificados, até o momento de alimentar os peixes.

A fim de determinar a digestibilidade dos nutrientes e da energia bruta das rações experimentais, foi utilizada a metodologia de Guelph modificado (SAKOMURA & ROSTAGNO, 2016). Nesta metodologia, as fezes são coletadas por decantação, sem a necessidade de sacrificar e/ou remover os peixes do aquário.

Os ensaios foram realizados por um período de dez dias. A coleta das excretas acontecia às 07:00 h da manhã, sendo o experimento montado às 19:00 h do dia anterior, totalizando em 12 h de decantação das fezes, para cada repetição. As bordas internas das cubas de digestibilidade foram escovadas diariamente, para evitar o acúmulo de matéria orgânica, a fim de que os peixes não se alimentassem das tais matérias e interferisse no consumo da ração.

Na Tabela 2 estão apresentadas as informações de composição nutricional das rações utilizadas no período experimental.

Tabela 2 - Composição da ração experimental (matéria natural).

	Níveis de Energia Digestível (kcal.kg ⁻¹)				
	Sem enzima		Com enzima		
Ingrediente (g.kg ⁻¹)	3.040	3.040	3.000	2.960	2.920
Farelo de arroz	250,0	250,0	250,0	250,0	250,0
Milho moído	145,23	144,60	155,10	165,90	176,40
Soja concentrado	0,07	0,07	0,06	0,06	0,05
Fosfato bicálcico	24,6	24,6	24,7	24,7	24,8
Calcário calcítico	6,10	6,13	6,14	6,14	6,15
Sal comum	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Complexo enzimático	-	0,50	0,50	0,50	0,50
Suple. Vitam. e mineral ¹	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Vitamina C	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
BHT	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Composição calculada²					
Matéria seca (g.kg ⁻¹)	891,0	891,1	890,0	890,8	890,6
Proteína bruta (g.kg ⁻¹)	300,0	300,0	296,1	292,1	288,2
Energia digestível (kcal.kg ⁻¹)	3.040	3.040	3.000	2.960	2.920
Fibra bruta (g.kg ⁻¹)	52,90	52,90	52,50	52,10	51,80
Extrato etéreo (g.kg ⁻¹)	50,30	50,90	50,40	50,40	50,30
Cálcio total (g.kg ⁻¹)	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Fósforo total (g.kg ⁻¹)	12,20	12,20	12,20	12,20	12,20
Fósforo disponível (g.kg ⁻¹)	6,50	6,50	6,50	6,50	6,50
Lisina total (g.kg ⁻¹)	17,70	17,70	17,40	17,10	16,90
Ácido linoleico (g.kg ⁻¹)	13,40	13,90	13,50	13,50	13,40
Composição analisada					
Matéria seca (g.kg ⁻¹)	900,29	900,99	900,35	900,67	900,68
Proteína bruta (g.kg ⁻¹)	298,80	300,02	295,40	291,00	291,10
Energia bruta (kcal.kg ⁻¹)	3.835	3.868	3.866	3.853	3.846
Fibra bruta (g.kg ⁻¹)	23,60	21,10	19,20	21,30	21,80
Amido (g.kg ⁻¹)	317,90	366,60	325,90	356,40	360,00
Cromo (mg.kg ⁻¹)	4,935	5,030	4,978	4,898	4,995

¹Suplemento vitamínico e mineral comercial para peixes; níveis de garantia (por kg do produto): vit. A, 1.200.000 UI; vit. B1, 4.800 mg; vit. B12, 4,8 mg; vit. B2, 4.800 mg; vit. B6, 4.800 mg; vit. C, 48 g; vit. D3, 200.000 UI; vit. E, 1.200 mg; vit. K3, 2.400 mg; ác. fólico, 1.200 mg; biotina, 48 mg; pantotenato de cálcio, 12.000 mg; cloreto de colina, 108 g; niacina, 24.000 mg; selênio, 100 mg; iodo, 100 mg; cobalto, 10 mg; cobre, 3.000 mg; ferro, 50.000 mg; manganês, 20.000 mg; zinco, 30.000 mg; veículo Q.S.P., 1.000 g; antioxidante, 25 g. ²Valores baseados no coeficiente de digestibilidade dos ingredientes de acordo com Furuya *et al.* (1996), Furuya *et al.* (2000), Bomfim *et al.* (2008), Botaro *et al.* (2007); Gonçalves *et al.* (2009); Lanna *et al.* (2004); Furuya *et al.* (2004), Furuya *et al.* (2006), Takishita *et al.* (2009); Bomfim *et al.* (2010); Rostagno *et al.* (2011); Furuya (2010).

O formato de funil das cubas possibilitou a coleta das amostras por gravidade, ou seja, as fezes foram encaminhadas para tubos coletores de plástico, acoplados com rosca, tipo mamadeira, com capacidade de 250 ml. Estas garrafas foram apoiadas em caixas térmicas com gelo, mantidas a uma temperatura de 0°C, a fim de inibir a

atividade enzimática e microbial do quimo, por um período de 12 horas, no período noturno, descrito acima. As amostras úmidas de excretas coletadas diariamente foram acondicionadas em geladeira (4°C) identificadas, pesadas, homogeneizadas por repetição, armazenadas sob refrigeração, durante a repetição (no tempo).

Em seguida, as excretas úmidas e refrigeradas foram transferidas para tubos de ensaio de plástico com capacidade para 50 mL, centrifugadas a 4.000 rpm, por 2 minutos, a temperatura de 4°C. Foram distribuídas em embalagem de alumínio (tipo marmitex) com tampas, identificadas e armazenadas em ultra-freezer (-80°C/12 h). Em seguida, foram liofilizadas (-40°C/48 h) pelo método proposto por Detmann *et al.* (2012).

Ao final do experimento, todas as amostras foram liofilizadas, peneiradas em malha de 1 mm, para a remoção das escamas e restos de rações, embaladas em potes plásticos, identificadas e encaminhadas para o CBO Laboratório de Análises, em Campinas-SP, para a determinação de matéria seca (%), energia bruta (cal.g⁻¹), proteína bruta (%), amido (%) e cromo (mg.kg⁻¹).

A metodologia usada foi segundo método descrito pela AOAC (2000), de acordo com os procedimentos descritos no Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal (BRASIL, 2005). O indicador inerte, óxido de crômio (Cr₂O₃), foi determinado nas rações segundo método de Graner (1972).

Utilizando o óxido de cromo, o coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) foi estimada através da seguinte equação, segundo Nose (1966):

Em que:

$$CDA = 100 - \left[100 \cdot \left(\frac{\%I_r}{\%I_f} \right) \cdot \left(\frac{\%N_f}{\%N_r} \right) \right]$$

CDA = coeficiente de digestibilidade aparente (%);

%I_r e %I_f = % de indicador na dieta e nas fezes, respectivamente;

%N_f e % N_r = % de nutriente nas fezes e na dieta, respectivamente.

Os dados dos coeficientes de digestibilidade aparente, CDAs foram submetidos à análise de variância (ANOVA) sendo as médias comparadas pelo teste de Dunnet utilizando o software R, versão 3.2.3 (R CORE TEAM, 2015).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios dos parâmetros dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes e energia bruta estão apresentados na (Tabela 3).

O consumo de ração foi igual para todos os tratamentos conforme a metodologia proposta, sendo que não foram observadas sobras de ração e mortalidade dos animais durante o período experimental.

Tabela 3 – Valores médios dos coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes em dietas suplementadas com complexo enzimático, para juvenis de tilápia do Nilo.

Parâmetro	Níveis de Energia Digestível (kcal.kg ⁻¹)					CV (%)
	Sem enzima		Com enzima			
	3.040	3.040	3.000	2.960	2.920	
CDA _{MS} (%)	67,30±0,67b	65,85±0,54b	67,30±0,99b	70,35±0,36a	68,32±4,47b	1,30
CDA _{PB} (%)	90,50±1,95	90,00±1,75	90,20±1,78	91,00±1,54	89,50±2,41	2,12
CDA _{Amido} (%)	84,50±0,40	76,30±0,86	76,00±2,15	79,20±1,75	84,00±5,52	2,63
CDA _{EB} , kcal.kg ⁻¹	74,00±4,70b	73,50±1,01b	74,70±0,57b	77,30±0,12a	73,50±1,89b	1,48

Médias seguidas na mesma linha por diferentes letras são diferentes estatisticamente, pelo teste de Dunnet. CDA_{MS}: coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca; CDA_{PB}: coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta; CDA_{Amido}: coeficiente de digestibilidade aparente do amido; CDA_{EB}: coeficiente de digestibilidade aparente da energia bruta. CV: coeficiente de variação.

O conhecimento dos valores de digestibilidade da energia e nutrientes dos alimentos utilizados para a formulação de rações, para uso na aquicultura se faz necessário para atender os anseios biológicos e econômicos da produção de organismos aquáticos. Além disso, é importante para a elaboração de rações que considerem o aspecto ambiental (FRACALOSSO *et al.*, 2013).

Os resultados para os valores médios dos CDA_{MS} variaram de 65,85 a 70,35% ($P \leq 0,05$). Segundo Austreng *et al.* (1978), o fato do alimento não ter sido digerido e absorvido dentro do trato digestório completamente, pode comprometer o coeficiente de digestibilidade dos nutrientes. Neste estudo, observa-se que a suplementação com as enzimas celulase e protease favoreceram a digestão da matéria seca.

Não houve efeito significativo ($P \geq 0,05$) para os CDA_{PB} e CDA_{Amido}. Desta forma observa-se que a suplementação com o complexo enzimático em estudo permite a redução da ED em rações para juvenis de tilápias do Nilo, sem comprometer os CDA_{PB} e CDA_{Amido}.

Com relação ao CDA_{EB} , houve diferença significativa ($P \leq 0,05$) quando adicionado 500 ppm do complexo enzimático, em que o tratamento com a redução de 80 kcal.kg⁻¹ apresentou o melhor CDA com valor igual a 77,30%.

Para Mota (2012), a energia bruta está relacionada diretamente com a concentração de compostos orgânicos presentes nos alimentos, dentre eles: proteína, lipídeos e carboidratos que compõem a matéria seca. Estes compostos apresentam diferentes graus de combustão, os quais fornecem energia em maior ou menor grau aos animais. Portanto, o CDA_{MS} possui alta correlação com o CDA_{EB} , ou seja, os $CDA_{MS}:CDA_{EB}$ apresentaram coeficiente de correlação linear $r = 0,8243$.

Pesquisas realizadas com diferentes inclusões de complexo enzimático em dietas para peixes, tais como juvenis de tilápia (*Oreochromis niloticus*), truta (*Oncorhynchus mykiss*) e tambaqui (*Colossoma macropomum*) apresentaram melhoria nos CDAs dos seguintes nutrientes: matéria seca, proteína bruta, amido, cálcio e fósforo e da energia bruta (OLIVEIRA *et al.*, 2007); matéria seca, proteína bruta, lipídios, fósforo e da energia (OGUNKOYA *et al.*, 2005); proteína bruta, extrato etéreo, carboidratos e da energia bruta (SILVA *et al.*, 2007) e proteína bruta, do extrato etéreo, do carboidrato e da energia bruta (GUIMARÃES *et al.*, 2009).

Para juvenis de tilápia, Oliveira *et al.* (2007) avaliaram o efeito da suplementação de celulase, protease e α -amilase sobre a digestibilidade dos nutrientes. A adição desse complexo apresentou efeito quadrático ($P \leq 0,05$) sobre os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes. Nesse caso, os autores citaram que a degradação da parede celular pode ter ocorrido devido à ação da celulase. De forma semelhante, com a inclusão de um complexo enzimático composto por amilase, xilanase, protease, celulase e α -galactosidase em dietas para truta, Ogunkoya *et al.* (2005) observaram aumento dos CDAs dos nutrientes em estudo.

Em juvenis de tambaqui, a inclusão de 0,05% de complexo enzimático composto por amilase, protease, lipase e celulase também resultou em maiores CDAs dos nutrientes da dieta. Guimarães *et al.* (2009) concluíram que a adição de complexo enzimático contendo lipase, carboidrase e protease, em rações à base de milho e soja para a tilápia do Nilo, melhorara significativamente os CDAs dos nutrientes.

Tais resultados corroboram com os obtidos neste estudo, apenas para os CDA_{MS} e CDA_{EB} ($P \leq 0,05$).

4 CONCLUSÃO

A suplementação de 500 ppm do complexo enzimático contendo celulase e protease em dietas para juvenis de tilápia do Nilo possibilita a redução do nível energético da ração, sem comprometer a digestibilidade da proteína e do amido, favorecendo a digestibilidade da matéria seca e da energia bruta.

BIBLIOGRAFIA

AOAC, Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of association of official analytical chemists**. 17. ed. Arlington, 2000.

AUSTRENG, E. Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segments of the gastrointestinal tract. **Aquaculture** 13, 265–272, 1978.

BOMFIM, M.A.D.; LANNA, E.A.T.; DONZELE, J.L. ABREU, M.L.T.; RIBEIRO, F.B.; QUADROS, M. Redução de proteína bruta com suplementação de aminoácidos, com base no conceito de proteína ideal, em rações para alevinos de tilápia-do-Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.10, p.1713-1720, 2008.

BOMFIM, M.A.D.; LANNA, E.T.A.; DONZELE, J.L.D.; QUADROS, M.; RIBEIRO, F.B.; SOUSA, M.P. Níveis de lisina com base no conceito de proteína ideal em rações para alevinos de tilápia-do-nylo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.1, p.1-8, 2010.

BOTARO, D.; FURUYA, W.M.; SILVA, L.C.R.; SANTOS, L.D.; SILVA, T.S.C.; SANTOS, V.G. Redução da proteína da dieta com base no conceito de proteína ideal para tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) criadas em tanques-rede. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.3, p.517-525, 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Sindicato Nacional da Indústria de Alimentação Animal. Associação Nacional dos Fabricantes de Rações. **Compêndio brasileiro de alimentação animal**. São Paulo: ANFAR/CBNA/SDR, 2005.

CARVALHO, B. R. Avaliação de um complexo enzimático em rações para frangos de corte com diferentes idades. **Dissertação (Mestrado)**. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Viçosa. p. 75, 2013.

DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S.; LADEIRA, M.M.; AZEVEDO, J.A.G. **Métodos para Análise de Ingredientes - INCT - Ciência Animal**. 1. ed. Visconde do Rio Branco: Suprema, p. 214, 2012.

FRACALOSSI, D.M.; RODRIGUES, A.P.O.; SILVA, T.S.C.; CYRINO, J.E.P. Técnicas experimentais em nutrição de peixes. *In*: FRACALOSSI, D.M.; CYRINO, J.E.P. NUTRIAQUA: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira. 1ª ed. Florianópolis: **Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática**. p.37-63, 2013.

FURUYA, W.M.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; BOSCOLO, W.R.; CYRINO, J.E.P.; FURUYA, V.R.B.; FEIDEN, A. **Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias**. Toledo: GFM. 100p. 2010.

FURUYA, W.M.; BOTARO, D.; SANTOS, V.G.; SILVA, L.C.R.; SILVA, T.C.; FURUYA, V.R.B.; SAKAGUTI, E.S. Exigência de lisina digestível para juvenis de tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.3, p.937-942, 2006.

FURUYA, W.M.; GONÇALVES, G.S.; FURUYA, V.R.B.; HAYASHI, C. Fitase na alimentação da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), durante o período de reversão de sexo. **Acta Scientiarum Animal Science**, v.26, n.3, p.299-303, 2004.

FURUYA, W.M.; HAYASHI, C.; FURUYA, V.R.B. Exigência de proteína para alevino revertido de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.6, p.1912-1917, 2000.

FURUYA, W.M.; HAYASHI, C.; FURUYA, V.R.B. Exigência de proteína para machos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) na fase juvenil. **Revista Unimar**, v.18, n.2, p.307-319, 1996.

GONÇALVES, G.S.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; ROCHA, D.R.; KLEEMANN, G.K.; SANTA ROSA, M.J. Energia e nutrientes digestíveis de alimentos para tilápia do Nilo. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.35, p.201-213, 2009.

GRANER, C.A.F. Determinação do crômio pelo método colorimétrico da S-difenilcarbazida. 1972. **Tese (Doutorado)** - Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1972.

GUIMARÃES, I.G.; FALCON, D.R.; SCHICH, D.; BARROS, M.M.; L.E. PEZZATO, L.E. Digestibilidade aparente de rações contendo complexo enzimático para tilápia-do-Nilo. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.6, p.1397-1402, 2009.

LANNA, E.A.T.; PEZZATO, L.E.; CECON, P. R.; FURUYA, W. M.; BOMFIM, M. A. D. Digestibilidade Aparente e Trânsito Gastrintestinal em Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em Função da Fibra Bruta da Dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p. 2186-2192, 2004.

MOTA, C.S. Diferentes métodos de coleta de fezes sobre os coeficientes de digestibilidade aparente para o tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Zootecnia)**, Universidade Federal De Goiás - UFG *campus* Jataí, 54p. 2012.

MOURA, G. S. Uso do complexo enzimático *solid state fermentation* (SSF) em rações para tilápias do Nilo. **Tese (Doutorado)** – Universidade Federal Viçosa. p., 63, 2011.

NOSE, T. **Recent advances in the study of fish digestion in Japan**. In: Symposium on Feeding Trout and Salmon Culture, SC II-7., Belgrade. Proceedings. Belgrade: EIFAC, p.17, 1966.

NRC, National Research Council. **Nutrient requirements of fish**. Washington, D.C.: National Washington Academy Press, 114p. 1993.

OGUNKOYA, A.E.; PAGE, G.L; ADEWOLU, M.A. *et al.* Dietary incorporation of soybean meal and exogenous enzyme cocktail can affect physical characteristics of

faecal material egested by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.254, p.466-475, 2005.

OLIVEIRA, G.R.; LOGATO, P.V.R.; FREITAS, R.T.F.; RODRIGUES, P.B.; FIALHO, E.T.; DIODATTI, F.C. **Digestibilidade de nutrientes em ração com complexo enzimático para tilápia-do-Nilo**. Revista Brasileira de Zootecnia, v. 36, n. 6, p. 1945-1952, 2007.

OLIVEIRA, P. R. Coeficiente de digestibilidade aparente de ingredientes para juvenis de Jundiá, *Rhamdia quelen*. **Dissertação (Mestrado)**. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. 39p., 2005.

PORTZ, L. Recentes avanços na determinação das exigências e digestibilidade da proteína e aminoácidos em peixes. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., Piracicaba. **Anais...** Piracicaba, CD-ROM. Palestras. Semi 36. 2001.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R. Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <<http://www.R-project.org/>>. 2015.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C.; FERREIRA, A.S.; BARRETO, S.L.T. EUCLIDES, R.F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3ª ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, p. 252, 2011.

SAKOMURA, N. K. ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de não ruminantes**, 2 ed., Jaboticabal: Funep, p.262, 2016.

SILVA, J.C.R. Efeito do complexo enzimático sobre o valor nutritivo e energético de dietas para poedeiras comerciais. **Dissertação (Mestrado)** em Zootecnia, UFRPE, 73p., 2014.

TAKISHITA, S.S.; LANNA, E.A.T.; DONZELE, J.L.; BOMFIM, M.A.D.; QUADROS, M.; SOUSA, M.P. Níveis de lisina digestível em rações para alevinos de tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.38, n.11, p.2099-2105, 2009.

YIN, Y.-L.; BAIDOO, S.K.; JIN, L.Z. *et al.* The effect of different carbohydrase and protease supplementation on apparent (ileal and overall) digestibility of nutrients of five hulless barley varieties in young pigs. **Livest. Prod. Sci.**, v.71, p.109-120, 2001.

ANEXO I



UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DE PRODUÇÃO
CEUAP/UFV

Campus Universitário – Viçosa, MG – 36570-900 – Telefone: (31) 3899.3275 – e-mail: ceuap@ufv.br – site: www.ceuap.ufv.br

Viçosa, 10/11/15

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "**Complexo enzimático em dietas extrusadas para tilápia do nilo**", protocolo nº **062/2015**, sob a responsabilidade de **Eduardo Arruda Teixeira Lanna** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo chordata, subfilo vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo conselho nacional de controle da experimentação animal (concea), e foi aprovado pela comissão de ética no uso de animais de produção da universidade federal de viçosa (ceuap-ufv) em reunião de **06/Nov/2015**.

Vigência do Projeto: de **01/11/2015** a **30/11/2016**

Espécie/linhagem: **Alevinos** Nº de animais: **1000**

Peso: **10 g** Idade: **—** Sexo: **Macho** Origem: **EPAMIG**

CERTIFICATE

We certify that the project entitled "**Enzyme complex in extruded diet for Nile tilapia**" protocol nº **062/2015**, under the responsibility of **Eduardo Arruda Teixeira Lanna** - which involves the production, maintenance and / or use of animals belonging to the phylum chordata, subphylum vertebrata (except man), for scientific research purposes (or education) - is in accordance with the law nº. 11.794, of October 8, 2008, Decree nº. 6899 of July 15, 2009, and the rules issued by the Brazilian National Council for Animal Experimentation Control (CONCEA), and was approved by the Ethics Commission on the use of farm animals of Universidade Federal de Viçosa (CEUAP-UFV) in its meeting on **Nov, 06th, 2015**.

Duration of the Project: from **Nov, 01st, 2015** to **Nov, 30th, 2016**.

Species / strain: **Fry** Nº of animals: **1000**

Weight: **10 g** Age: **—** Sex: **Male** Source: **EPAMIG**

Mário Luiz Chizzotti
Coordenador da CEUAP/UFV