



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ

JULLIANA DE CASTRO LIMA

**USO DE COMPLEXO ENZIMÁTICO NA DIETA DE JUVENIS DE PIRARUCU,
*Arapaima gigas***

ILHÉUS - BAHIA

2019

JULLIANA DE CASTRO LIMA

**USO DE COMPLEXO ENZIMÁTICO NA DIETA DE JUVENIS DE PIRARUCU,
*Arapaima gigas***

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Santa Cruz, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal

Área de concentração: Ciência Animal

Orientador: Prof. Dr. Luís Gustavo Tavares Braga

ILHÉUS - BAHIA

2019

L732

Lima, Julliana de Castro.

Uso de complexo enzimático na dieta de juvenis de pirarucu, *Arapaima gigas* / Julliana de Castro Lima. – Ilhéus, BA: UESC, 2019.

60f. : il.

Orientador: Luís Gustavo Tavares Braga.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Santa Cruz. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal.

Inclui referências e apêndices.

1. Piscicultura. 2. Rações – Aditivos. 3. Enzimas. 4. Metabolismo. I. Título.

CDD 639.3

JULLIANA DE CASTRO LIMA

**USO DE COMPLEXO ENZIMÁTICO NA DIETA DE JUVENIS DE PIRARUCU,
*Arapaima gigas***

Ilhéus – BA, 28/02/2019

Luís Gustavo Tavares Braga
UESC/DCAA
(Orientador)

Matheus Ramalho de Lima
UFSB/CFCAf

Marianne Schorer
UESC/DCAA

**ILHÉUS - BAHIA
2019**

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA);

à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (Fapesb) - PRONEM, processo 013/2014;

ao professor Dr. Luís Gustavo Tavares Braga pela oportunidade profissional e orientação acadêmica;

aos colegas do Laboratório de Nutrição e Alimentação de Peixes (AQUANUT): Ana, Deise, Joaldo e Mari;

à empresa Pratigi Alimentos pela confecção das rações base;

às equipes dos laboratórios de Nutrição Animal (LABNUT – UESC), Aquicultura (UNIVASF) e de Pesquisa em Química Analítica (LPQA - UESC); e aos professores Dr. Fernando Bibiano Melo, Dr. Raildo Mota e Dr. Wilson Furuya;

aos professores e colegas do PPGCA, especialmente, da turma de 2017;

aos meus queridos amigos da vida, Dil e Thales, e aos novos amigos e amigas que fiz ao longo dessa caminhada: Jacques, Dalmística, Jaci, Gal, Claudinha e Valterino, por todo apoio psicológico e incentivo; à Maria Joana pelos cuidados e inspiração!

Especialmente à minha família, que mesmo longe fisicamente, sempre esteve presente nesse processo: minha mãe Cláudia, meu pai Antônio e irmão Rhoman.

Sou muito grata a todas e todos que de alguma forma contribuíram direta ou indiretamente para a concretização dessa pesquisa!

USO DE COMPLEXO ENZIMÁTICO NA DIETA DE JUVENIS DE PIRARUCU, *Arapaima gigas*

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar a inclusão de níveis crescentes de um complexo enzimático na dieta de juvenis de pirarucu. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e três repetições. Foram testadas rações experimentais contendo 0,25, 0,50, 0,75 e 1 g kg⁻¹ de inclusão *on top* do complexo enzimático (*Aspergillus niger*), composto pelas enzimas protease (700 u g⁻¹), fitase (300 u g⁻¹) e as carboidrases: xilanase (100 u g⁻¹), betaglucanase (200 u g⁻¹), celulase (40 u g⁻¹), amilase (30 u g⁻¹) e pectinase (4000 u g⁻¹), e 0,1% de óxido de cromo III (Cr₂O₃) foi adicionado como marcador externo inerte. Foram utilizados 25 juvenis de pirarucu (65, 22 ± 0,38 – 99,08 ± 17,38 g), distribuídos em cinco aquários de digestibilidade (210 L). Os peixes foram alimentados três vezes ao dia até saciedade aparente. A digestibilidade aparente da matéria seca, proteína bruta e energia bruta foram calculadas por meio da quantificação dos nutrientes e teores de óxido de cromo nas dietas e nas fezes. As atividades enzimática e metabólica foram determinadas a partir de amostras do fígado e da porção anterior do intestino dos peixes. Também foi avaliada a composição química da carcaça eviscerada dos peixes. Os dados foram submetidos à análise de regressão e análise de variância seguida pelo teste de Tukey (p≤0,05). A inclusão do complexo enzimático interferiu nos coeficientes de digestibilidade aparente da proteína bruta, energia bruta e matéria seca, apresentando efeito quadrático, com incremento de 7,79%, 15,27% e 17,25%, respectivamente, do melhor nível encontrado em relação à dieta controle. A concentração de glicogênio no fígado aumentou linearmente com a inclusão do complexo enzimático enquanto que concentração de proteínas totais no fígado não apresentou diferença (p = 0,37) entre os níveis testados. A atividade das enzimas digestivas protease alcalina, lipase e amilase reduziram linearmente. A atividade da enzima aspartato aminotransferase, apesar de diferir entre os níveis com efeito quadrático, apresentou-se baixa em quaisquer dos níveis testados variando de 1,10 a 3,42 U mg⁻¹. Os maiores níveis de inclusão do complexo estão associados às maiores porcentagens de matéria seca, energia bruta e extrato etéreo na carcaça, porém não influenciaram a deposição de proteína bruta. Os resultados mostram que a suplementação com o complexo enzimático na dieta de juvenis de pirarucu aumenta a digestibilidade aparente da proteína bruta, energia bruta e matéria seca nos níveis de inclusão de 1,00 g kg⁻¹, influencia a atividade enzimática, o metabolismo e a composição química da carcaça.

Palavras-chave: piscicultura. ração. enzimas. atividade enzimática. metabolismo.

USE OF ENZYMATIC COMPLEX IN THE JUVENILE DIET OF PIRARUCU,

Arapaima gigas

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the inclusion of increasing levels of an enzymatic complex in the pirarucu juvenile diet. The experimental design was completely randomized with five treatments and three replicates. Experimental diets were tested containing 0.25, 0.50, 0.75 and 1 g kg⁻¹ on top of the inclusion complex enzyme (*Aspergillus niger*) composed of protease enzymes (700 u g⁻¹), phytase (300 u g⁻¹) and carbohydrases: xylanase (100 u g⁻¹), betaglucanase (200 u g⁻¹), cellulose (40 u g⁻¹), amylase (30 u g⁻¹), and pectinase (4000 u g⁻¹), also 0.1% chromium oxide III (Cr₂O₃) was added as an inert external marker. Twenty five juveniles of pirarucu (65.22 ± 0.38 - 99.08 ± 17.38 g) were used, distributed in five digestibility aquariums (210 L). The fish were fed three times daily until apparent satiety. The apparent digestibility of dry matter, crude protein and crude energy was calculated by quantifying the nutrients and levels of chromium oxide in diets and feces. The enzymatic and metabolic activities were determined from samples of the liver and the anterior portion of the fish intestine. It also was evaluated the chemical composition of fish eviscerated carcass. Data were submitted to regression analysis and analysis of variance followed by the Tukey test (p ≤ 0.05). The inclusion of the enzymatic complex interfered in the apparent digestibility coefficients of crude protein, crude energy and dry matter, presenting a quadratic effect, with an increase of 7.79%, 15.27% and 17.25%, respectively, of the best level found in relation to the control diet. The concentration of glycogen in the liver increased linearly with the inclusion of the enzyme complex, while the total protein concentration in the liver showed no difference (p = 0.37) between the levels tested. The activity of the digestive enzymes alkaline protease, lipase and amylase reduced linearly. The activity of the enzyme aspartate aminotransferase, although differing between the levels with quadratic effect, was low in any of the levels tested ranging from 1.10 to 3.42 U mg⁻¹. The higher levels of inclusion of the complex are associated to higher percentages of dry matter, crude energy and ethereal extract in the carcass, but did not influence crude protein deposition. The results show that supplementation with the enzymatic complex in the pirarucu juvenile diet increases the apparent digestibility of crude protein, crude energy and dry matter at inclusion levels of 1.00 g kg⁻¹, influences enzymatic activity, metabolism and the chemical composition of the carcass.

Keywords: fish culture. commercial food. enzymes. enzymatic activity. metabolism.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. OBJETIVOS	8
2.1. GERAL	8
2.2. ESPECÍFICOS	8
3. REVISÃO DE LITERATURA	9
3.1. PISCICULTURA	9
3.2. ESPÉCIE ALVO: <i>Arapaima gigas</i>	12
3.2.1. Taxonomia	12
3.2.2. Morfologia	12
3.2.3. Habitat e distribuição	12
3.2.4. Hábito alimentar	13
3.2.5. Reprodução	13
3.2.6. Legislação pesqueira	14
3.2.7. Cultivo da espécie	15
3.2.8. Nutrição	18
3.3. ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO DE PEIXES	20
3.4. INGREDIENTES ALTERNATIVOS	21
3.5. ADITIVOS ENZIMÁTICOS EM DIETAS PARA PEIXES	23
3.5.1. Proteases	24
3.5.2. Carboidrases	25
3.5.3. Fitase	26
3.6. DIGESTIBILIDADE	26
3.7. ANÁLISE ENZIMÁTICA E METABÓLICA	27
4. ARTIGO CIENTÍFICO	30
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	49
6. REFERÊNCIAS	50
APÊNDICE I - PROTOCOLO DE DIGESTÃO DAS AMOSTRAS PARA DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ÓXIDO DE CROMO III	56
APÊNDICE II - PROTOCOLOS DA ANÁLISE ENZIMÁTICA E METABÓLICA	57
APÊNDICE III - PROTOCOLOS DA ANÁLISE BROMATOLÓGICA	59

1. INTRODUÇÃO

Os custos fixos com a alimentação na piscicultura são elevados, principalmente para peixes carnívoros, como o pirarucu (*Arapaima gigas*), que requerem maiores níveis de proteína para suprir suas necessidades nutricionais e como a proteína é o macronutriente mais caro da dieta, o cultivo de espécies carnívoras apresenta custos de produção ainda maiores quando comparado com o de espécies herbívoras ou onívoras (MELO et al., 2012). Diante do declínio da oferta e elevado valor da farinha de peixe no mercado, considerada o ingrediente proteico padrão das rações aquícolas, surge a demanda crescente pela substituição parcial ou total desse insumo por fontes mais sustentáveis (PEZZATO et al., 2009).

Há uma tendência pela substituição da farinha de peixe por subprodutos da indústria de processamento de grãos e de carnes, porém os peixes apresentam limitações fisiológicas, como ausência ou insuficiência de determinadas enzimas, que impedem o aproveitamento de nutrientes presentes nas dietas compostas por esses ingredientes. Uma possível solução que tem apresentado resultados satisfatórios, apesar do restrito número de pesquisas, é a suplementação dessas dietas com aditivos que auxiliem a digestão e aumentem a digestibilidade dos nutrientes, como enzimas exógenas. Nesse contexto, os ensaios de digestibilidade são fundamentais para avaliar a viabilidade do uso de ingredientes alternativos e aditivos nas formulações, assim como conhecer o perfil enzimático e metabólico da espécie e suas possíveis alterações em função da alimentação.

2. OBJETIVOS

2.1. GERAL

Avaliar a inclusão de níveis crescentes do complexo enzimático composto por protease, fitase e as carboidrases: xilanase, betaglucanase, celulase, amilase e pectinase na dieta de juvenis de pirarucu.

2.2. ESPECÍFICOS

- Comparar o efeito de diferentes níveis de inclusão do complexo enzimático sobre a digestibilidade da matéria seca, proteína bruta e energia bruta das dietas experimentais;
- Avaliar a influência dos níveis de inclusão do complexo enzimático sobre a atividade de enzimas digestivas e metabolismo de juvenis de pirarucu;
- Comparar a composição química da carcaça dos juvenis de pirarucu submetidos às dietas com complexo enzimático.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. PISCICULTURA

O crescimento da população mundial gera uma demanda cada vez maior de alimento e da ação do homem sobre os recursos naturais. Diante do declínio dos estoques pesqueiros e consequente queda da captura, a aquicultura vem se desenvolvendo mundialmente para suprir essa demanda de alimento e já contribui mais que a pesca, responsável por 52% no fornecimento de pescado para alimentação humana (FAO, 2018). A Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) estima um crescimento de 89% na aquicultura brasileira até 2030, com perspectiva de produção de 1097,00 mil toneladas.

Os peixes são a fonte de proteína animal mais saudável e com maior produção, consumo e comercialização mundial (FAO, 2018). Os pescados são fontes de aminoácidos e ácidos graxos poli-insaturados, destacando-se a série ômega 3, além de fornecerem vitaminas A, D e complexo B e minerais, como cálcio e ferro (BORGES et al., 2011).

A média de consumo per capita no Brasil é de 14,4 kg por ano, entretanto, considerando as dimensões do país e peculiaridades de cada região, esse valor não reflete a realidade da maior parte do território que apresenta o consumo muito abaixo da média nacional. Apesar de o consumo brasileiro estar acima da média da América Latina (9,8 kg por ano) e do valor mínimo de consumo recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) de 12 kg por ano, ainda não acompanha a tendência mundial de 20,2 kg por habitante por ano (FAO, 2018).

A piscicultura é um setor da aquicultura em plena expansão que facilita o aproveitamento dos recursos naturais, preservando os recursos pesqueiros, e permite o desenvolvimento socioeconômico por meio da geração de emprego e renda. No Brasil, a atividade teve início com o cultivo de espécies exóticas e tornou-se a atividade agropecuária que mais cresce por ano no país. Esse crescimento somado às questões legais que impedem a introdução de espécies exóticas gerou a necessidade de investir em tecnologias voltadas ao cultivo de espécies nativas com grande potencial produtivo, como o tambaqui (*Colossoma macropomum*) e seus híbridos, pacu (*Piaractus mesopotamicus*), pirarucu (*Arapaima gigas*), dourado (*Salminus brasiliensis*), surubins (*Pseudoplatystoma* spp.), pirapitinga (*Piaractus*

brachypomus), matrinxã (*Brycon* sp.), jundiá (*Rhamdia quelen*), tucunaré (*Cichla ocellaris*), curimatã (*Prochilodus lineatus*), traíra (*Hoplias malabaricus*), lambari (*Astyanax* sp.) e outros (IBGE, 2018). A ictiofauna brasileira conta com cerca de 2587 espécies de peixe de água doce (BUCKUP et al., 2007) e 1297 espécies marinhas (MENEZES et al., 2003), entretanto, a participação das espécies nativas na piscicultura fica abaixo dos 40% (IBGE, 2018).

A produção aquícola no Brasil no ano de 2017 foi de 547,163 mil toneladas, com 88,68% representado pela produção de peixes (485,2 mil toneladas) com retração de 2,6% em relação ao ano anterior. O Paraná foi o maior estado produtor, seguido por São Paulo, Rondônia e Mato Grosso. A tilápia, uma espécie exótica, continua liderando a produção com mais da metade do total produzido (58,4%). O tambaqui e seus híbridos tambacu e tambatinga apareceram em seguida na lista com 18,2 e 8,7%, respectivamente. As demais espécies nativas cultivadas foram incluídas em “outros peixes” com o total de 10,8% (IBGE, 2018).

O censo aquícola mais recente aponta queda significativa na produção de peixes na região Norte do país (IBGE, 2018), maior produtor em 2016, com a despesca de 149,75 mil toneladas de peixes (29,5% do total). Nesse contexto, a produção do *A. gigas* foi de 8,64 mil toneladas (1,7% do total), em 7º lugar no ranking, ficando atrás de outras espécies nativas carnívoras produzidas (IBGE, 2017). Em 2017, a produção da espécie reduziu para 4,19 mil toneladas (IBGE, 2018). Os dados do censo aquícola em 2017 sofreram reduções significativas, como no Estado de Rondônia que apresentou queda de 56% na produção. Essas alterações refletem o cenário econômico e político do país, mas também podem ser atribuídas em parte a adequação na coleta de dados e análise estatística (IBGE, 2018), além das condições hídricas de importantes represas distribuídas nas regiões brasileiras.

A difusão da piscicultura pelas diversas regiões do país tem levado a demanda cada vez maior pela produção de juvenis de peixes. O objetivo das fases de larvicultura e alevinagem é aumentar as taxas de sobrevivência e crescimento para viabilizar o ciclo produtivo, sendo que o papel da alimentação é reconhecido como um dos mais complexos: torna-se necessário conhecer as propriedades de cada alimento, adequando-os aos estádios de desenvolvimento da espécie cultivada (SIPAÚBA-TAVARES; ROCHA, 1994, 2003; TEIXEIRA, 2008). As elevadas taxas de

mortalidade nessas fases iniciais de cultivo, consideradas como pontos críticos da cadeia produtiva, são, principalmente, relacionadas à alimentação e nutrição dos peixes (CESTAROLLI et al., 1997; PRIETO et al., 2006; SIPAÚBA-TAVARES; ROCHA, 1994) e mesmo assim as pesquisas que envolvem o manejo alimentar dos peixes em suas distintas fases de desenvolvimento são incipientes, principalmente com espécies carnívoras.

Apesar de existir a produção de larvas e juvenis de várias espécies de peixes no Brasil, como do pirarucu, muitas apresentam baixa qualidade, crescimento abaixo do potencial e taxas de sobrevivência insatisfatórias ou variáveis, ocasionando a descontinuidade da oferta no mercado (CONCEIÇÃO et al., 2009). Esses entraves são refletidos no alto valor do juvenil, comercializado entre R\$ 1,00 e R\$ 1,50 por centímetro, custo elevado quando comparado ao de outras espécies (REBELATTO JUNIOR et al., 2015).

Em 2014, a produção de juvenis de peixes foi de 797,43 mil milheiros, com variação negativa de 2,6% em relação à observada no ano anterior. Em 2015, foi de 955,61 mil milheiros, representando aumento de 16,2%, já em 2017, a produção foi de 1200,83 mil milheiros, 20,42% maior (IBGE, 2015, 2016, 2018), evidenciando a variação da oferta de juvenis no mercado.

O Brasil possui condições favoráveis para incrementar sua produção piscícola, como a ictiofauna diversa e ainda pouco explorada, extensa zona costeira, clima tropical e maior reserva de água doce do mundo. Entretanto, Prieto et al. (2006), destacavam processos produtivos pouco desenvolvidos devido à incipiência de informações sobre diferentes os estádios de desenvolvimento das espécies nativas com potencial zootécnico, o que ainda permanece na atualidade. Assim, torna-se necessário investir na geração de tecnologia nacional para aprimorar o cultivo das nossas espécies, explorando o potencial do Brasil de se tornar um dos maiores produtores de pescado do mundo.

3.2. ESPÉCIE ALVO: *Arapaima gigas*

3.2.1. Taxonomia

A espécie *Arapaima gigas* (SHINZ, 1822) é conhecida no Brasil como pirarucu, junção das palavras derivadas do Tupi “pira” (peixe) e “urucu” (vermelho) (QUEIROZ, 2000). Pertence à família Arapaimidae (Osteoglossidae) e superordem Osteoglossomorpha (do grego “língua óssea”), grupo de peixes primitivos, datado do período jurássico, que é considerado o mais antigo entre os teleósteos (BACA, 2001). Sua rusticidade é uma das principais características que permitiram seu destaque como alvo da piscicultura nacional (IMBIRIBA, 1996).

3.2.2. Morfologia

O pirarucu possui cabeça relativamente pequena e corpo alongado com coloração castanho clara a partir do nono mês de vida e avermelhada nos adultos nas nadadeiras dorsal, anal e na lateral do corpo em direção a cauda. O corpo é revestido de escamas espessas, com nadadeiras peitorais afastadas das ventrais e dorsal e anal próximas da caudal, boca grande e superior, placas e língua ósseas e os adultos apresentam pequenos dentes cônicos no maxilar (BARD; IMBIRIBA, 1986, 2001; IMBIRIBA, 1996; ROTTA, 2003).

Uma característica marcante é que além da respiração branquial, a espécie possui uma bexiga natatória altamente vascularizada que se comunica com o tubo digestivo, funcionando como pulmão e permitindo que os indivíduos capturem ar atmosférico pela boca e sobrevivam horas fora da água desde que suas escamas estejam úmidas. Os indivíduos adultos necessitam subir a superfície da água a cada 20 minutos para respirar enquanto os juvenis sobem mais frequentemente em cardume (BARD; IMBIRIBA, 1986).

Considerado o maior peixe de água doce do mundo, o pirarucu pode atingir três metros de comprimento e pesar 200 quilos no ambiente natural e, apesar do grande porte, é considerado inofensivo, sem espinhos ou dentes pontiagudos (IMBIRIBA, 2001; QUEIROZ, 2000).

3.2.3. Habitat e distribuição

O pirarucu é uma espécie de água doce típica de clima tropical e águas tranquilas com a temperatura variando de 24 a 31 °C (BARD; IMBIRIBA, 1986). Habita principalmente planícies de inundação, incluindo lagos e florestas alagadas, e

também transita por canais e rios nos períodos de seca (QUEIROZ, 2000; CASTELLO, 2008b). Ocorre naturalmente na Bacia Amazônica, encontrado no Peru, Bolívia, Guiana e Brasil (RODRIGUES et al., 2015).

3.2.4. Hábito alimentar

A espécie é carnívora e alimenta-se no ambiente natural principalmente de peixes (piscívora), tendo insetos, crustáceos e moluscos como complemento da dieta que varia em frequência e quantidade de itens de acordo com os ciclos sazonais. Sua estratégia alimentar é a forte sucção individual da presa, assim as folhas e sementes encontradas em seu conteúdo estomacal são atribuídas a ingestão acidental (IMBIRIBA, 2001; QUEIROZ, 2000).

Apesar de classificado como predador de topo de cadeia, Watson et al. (2013), ao realizar estudos com a população de várzeas da bacia do rio Essequibo, sudoeste da Guiana, sugerem que a espécie pode ser caracterizada como onívora baseando-se em isótopos de carbono e nitrogênio e características morfológicas, como dentes pequenos e numerosos rastros branquiais.

No ambiente de cultivo aceita dietas formuladas desde que as pós-larvas passem pelo período de treinamento alimentar que consiste na transição gradual do alimento vivo (zooplâncton) para as dietas inertes secas (CAVERO et al., 2003b; CRESCÊNCIO, 2001). O treinamento alimentar já faz parte da rotina nas estações de piscicultura que trabalham com a produção de juvenis.

3.2.5. Reprodução

O padrão migratório da espécie está diretamente relacionado a estratégias reprodutivas que se iniciam ainda no período seco aonde ocorre a formação dos casais e comportamento de corte. Os casais constroem os ninhos nas margens das várzeas e as fêmeas depositam os ovos, de forma parcelada, que eclodem de 3 a 5 dias depois que são fecundados pelos machos. As larvas permanecem no ninho durante cinco dias até a depleção das reservas vitelínicas. O macho apresenta cuidado parental e os juvenis nadam sobre sua cabeça por cerca de três meses até o nível da água baixar e eles se separarem migrando pelos os canais (BARD; IMBIRIBA, 1986; CASTELLO, 2008a; FONTANELE, 1948; QUEIROZ, 2000).

A primeira maturação sexual ocorre com aproximadamente 5 anos de idade quando os indivíduos medem cerca de 1,70 m e pesam entre 40 e 45 kg (IMBIRIBA,

2001; QUEIROZ, 2000). O sistema reprodutor tem características peculiares: as fêmeas possuem apenas o ovário esquerdo e os machos apenas o testículo esquerdo funcionais e não há dimorfismo sexual aparente exceto no período reprodutivo, quando o macho fica com a coloração mais escura na cabeça e a coloração vermelha fica mais intensa (BARD; IMBIRIBA, 1986; IMBIRIBA, 2001).

Ainda não existe um pacote tecnológico consolidado para a reprodução induzida no ambiente de cultivo e esse é uma das principais dificuldades encontradas pelos produtores da espécie unida a escassez de informações nutricionais nas diferentes fases de cultivo.

A espécie é bastante vulnerável a sobrepesca no período reprodutivo em ambiente natural, pois sua área de desova coincide com os canais que os pescadores utilizam para se locomover nos rios (CASTELLO, 2008a,b). Assim a reprodução e cultivo da espécie em ambiente confinado permite a preservação dos estoques naturais e garante a variabilidade genética, além de contribuir para a expansão da piscicultura nacional.

3.2.6. Legislação pesqueira

Diante do colapso da pesca do pirarucu na década de 70 e redução significativa dos estoques naturais, a atividade passou a ser regulamentada pelo Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). A primeira medida determina o tamanho mínimo de captura de 150 cm de comprimento total através da Portaria IBAMA nº 1534 de 1989. Em 1991 a Portaria IBAMA nº 480 altera o período de defeso da espécie na bacia Amazônica para 1º de dezembro a 31 de maio.

Em 1996 a espécie entrou na lista de espécies ameaçadas de extinção e o IBAMA decretou proibição da pesca. Em 1999 o IBAMA autorizou a pesca de forma sustentável respeitando a cota de captura de até 30% dos indivíduos adultos sendo necessário a contagem quando os peixes sobem para respirar.

A norma geral referente a pesca do pirarucu na Amazônia é a Instrução Normativa de nº 34 de 2004, que ratifica o período de defeso, tamanho mínimo de captura e estabelece o tamanho permitido para a comercialização das mantas frescas e secas de 1,20 e 1,10 m, respectivamente. Em junho de 2005 foi proibida a pesca, o transporte, armazenamento e comercialização da espécie no Estado do

Amazonas, exceto para os indivíduos provenientes de pisciculturas licenciadas, pesca de carácter científico e manejo de lagos autorizados.

Apenas no ano de 2015, através do Decreto Estadual nº 36083 de 23 de julho, a pesca sustentável do pirarucu foi regulamentada no Estado do Amazonas em Unidades de Conservação Estaduais, em Áreas de Acordo de Pesca e em áreas de relevante interesse socioambiental, instituídas pelo órgão estadual competente.

O pirarucu ainda é um dos peixes mais comercializados na região Amazônica (REBELATTO JÚNIOR et al., 2015), onde além da importância econômica, assume importância sociocultural de destaque nas comunidades ribeirinhas.

3.2.7. Cultivo da espécie

Os primeiros estudos sobre o cultivo da espécie foram realizados por Oliveira (1944) e Fontenele (1948) nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, respectivamente (IMBIRIBA, 2001). Após décadas de esforços, sua produção já ocorre por quase todas as regiões do país (ONO, 2011).

As principais características desejáveis para o seu cultivo que tem despertado o interesse dos produtores são a elevada taxa de crescimento, atingindo 10 kg no primeiro ano de cultivo (IMBIRIBA, 2001), possibilidade de cultivo em ambientes com baixa concentração de oxigênio dissolvido, altas densidades de estocagem, consumo de dietas formuladas (CAVERO et al., 2003a,b; ONO e al., 2008), bom desempenho em tanques rede (OLIVEIRA et al., 2012) e elevado rendimento de filé, com carne valorizada no mercado (ITUASSÚ et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2014).

De acordo com Lima et al. (2017), a escala de produção divide-se em alevinagem, recria, engorda e processamento. A reprodução ocorre naturalmente no ambiente de cultivo e a produção de juvenis se inicia com a captura no viveiro onde ocorre a reprodução, passando pelo treinamento alimentar, que dura em torno de 10 a 20 dias, e finaliza quando os peixes atingem entre 10 e 20 cm, totalizando cerca de um mês para a fase de alevinagem (LIMA et al., 2017; REBELATTO JUNIOR et al., 2015). A taxa de arraçoamento dos alevinos é de 8 a 10% do peso vivo, com rações formuladas com no mínimo 40% de proteína bruta. A taxa de sobrevivência pode atingir 100% devido à ausência de canibalismo nessa fase (IMBIRIBA, 2001).

A recria, geralmente realizada já nas propriedades com a finalidade de comercialização do peixe, antecede a fase de engorda, dura cerca de 100 dias e

objetiva aumentar a taxa de sobrevivência até os juvenis atingirem de 0,5 a 1 kg com 40 a 50 cm (LIMA et al., 2017). Recomenda-se que a recria ocorra em tanques escavados com tela de proteção ou em tanques rede com tampa para evitar a predação por pássaros quando os juvenis sobem para respirar (ONO; KEHDI, 2013). A fase de engorda se estende geralmente por um período de um ano até os peixes atingirem o tamanho de comercialização entre 10 e 13 kg, considerando as particularidades do mercado de cada região (LIMA et al., 2017; ONO; KEHDI, 2013).

O pirarucu pode ser cultivado em diferentes estruturas de cultivo, como viveiros escavados, barragens, tanques rede e tanques circulares de manta vinílica (LIMA et al., 2017). De acordo com Ono e Kehdi (2013), a espécie é mais cultivada em tanques escavados e açudes e apesar de apresentar bom desempenho em tanques rede para as fases de recria e engorda, o uso dessas estruturas ainda é pouco explorado no país.

Independente do sistema de cultivo, os parâmetros de qualidade da água devem ser monitorados e mantidos de acordo com as preferências da espécie. A temperatura da água deve ser mantida sempre na faixa de conforto térmico da espécie entre 28 e 30°, evitando variações bruscas. Temperaturas abaixo dessa faixa interferem negativamente na alimentação, reprodução e sanidade e temperaturas inferiores a 20 °C pode causar mortalidade. Como a espécie respira ar atmosférico, a temperatura do ar também pode interferir no desenvolvimento dos peixes e deve ser monitorada (ONO; KEHDI, 2013). A espécie é tolerante a uma ampla faixa de pH, entre 5 a 11,5, sem apresentar mortalidade (ONO; KEHDI, 2013), mas de acordo com Franco-Rojas e Peláez-Rodríguez (2007) se desenvolve bem em águas com valores de pH entre 6,5 e 8.

Um estudo realizado por Cavero et al. (2004) demonstrou que a espécie é resistente a elevadas concentrações de amônia no ambiente, apresentando 100% de sobrevivência a exposição de 25 mg L⁻¹ de amônia total, correspondendo a cerca de 2 mg L⁻¹ de amônia não ionizada (NH₃) que é tóxica a maioria dos peixes. Entretanto, é importante manter os níveis de NH₃ inferiores a 0,05 mg L⁻¹ (KUBITZA, 1998), faixa recomendada para o cultivo de peixes, evitando estresse fisiológico e redução do desempenho.

A espécie pode ser cultivada em águas com baixa disponibilidade de oxigênio dissolvido devido a sua capacidade de respirar ar atmosférico, mas durante os primeiros dias de vida as larvas possuem respiração exclusivamente branquial e necessitam de níveis superiores a 5 mg L^{-1} . A transição para a respiração aérea se inicia a partir do quinto dia de vida e se completa 15 dias após a eclosão (HALVERSON, 2013). Durante a recria e engorda, recomenda-se que os níveis sejam mantidos acima de 4 mg L^{-1} (LIMA et al., 2017) para garantir a disponibilidade de oxigênio para os processos biológicos dinâmicos que ocorrem no ecossistema aquático, como a fotossíntese e decomposição da matéria orgânica. Além disso, deve-se garantir que os níveis de gás carbônico não ultrapassem 20 mg L^{-1} , o que dificultaria a excreção desse gás, acumulando-se nas brânquias dos peixes e dificultando o processo respiratório (ONO; KEHDI, 2013)

Ambientes com alta turbidez interferem na alimentação dos peixes que são predadores visuais e precisam enxergar suas presas ou tratador durante o arraçoamento (LIMA et al., 2017). Águas com transparência superior a 60 cm são desejáveis na produção da espécie (ONO; KEHDI, 2013).

O pirarucu é um peixe de grande porte tradicionalmente comercializado em mantas nas formas fresca ou seca e salgada, comparado com o bacalhau, é popularmente conhecido com o “bacalhau da Amazônia” (BACA, 2001; ITUASSÚ et al., 2005). Por apresentar elevado rendimento de filé (50%), tem potencial para a produção de derivados e embutidos cárneos, como linguiça e hambúrguer de peixe. A produção do pirarucu também gera subprodutos com valor agregado que são tradicionalmente utilizados pela população como a língua óssea, as escamas, utilizadas como lixa e artesanato, e o couro, matéria prima na fabricação de bolsas, sapatos, cintos (IMBIRIBA et al., 1994).

Apesar da difusão do cultivo da espécie pelo país, potencial zootécnico e sua importância social, cultural e econômica no contexto amazônico, sua produção ocorre principalmente baseada nas experiências empíricas das fazendas produtoras. Estudos e tecnologias envolvendo a reprodução, nutrição, alimentação e sanidade da espécie são imprescindíveis para aperfeiçoar sua produção em larga escala de forma sustentável.

3.2.8. Nutrição

As exigências nutricionais dos peixes estão diretamente relacionadas com a idade, qualidade da água e características do sistema produtivo. A literatura sobre as exigências nutricionais do pirarucu em diferentes fases do cultivo ainda apresenta lacunas, entretanto, mais recentemente houve o interesse no desenvolvimento de pesquisas direcionadas ao manejo alimentar e a nutrição do pirarucu nas fases iniciais de cultivo em diferentes condições (CIPRIANO et al., 2015, 2016; MAGALHÃES-JÚNIOR et al., 2017).

Padilla-Pérez et al. (2003) recomendam o cultivo de juvenis em tanques-rede com taxa de alimentação de 6% da biomassa, mas a conversão alimentar de 3:1 e ganho de peso de 2,2 kg em 180 dias não foram satisfatórios. Já no estudo realizado por Oliveira et al. (2013), os juvenis atingiram 5,2 kg de ganho de peso em 210 dias de cultivo, com ração comercial peletizada com 40% de proteína bruta e a taxa de alimentação de 2,0% da biomassa, com conversão alimentar de 2,8:1.

Ono et al. (2008) ao testarem a digestibilidade aparente de nutrientes e energia de dietas com as relações 11, 10,1, 9 e 8 kcal energia digestível por grama de proteína bruta, encontraram os piores resultados para 9:1 e concluíram que a relação entre energia e proteína afeta a digestibilidade dos nutrientes para a espécie que digere melhor a gordura insaturada do óleo de soja quando comparada com a gordura saturada de aves.

Cipriano et al. (2015), objetivando determinar a digestibilidade aparente de ingredientes energéticos por juvenis da espécie, concluíram que o pirarucu tem capacidade de aproveitar a proteína do milho e do amido de milho, mas não digere de forma eficiente a energia dos ingredientes testados. Em outro estudo, Cipriano et al. (2016), ao testarem a digestibilidade de diferentes ingredientes, constataram que o pirarucu aproveita diferentes fontes proteicas de origem animal ou vegetal, mas a digestibilidade energética é melhor em ingredientes de origem animal. Os ingredientes testados foram as farinhas de peixe, de penas hidrolisada, de vísceras de aves e de carne e ossos e os farelos de soja e de glúten de milho, obtendo os melhores resultados para a farinha de peixe, seguida da farinha de vísceras de aves e de carne e ossos.

Os pesquisadores Ituassú et al. (2005), Del Risco et al. (2008) e Magalhães-Júnior et al. (2017) realizaram estudos com o objetivo de determinar os efeitos da

inclusão de níveis crescentes de proteína na alimentação de juvenis da espécie (Quadro 1). Os resultados indicam que os requerimentos proteicos de juvenis da espécie estão em torno de 40% de proteína bruta e 36% de proteína digestível, com cerca de 3000 kcal kg⁻¹ de energia digestível na dieta. A conversão alimentar aparente variou de 1,07 a 2,3, atingindo o melhor resultado com a taxa de alimentação de 3% da biomassa e frequência alimentar de cinco vezes ao dia, entretanto, o maior ganho de peso foi atingido com conversão alimentar aparente maior (2,03 ± 0,03) e frequência alimentar de três vezes ao dia.

Quadro 1. Resumo dos resultados de pesquisas científicas sobre diferentes níveis de inclusão de proteína em dietas para juvenis de pirarucu.

Peso inicial/ Sistema	Informações e manejo	Variáveis produtivas	Autores
120,6 ± 3,5 g/ Tanques-rede por 45 dias	Ração peletizada 2 vezes ao dia Proteína bruta: 48,6% Carboidratos: 29,5% Energia bruta: 5645 kcal kg ⁻¹ Fibra bruta: 1,2% Energia:proteína: 11,6	Ganho de peso: 233,5 ± 17,7g Conversão alimentar aparente: 2,3 ± 0,8 Taxa de crescimento específico: 2,4 ± 0,5	Ituassú et al. (2005)
86,8 ± 15,73g/ Taques de cimento por 84 dias	Alimentação 5 vezes ao dia com 3% da biomassa Proteína bruta: 40% Carboidratos: 31,42% Extrato etéreo: 7,79% Energia digestível: 3200 kcal kg ⁻¹ Fibra bruta: 1,31%	Ganho de peso: 382,1g Conversão alimentar aparente: 1,07 Taxa de crescimento específico: 0,86	Del Risco et al. (2008)
1,98 ± 0,50 kg/ Taques por 126 dias	Ração extrusada 3 vezes ao dia Proteína bruta: 39,25 Proteína digestível: 36,40% Extrato etéreo: 8,90% Energia digestível: 3109,77 kcal kg ⁻¹	Ganho de peso: 2,27 ± 0,11 kg Conversão alimentar aparente: 2,03 ± 0,03 Taxa de retenção proteica: 23,41 ± 0,29	Magalhães-Júnior et al. (2017)

3.3. ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO DE PEIXES

A finalidade da alimentação é obter energia e elementos necessários para a manutenção e crescimento dos tecidos dos peixes (NIKOLSKI, 1963). A dieta deve conter nutrientes necessários para o crescimento, saúde e reprodução da espécie. A partir do desenvolvimento tecnológico da piscicultura, surgiu a necessidade de investigar os requerimentos nutricionais dos peixes, que são mais altos durante as fases iniciais devido à elevada taxa de crescimento, exigindo alimentos com elevado conteúdo proteico e digestibilidade (FILIPETTO et al., 2005). Entretanto, as exigências nutricionais de muitas espécies de peixes, principalmente nessas fases, ainda são pouco compreendidas (PEIL et al., 2007).

Não existe um padrão nutricional entre as mais de 200 espécies produzidas mundialmente, considerando que as variações do ambiente interferem direta e indiretamente no metabolismo dos peixes (CYRINO et al., 2010). Deve-se considerar a plasticidade trófica dos peixes de água doce (ABELHA et al., 2001) e as peculiaridades de cada espécie, que diferem na forma de aproveitar diferentes ingredientes em relação a variações ambientais, ontogenéticas, comportamentais e individuais, assim como as peculiaridades relacionadas a alimentação no meio aquoso que leva a perda de nutrientes pela lixiviação das rações que não são consumidas imediatamente e o comprometimento da qualidade da água (LOVELL, 1989).

Uma das características nutricionais dos peixes é o alto requerimento de proteína na dieta (MELO et al., 2012). Considerada o macronutriente mais importante e mais caro das formulações, além do seu considerável potencial poluidor da água de cultivo (ROBINSON; LI, 1997), é requerida em maiores porcentagens para espécies carnívoras (CAVERO et al., 2004).

A relação entre energia e proteína exigida nas dietas para peixes é menor quando comparada com animais terrestres, já que estes demandam mais energia para se locomover, excretar compostos nitrogenados e regular a temperatura corporal (LOVELL, 1989). As formulações devem poupar a proteína equilibrando a relação energia:proteína ao incluir alimentos energéticos de menor custo. Se a dieta não for balanceada e essa relação for baixa, ocorre redução no crescimento, pois haverá maior demanda energética para a excreção de compostos nitrogenados, já o

excesso de energia pode provocar deposição de gordura na carcaça e reduzir o consumo de ração (BOOTH et al., 2013; SILVA; ANDERSON, 1995).

Nesse contexto, a farinha de peixe é considerada o ingrediente proteico padrão na aquicultura pelo seu perfil aminoacídico ser compatível com os requeridos pela maioria das espécies de peixe (HARDY, 2010). Entretanto, diante do crescimento acelerado da demanda mundial, esse insumo tornou-se caro (PEZZATO et al., 2009), além disso, sua fabricação depende dos estoques pesqueiros (problema ambiental) e sua fabricação nacional, por utilizar a fauna acompanhante de pescarias e resíduos da indústria de processamento, apresenta composição nutricional bastante variada. De acordo com Hardy (2010), a piscicultura de peixes carnívoros não pode ser considerada sustentável porque consome mais peixes selvagens, na forma de farinha e óleo, do que produz.

O manejo alimentar difere entre os sistemas de cultivo. No sistema semi intensivo o alimento natural complementa a dieta para que, em caso de deficiência nutricional na ração ofertada, os peixes consigam balancear sua alimentação de acordo com os alimentos disponíveis no ambiente. Nos sistemas intensivo e super intensivo todos os nutrientes essenciais para a sobrevivência e desenvolvimento da espécie precisam estar disponíveis nas dietas formuladas que assumem papel ainda mais importante na cadeia produtiva diretamente relacionado com o equilíbrio econômico da atividade (MELO et al., 2012).

Os custos com alimentação são expressivos, representando entre 60 e 80% do custo total de produção na piscicultura (KUBITZA, 1999; TEXEIRA et al., 2008). Este cenário incentiva pesquisadores a realizarem estudos com o objetivo de testar ingredientes alternativos para substituição parcial ou total da farinha de peixe nas dietas formuladas. Esses ingredientes podem ser de origem animal ou vegetal e geralmente apresentam maior disponibilidade e custo bastante inferior ao da farinha de peixe.

3.4. INGREDIENTES ALTERNATIVOS

A busca por novos ingredientes objetiva tornar a aquicultura mais competitiva no âmbito mundial, reduzindo os custos com alimentação e tratamento de efluentes. Cavalheiro et al. (2014) ressalta o potencial poluidor da farinha de peixe que

apresenta teores de fósforo, principal mineral responsável pela eutrofização dos ambientes aquáticos, acima das exigências da maioria das espécies de peixe cultivadas. Além disso, a utilização de ingredientes alternativos possibilita a utilização de subprodutos da indústria alimentícia que seriam destinados ao descarte.

A indústria de carnes, por exemplo, aproveita apenas de um terço a metade da biomassa produzida para a alimentação humana. O que seria um inconveniente devido aos custos com transporte e descarte adequado desses resíduos altamente perecíveis, torna-se uma oportunidade de agregar valor à produção com a fabricação de farinhas proteicas a partir de vísceras de aves, carne, carne e ossos, penas hidrolisadas e sangue, incorporadas em rações para alimentação animal (MEEKER, 2009).

A farinha de vísceras de aves é um subproduto dos abatedouros avícolas, resultado da cocção, prensagem e moagem das vísceras de aves, permitindo a inclusão de cabeças e pés. O nível proteico e perfil aminoacídico da farinha de vísceras de aves são semelhantes aos da farinha de peixe, mas a composição nutricional desse insumo varia de acordo com o processamento (NENGAS et al, 1999). Amplamente utilizada na alimentação animal, já que o Brasil é um dos maiores produtores de carne de frango do mundo (BARCELLOS, 2006), é considerada uma boa substituta para a farinha de peixes nas rações para peixes carnívoros (NENGAS et al, 1999) e onívoros (FARIA *et al.*, 2002; SIGNOR et al., 2007), contendo cerca de 60% de proteína bruta (PEZZATO et al., 2002).

Já a farinha de carne e ossos, apresenta cerca de 50% de proteína bruta (ALLAN; ROWLAND, 2005). É fabricada a partir de resíduos da carcaça e ossos de bovinos e suínos, sendo proibida, de acordo com a Instrução Normativa nº 34 de 2008 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), a inclusão de pêlos, cerdas, cascos, chifres, sangue, fezes, conteúdo estomacal e resíduos animais abatidos em estabelecimentos não autorizados (BRASIL, 2008). Como essa farinha é produzida com diferentes partes dos animais com diferentes formas de processamento, é considerada um ingrediente de baixo valor biológico e pode apresentar fatores antinutricionais e exigir suplementação de alguns aminoácidos ou da adição da farinha de peixe em pequenas quantidades na formulação para equilibrar o perfil aminoacídico.

Cipriano et al. (2016) avaliaram a digestibilidade desses ingredientes e encontraram os melhores resultados para digestibilidade da proteína para juvenis de pirarucu com a farinha de peixe, seguida pelas farinhas de vísceras de aves e carne e ossos.

Os ingredientes de origem vegetal também são uma importante fonte proteica na alimentação animal, incluindo peixes (MEURER; HAYASHI, 2003). Alguns farelos já são incorporados nas dietas para peixes, principalmente onívoros, substituindo parcialmente ou totalmente a farinha de peixe, destacando-se o farelo de soja (FERNANDES et al., 2000), que possui em torno de 45% de proteína bruta (PEZZATO et al., 2002; ZAMBOM et al., 2001) e bom valor nutricional, apesar de não ter um perfil balanceado de aminoácido (CYRINO et al., 2010).

Os ingredientes alternativos, tanto os subprodutos de origem animal quanto vegetal, podem apresentar fatores antinutricionais (CASTILLO; GATLIN, 2015) que impedem ou dificultam o aproveitamento de alguns nutrientes da dieta pelos peixes. Dentre eles, destacam-se os inibidores de protease, fitatos, glucosinolatos, taninos, saponinas, polissacarídeos não-amiláceos, antivitaminas, lectinas, glucosinolatos, gossipol e ésteres de forbol (FRANCIS et al., 2001), reduzindo o desempenho zootécnico e aumentando a excreção de nutrientes no ambiente. Paralelamente aos estudos sobre ingredientes alternativos, encontram-se investigações sobre o uso de aditivos nas formulações, como enzimas exógenas, como uma solução prática para aumentar os coeficientes de digestibilidade aparente e melhorar o desempenho produtivo dos peixes considerando as peculiaridades de cada espécie.

3.5. ADITIVOS ENZIMÁTICOS EM DIETAS PARA PEIXES

A complementação enzimática é amplamente utilizada nas dietas de aves e suínos, mas ainda pouco investigada na alimentação de peixes (CASTILLO; GATLIN, 2015) devido à instabilidade das enzimas submetidas às altas temperaturas, pressão e umidade envolvidas no processo de extrusão das rações e pela insistência da indústria em manter a farinha de peixe como principal ingrediente proteico nas rações.

Os aditivos enzimáticos não possuem função nutricional própria, mas auxiliam na digestão e absorção dos nutrientes, quebrando fatores antinutricionais, aumentando a digestibilidade das dietas e, conseqüentemente, reduzindo a

excreção de nutrientes para o ambiente, principalmente em animais jovens que apresentam o sistema gastrointestinal em formação (CAMPESTRINI et al., 2005; GUIMARÃES et al., 2009). No contexto da piscicultura, essa redução não caracteriza apenas um problema de ordem econômica, mas também ecológica, evitando a eutrofização dos corpos d'água com altos teores de nitrogênio e fósforo presente nas rações.

As enzimas comerciais são produzidas a partir de culturas aeróbias de bactérias, fungos e leveduras no processo de fermentação (STECH et al 2009), geralmente, bactérias do gênero *Bacillus sp.* e fungos do gênero *Aspergillus sp.* (CAMPESTRINI et al., 2005).

A suplementação enzimática permite incorporar na dieta enzimas que os peixes não podem sintetizar, como as fitases e betaglucanases, ou de complementar enzimas endógenas sintetizadas em menores quantidades pelos peixes, como as proteases e lipases (CAMPESTRINI et al., 2005). Os principais grupos de enzimas utilizadas são as proteases, carboidrases, lipases e fitases, classificadas de acordo com o substrato que atuam: proteínas, carboidratos, lipídeos e fitato, respectivamente. Essas enzimas são comercializadas individualmente ou como componentes de complexos multienzimáticos, como o produto da fermentação do fungo *Aspergillus niger*, composto pelas enzimas protease, fitase e as carboidrases: xilanase, betaglucanase, celulase, amilase e pectinase.

3.5.1. Proteases

A digestão das proteínas em peixes ocorre por meio da ação de diferentes proteases, destacando-se a pepsina, tripsina e quimiotripsina, endopeptidases que atuam em pontos específicos da molécula de proteína. O processo se inicia com a digestão ácida da pepsina no estômago com participação do ácido clorídrico e se completa com a ação de proteases alcalinas, como a tripsina e quimiotripsina, no intestino e cecos pilóricos (MORAES; ALMEIDA, 2014; RIBEIRO et al., 2012).

As proteases são enzimas endógenas secretadas naturalmente pelos peixes em quantidades adequadas para digerir alimentos naturais. Com a utilização de rações com alto teor proteico e a diversificação de diferentes fontes de proteína de origem animal e vegetal, os coeficientes de digestibilidade das dietas podem ser reduzidos, tornando oportuno complementar a ação dessas enzimas, principalmente

para animais jovens (SHI et al., 2016). A suplementação com proteases tem papel fundamental para as espécies carnívoras (RIBEIRO et al., 2012).

3.5.2. Carboidrases

As carboidrases reduzem carboidratos em açúcares simples e se dividem entre as que degradam amido ou polissacarídeos não amiláceos (MORAES; ALMEIDA, 2014). A amilase é a enzima responsável pela quebra das ligações glicosídicas dos polissacarídeos como o amido, comum em ingredientes de origem vegetal, disponibilizando mais energia, além de atuar na redução da viscosidade do conteúdo intestinal, auxiliando a ação de outras enzimas (STECH et al., 2009; STONE, 2003).

Os principais polissacarídeos não amiláceos, também chamados de fibras não amiláceas, são a celulose, hemicelulose, quitina e pectinas, presentes na parede celular de alimentos de origem vegetal (MEURER; HAYASHI, 2003; BRITO et al., 2008). De forma geral, animais não ruminantes não possuem enzimas capazes de hidrolisar essas moléculas (MEURER; HAYASHI, 2003; CAMPESTRINI et al., 2005). Esses carboidratos são considerados fatores antinutricionais quando ingeridos em quantidades elevadas, pois se ligam a grande quantidade de água, aumentando a viscosidade do bolo alimentar e, conseqüentemente, a velocidade de passagem pelo intestino o que reduz a ação das enzimas (BRITO et al., 2008).

A qualidade nutricional das dietas não depende apenas do seu conteúdo, mas também da capacidade de o animal digerir e absorver seus nutrientes. Como muitos ingredientes proteicos de origem vegetal apresentam polissacarídeos não amiláceos, a complementação enzimática permite que os peixes utilizem esses nutrientes como fonte de energia, além de diminuir a quantidade de resíduos não digestíveis. O farelo de soja, por exemplo, bastante utilizado em formulações para peixes, os possui na forma de pectinas, hemiceluloses e oligossacarídeos (BRITO et al., 2008) além de inibidores de proteases e lectinas (CAMPESTRINI et al., 2005).

As principais enzimas para digerir esse tipo de carboidratos são as xilanases, celulasas e as glucanases, não sintetizadas por animais não ruminantes (BRITO et al., 2008; CAMPESTRINI et al., 2005). Entre essas enzimas, a celulase, produto da fermentação de *Trichoderma viride*, apesar de não ser secretada por animais monogástricos (CAMPESTRINI et al., 2005), sua origem no trato gastrointestinal de

peixes é controversa, podendo ser atribuída a produção exógena de enzimas por bactérias (MORAES; ALMEIDA, 2014).

Um estudo realizado por Dalsgaard et al. (2012) constatou o aumento significativo na digestibilidade aparente de todos os nutrientes da dieta de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) contendo 34% de farelo de soja como fonte proteica com adição das enzimas glucanase ou protease.

Poucos estudos foram desenvolvidos com o objetivo de avaliar a suplementação enzimática como parte do pacote tecnológico do cultivo de espécies carnívoras da ictiofauna brasileira. A maioria dos trabalhos foca em espécies onívoras, que já apresentam enzimas endógenas capazes de atuar sobre alimentos de origem vegetal, principalmente com o uso da enzima exógena fitase (KUMAR et al., 2012).

3.5.3. Fitase

Produzida por espécies de bactérias, fungos e leveduras, a fitase industrial é proveniente da combinação gênica dos fungos *Aspergillus níger* e *Aspergillus ficum* (CAMPESTRINI et al., 2005). Não sintetizada por animais monogástricos, trata-se da enzima mais estudada como aditivo para dietas de peixes (STECH et al., 2009). A fitase hidrolisa a molécula de ácido fítico, ácido mio-inositol hexafosfórico, ou simplesmente fitato, na qual está ligada a maior porção do fósforo presente nos ingredientes de origem vegetal. O fitato apresenta outros fatores antinutricionais como quelante de minerais, proteínas e interfere na ação de enzimas como pepsina, tripsina e amilase (CAMPESTRINI et al., 2005). Assim, a adição da fitase nas dietas para peixes além de disponibilizar o fósforo dos vegetais e, conseqüentemente, reduzir a excreção desse nutriente deteriorando a qualidade da água, possibilita um melhor aproveitamento dos demais nutrientes.

3.6. DIGESTIBILIDADE

A digestão dos alimentos nos peixes ocorre principalmente no intestino, através de enzimas secretadas pelo pâncreas ou hepatopâncreas e algumas complementares pelo próprio intestino (TENGGAROEK et al., 2000). Assim, o desenvolvimento dos peixes está diretamente relacionado a sua nutrição, ou seja,

depende da capacidade de o animal secretar enzimas capazes de hidrolisar polímeros em monômeros absorvíveis (STECH et al., 2009).

A análise da digestibilidade é o primeiro passo para considerar a inclusão de novos ingredientes na dieta, pois, revela a parcela de nutrientes que foi digerida e absorvida pelo animal, permitindo a elaboração de dietas eficientes e com menor custo (PEZZATO et al., 2009; CIPRIANO et al., 2015). Considera-se que a espécie, idade, composição da dieta, processamento do alimento e a metodologia empregada na coleta das fezes são os principais fatores que influenciam os resultados dos coeficientes de digestibilidade aparente para peixes (BOMFIM; LANNA, 2004) e que alimentos com composições químicas semelhantes podem ter coeficientes de digestibilidade distintos (PEZZATO et al., 2002).

As metodologias mais utilizadas para estimar os coeficientes de digestibilidade em peixes são variações do sistema Guelph, que consiste na coleta as fezes decantadas no fundo de tanques cônicos através de um registro acoplado (ONO et al., 2008). Os peixes são alimentados até saciedade aparente com uma ração contendo um marcador inerte, principalmente o óxido de cromo III (Cr_2O_3) (BREMER NETO et al., 2003; WILLIAMS et al., 1962), que é quantificado nas fezes. O método é considerado indireto e estima coeficientes de digestibilidade aparente, porque não considera as perdas de nutrientes e nem quantifica produtos metabólicos a partir das fezes na água.

Como as espécies apresentam formas diferentes de aproveitar os nutrientes de um determinado ingrediente, o desenvolvimento da piscicultura de peixes carnívoros depende do conhecimento dos aspectos comportamentais e das exigências nutricionais das espécies (SOARES, 2008).

3.7. ANÁLISE ENZIMÁTICA E METABÓLICA

Os estudos sobre atividade enzimática em peixes buscam conhecer e explorar a capacidade fisiológica da espécie para utilizar diferentes alimentos e suas possíveis adaptações metabólicas, caracterizando o perfil e a quantidade de metabólitos na presença de diversos nutrientes (LUNDSTEDT et al., 2004; MELO et al., 2006, 2012, 2016; SOUZA et al., 2014).

As respostas enzimáticas e metabólicas à alimentação podem fundamentar a elaboração de dietas eficazes nutricionalmente e predição da digestibilidade de

novos ingredientes (LUNDSTEDT et al., 2004). O perfil enzimático está relacionado ao hábito alimentar da espécie, considerando que a fisiologia intestinal pode se adaptar (CAVALHEIRO et al 2014), e ao perfil dos nutrientes presentes na dieta (LUNDSTEDT et al., 2004; STECH et al., 2009).

Os peixes carnívoros geralmente apresentam alta atividade de proteases e possuem capacidade limitada para adaptar sua fisiologia digestiva e absorptiva de acordo com a qualidade nutricional da dieta, quando comparados com peixes herbívoros e onívoros, que, por sua vez, secretam quantidades maiores de carboidrases (RIBEIRO et al., 2012).

A partir desses estudos, os pesquisadores são capazes de fazer recomendações práticas para a elaboração de dietas para a espécie alvo. Como exemplo, na pesquisa desenvolvida por Corrêa et al. (2007), a partir da observação de alterações na atividade enzimática digestiva e implicações metabólicas os autores recomendam 28% de proteína e 40% de amido de milho em rações para tambaquis (*Colossoma macropomum*) para evitar o acúmulo de gordura na carcaça e alcançar a reposição de proteína. O aumento dos níveis de amido na dieta elevou a atividade da amilase e maltase e resultou em glicogênese do fígado, aumento nos triglicérides plasmáticos e lipogênese. Corroborando com Almeida et al. (2006), que concluíram que o tambaqui adapta as principais enzimas digestivas ao perfil da dieta. Foram observadas alterações nas proteases, amilase e lipase em resposta a diferentes níveis de inclusão de proteína e lipídeos nas rações.

Já Sunde et al. (2001, 2004) concluíram em estudos com salmão do Atlântico (*Salmo salar*) que as taxas de atividade da tripsina e quimiotripsina entre outros parâmetros bioquímicos podem ser utilizadas como um indicador do estado nutricional e capacidade digestiva, apresentando relação direta com o crescimento da espécie.

Entender mecanismos básicos da nutrição, como conhecer a especificidade de cada enzima digestiva e as condições em que atuam no trato gastrointestinal da espécie estudada, possibilita fazer inferências e previsões sobre a digestibilidade de novos ingredientes, tornando-se uma ferramenta importante para análises holísticas que consideram a ingestão, digestão, assimilação e absorção de nutrientes para a

elaboração de dietas balanceadas e sustentáveis (GLASS et al., 1989; KOLKOVSKI, 2001).

4. ARTIGO CIENTÍFICO

Os resultados dessa pesquisa serão apresentados na forma de artigo científico seguindo as normas do periódico *Aquaculture*, ISSN: 0044-8486.

**USO DE COMPLEXO ENZIMÁTICO NA DIETA DE JUVENIS DE PIRARUCU,
*Arapaima gigas***

Uso de complexo enzimático na dieta de juvenis de pirarucu, *Arapaima gigas*

Julliana de Castro LIMA¹; Luís Gustavo Tavares BRAGA^{1*}

¹ Laboratório de Nutrição e Alimentação de Peixes - AQUANUT, UESC, Rodovia Jorge Amado, Km 16 – Salobrinho, Ilhéus – BA – CEP: 45662-900. lgtbraga@gmail.com

* Autor correspondente

Resumo

Objetivou-se avaliar a inclusão de níveis crescentes de um complexo enzimático na dieta de juvenis de pirarucu. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e três repetições. Foram testadas rações experimentais contendo 0,25, 0,50, 0,75 e 1 g kg⁻¹ de inclusão on top do complexo enzimático (*Aspergillus niger*), composto pelas enzimas protease (700 u g⁻¹), fitase (300 u g⁻¹) e as carboidrases: xilanase (100 u g⁻¹), betaglucanase (200 u g⁻¹), celulase (40 u g⁻¹), amilase (30 u g⁻¹) e pectinase (4000 u g⁻¹), e 0,1% de óxido de cromo III (Cr2O3) como marcador externo inerte. Foram utilizados 25 juvenis de pirarucu (65, 22 ± 0,38 – 99,08 ± 17,38 g), distribuídos em cinco aquários de digestibilidade (210 L). Os peixes foram alimentados três vezes ao dia até saciedade aparente. A digestibilidade aparente da matéria seca, proteína bruta e energia bruta foram calculadas por meio da quantificação dos nutrientes e teores de óxido de cromo nas dietas e nas fezes. As atividades enzimática e metabólica foram determinadas a partir de amostras do fígado e da porção anterior do intestino dos peixes. Também foi avaliada a composição química da carcaça eviscerada dos peixes. Os dados foram submetidos à análise de regressão e análise de variância seguida pelo teste de Tukey (p≤0,05). A inclusão do complexo enzimático interferiu nos coeficientes de digestibilidade aparente da proteína bruta, energia bruta e matéria seca, apresentando efeito quadrático, com incremento de 7,79%, 15,27% e 17,25%, respectivamente, do melhor nível encontrado em relação à dieta controle. A concentração de glicogênio no fígado aumentou linearmente com a inclusão do complexo enzimático enquanto que concentração de proteínas totais no fígado não apresentou diferença (p = 0,37) entre os níveis testados. A atividade das enzimas digestivas protease alcalina, lipase e amilase reduziram linearmente. A atividade da enzima aspartato aminotransferase, apesar de diferir entre os níveis com efeito quadrático, apresentou-se baixa em quaisquer dos níveis testados variando de 1,10 a 3,42 U mg⁻¹. Os maiores níveis de inclusão do complexo estão associados às maiores porcentagens de matéria seca, energia bruta e extrato etéreo na carcaça, porém não influenciaram a deposição de proteína bruta. Os resultados mostram que a suplementação com o complexo enzimático na dieta de juvenis de pirarucu aumenta a digestibilidade aparente da proteína bruta, energia bruta e matéria seca nos níveis de inclusão de 1,00 g kg⁻¹, influencia a atividade enzimática, o metabolismo e a composição química da carcaça.

Palavras-chave: piscicultura. ração. enzimas. atividade enzimática. metabolismo.

Introdução

Sabe-se que a alimentação representa o maior custo de produção na piscicultura intensiva, principalmente de espécies carnívoras devido ao seu elevado requerimento de proteína (Melo et al., 2012). Os ingredientes proteicos alternativos à farinha de peixe, de origem animal ou vegetal, permitem a utilização de subprodutos da indústria alimentícia e redução dos custos, entretanto, esses ingredientes possuem fatores antinutricionais que dificultam e ou impedem o aproveitamento de alguns nutrientes das formulações. Por isso, paralelamente aos estudos sobre ingredientes alternativos, encontram-se investigações sobre o uso de aditivos nas formulações para aumentar os coeficientes de digestibilidade e melhorar o desempenho produtivo dos animais cultivados, considerando que a qualidade nutricional das dietas depende da capacidade de o animal digerir e absorver seus nutrientes (Stech et al., 2009).

O Arapaima gigas (Schinz, 1822), conhecido popularmente como pirarucu, é uma espécie nativa da bacia amazônica e tem se destacado como uma espécie carnívora promissora para o desenvolvimento da piscicultura nacional por ter sua carne valorizada pelo mercado, comparado ao bacalhau (Ituassú et al., 2005), e apresentar características desejáveis, como a taxa de crescimento de 10 kg por ano (Imbiriba, 2001) e se desenvolver em elevadas densidades em diferentes sistemas produtivos (Cavero et al., 2003; Oliveira et al., 2012).

A suplementação enzimática, que já é amplamente pesquisada e utilizada em formulações de aves e suínos, ainda é pouco investigada na alimentação de peixes e enfrenta o obstáculo da instabilidade das enzimas em diferentes condições de calor, pressão e umidade durante o processamento das rações para aquicultura (Guimarães et al., 2009; Shi et al., 2016).

Os aditivos enzimáticos auxiliam na digestão e absorção dos nutrientes e podem ser adicionadas na dieta com a finalidade de complementar quantitativamente a ação de enzimas endógenas ou suplementar as formulações com enzimas que os animais não são capazes de sintetizar (Campestrini et al., 2005; Stech et al., 2009).

Assim, conhecer o perfil enzimático da espécie e suas possíveis alterações metabólicas em função da alimentação em paralelo com os ensaios de digestibilidade das dietas revelam os mecanismos básicos da nutrição e são fundamentais para avaliar a viabilidade do uso de ingredientes alternativos e aditivos nas formulações.

Estudos realizados apresentam boas perspectivas para a suplementação enzimática em dietas para espécies carnívoras, melhorando a conversão alimentar, ganho de peso e crescimento para juvenis de tucunaré, *Cichla* sp. (Soares et al., 2008), bagre africano, *Clarias gariepinus* (Yildirim e Turan 2010) e salmão do Cáspio, *Salmo trutta caspius* (Zamini et al., 2014); aumentando a digestibilidade das rações com fontes proteicas de origem vegetal para truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss* (Dalsgaard et al., 2012, 2016; Drew et al., 2005), juvenis de dourada, *Sparus aurata* (Ayhan et al., 2008) e de salmão do Atlântico, *Salmo salar* (Jacobsen et al., 2018) e elevando para 93% a absorção de fósforo e reduzindo em até 98% a excreção desse nutriente nas fezes em truta arco íris (Sugiura et al., 2001), além de aumentar a atividade enzimática e a riqueza e diversidade da microbiota intestinal para o linguado, *Scophthalmus maximus* (Diógenes et al., 2018).

Nesse contexto, objetivou-se testar a inclusão de níveis crescentes do complexo enzimático composto por protease, fitase e as carboidrases: xilanase, betaglucanase, celulase, amilase e pectinase na dieta de juvenis de pirarucu.

Material e Métodos

O estudo foi conduzido no Laboratório de Nutrição e Alimentação de Peixes (AQUANUT) da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus, Bahia, Brasil, com autorização da Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA (processo nº 023/2017). No ensaio de digestibilidade, 25 juvenis de pirarucu ($65,22 \pm 0,38$ g) foram distribuídos em cinco aquários de digestibilidade com capacidade de 210 L, adaptados para a coleta de fezes em um sistema fechado, com recirculação de água através de bombas e filtro biológico com aeração constante e aquecedores com termostato, regulados para 28°C. Durante o período de uma semana de adaptação as condições laboratoriais, os peixes foram alimentados com a ração comercial (4-6 mm, 35% de proteína digestível e 3000 kcal kg⁻¹ de energia digestível), confeccionada pela empresa Pratigi Alimentos, e ficaram em jejum 24 horas antes do fornecimento das dietas experimentais.

As dietas testadas foram isoproteicas (35% de proteína digestível) e isocalóricas (3000 kcal kg⁻¹ de energia digestível) (Cipriano et al., 2015, 2016), formuladas com auxílio do programa SUPER CRAC[®], incluindo as farinhas de peixe, carne e ossos e vísceras de frango e farelo de soja como fontes proteicas (Tabela 1). A ração base foi reprocessada em laboratório para a obtenção das dietas experimentais: triturada, pesada e foram adicionados

níveis crescentes do complexo enzimático *on top*, produto da fermentação do fungo *Aspergillus niger*, composto pelas enzimas composto pelas enzimas protease (700 u g⁻¹), fitase (300 u g⁻¹) e as carboidrases: xilanase (100 u g⁻¹), betaglucanase (200 u g⁻¹), celulase (40 u g⁻¹), amilase (30 u g⁻¹) e pectinase (4000 u g⁻¹), e 0,1% de óxido de cromo III (Cr₂O₃) como marcador inerte externo (Bremer Neto et al., 2003). Após a homogeneização, foram adicionados 25% de água (35 °C) para o processo de peletização utilizando a matriz de 4-6 mm e posterior secagem em estufa com ventilação forçada a 50°C por 24 horas.

Tabela 1. Composição das dietas experimentais para juvenis de pirarucu

Ingrediente (%)	Complexo enzimático (g kg ⁻¹ ração)				
	0,00	0,25	0,50	0,75	1,00
Farelo de trigo 16%	16,1000	16,1000	16,1000	16,1000	16,1000
Farelo de soja 45%	27,4000	27,4000	27,4000	27,4000	27,4000
Farelo de glúten de milho 60%	15,0000	15,0000	15,0000	15,0000	15,0000
Farinha de peixe 55%	6,0000	6,0000	6,0000	6,0000	6,0000
Farinha de carne e ossos 45%	11,0000	11,0000	11,0000	11,0000	11,0000
Fubá de milho	12,0000	12,0000	12,0000	12,0000	12,0000
Farinha de vísceras de aves 58%	7,1000	7,1000	7,1000	7,1000	7,1000
Óleo de soja	4,5000	4,5000	4,5000	4,5000	4,5000
Premix vitamina-minerais ¹	0,5000	0,5000	0,5000	0,5000	0,5000
Sal comum	0,2870	0,2870	0,2870	0,2870	0,2870
Antifúngico BHT ²	0,0800	0,0800	0,0800	0,0800	0,0800
Antioxidante	0,0130	0,0130	0,0130	0,0130	0,0130
Vitamina C	0,0200	0,0200	0,0200	0,0200	0,0200
Complexo enzimático (g kg ⁻¹ ração)	0,0000	0,2500	0,5000	0,7500	0,1000
Óxido de cromo (g kg ⁻¹ ração)	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Composição centesimal					
Matéria seca (%)	93,4570	93,0851	93,4570	93,2771	92,6111
Proteína bruta (%)	42,0621	40,4597	39,2240	39,0853	38,7370
Proteína digestível (%)	35,0028	35,0028	35,0028	35,0028	35,0028
Energia bruta (kcal kg ⁻¹)	4947	5173	4857	4992	4960
Energia digestível (kcal kg ⁻¹)	3098	3098	3098	3098	3098
Matéria mineral (%)	11,1587	10,9034	10,9638	10,9468	10,6763
Extrato etéreo (%)	8,8951	8,8951	8,8951	8,8951	8,8951
Fibra bruta (%)	3,6646	3,6646	3,6646	3,6646	3,6646
Fósforo total (%)	1,5557	1,5557	1,5557	1,5557	1,5557
Lisina total (%)	1,9728	1,9728	1,9728	1,9728	1,9728
Metionina + cistina total (%)	1,3952	1,3952	1,3952	1,3952	1,3952
Metionina total (%)	0,7926	0,7926	0,7926	0,7926	0,7926
Amido (%)	15,1370	15,1370	15,1370	15,1370	15,1370
Cálcio (%)	2,1105	2,1105	2,1105	2,1105	2,1105

¹Premix vitamínico mineral (composição/ kg do produto): vitamina A = 6.000.000 UI; vitamina D3 = 2.250.000 UI; vitamina E = 75.000 mg; vitamina K3 = 3.000 mg; vitamina tiamina= 5.000 mg; riboflavina = 10.000 mg; vitamina pirodoxina = 8.000 mg; biotina = 2.000 mg; vitamina C = 192.500 mg; niacina = 30.000 mg; ácido fólico = 3.000 mg; Fe = 100.000 mg; Cu = 600 mg; Mn = 60.000 mg; Zn = 150.000 mg; I = 4.500 mg; Cu = 15.000 mg; Co = 2.000 mg; Se = 400 mg. ²Butil hidroxitolueno.

Os peixes foram alimentados três vezes ao dia (8, 12 e 16 horas) até saciedade aparente, com as rações experimentais contendo níveis crescentes do complexo enzimático: 0,25; 0,5; 0,75 e 1,0 g kg⁻¹ de ração e o tratamento controle sem a inclusão do aditivo. As

variáveis de qualidade da água foram monitoradas diariamente com uma sonda multiparâmetros (Hanna HI 9829) e um fotocolorímetro de bancada (Hanna 83203), registrando os seguintes valores médios: $27,87 \pm 0,36$ °C de temperatura; $6,55 \pm 0,23$ de pH; $5,05 \pm 0,57$ mg L⁻¹ de oxigênio dissolvido e $0,55 \pm 0,27$ mg L⁻¹ de amônia (NH₃).

Após três dias de fornecimento das dietas experimentais, as fezes foram coletadas durante 21 dias e as repetições foram obtidas no tempo, com intervalos de três dias sem realização de coleta. Diariamente às 8 horas, as fezes decantadas foram retiradas dos coletores resfriados com gelo após a última alimentação, centrifugadas (5000 rpm por 10 minutos), congeladas (-80 °C) e liofilizadas (-40 °C) para posterior determinação da concentração de óxido de cromo, por meio da digestão com ácido nítrico e peróxido de hidrogênio e quantificação no Espectrofotômetro de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES) (Willians et al., 1962).

Ao final do período experimental de 30 dias, os peixes foram eutanasiados (25 mg L⁻¹ de benzocaína) e dissecados para retirada do fígado e intestino. Foi determinada a atividade das enzimas digestivas amilase, lipase e proteínas totais na porção anterior do intestino e da enzima aspartato aminotransferase e proteínas totais no fígado, por meio de kits Labtest (referências:11, 107, 99, 109 e 99, respectivamente). A atividade da protease alcalina foi determinada de acordo com Walter (1984) e a concentração de glicogênio no fígado de acordo com Bidinotto et al. (1997). Os mesmos peixes foram liofilizados e triturados (inteiros e eviscerados) para realização da análise química da carcaça.

Os valores da matéria seca das fezes e da carcaça foram obtidos em amostras congeladas (-80 °C) e liofilizadas pelo processo de sublimação a -40 °C. Já as rações foram secas em estufa a 105 °C por 24 horas. A matéria mineral foi determinada através da incineração das amostras em forno mufla a 600 °C por quatro horas. A proteína bruta foi calculada a partir da quantificação do nitrogênio total nas amostras, pelo método *Kjeldahl*, multiplicado pelo fator de conversão 6,25. O extrato etéreo foi determinado a partir da lavagem contínua das amostras em éter de petróleo a 90 °C de acordo com o método *Goldfish*. Essas análises foram realizadas seguindo a metodologia descrita por Detmann et al. (2012) e a energia bruta foi determinada com uma bomba calorimétrica (IKA C – 200).

O cálculo dos coeficientes de digestibilidade aparente foi baseado na concentração do óxido de cromo e dos nutrientes presentes na dieta e nas fezes dos peixes de acordo com a

seguinte fórmula, aonde DA = digestibilidade aparente; %Cr₂O₃ = porcentagem de óxido de cromo; e % N = porcentagem do nutriente (Bremer Neto et al., 2003):

$$DA = 100 - \left[100 \left(\frac{\%Cr_2O_3 \text{ ração}}{\%Cr_2O_3 \text{ fezes}} \right) \times \left(\frac{\%N_{\text{fezes}}}{\%N_{\text{ração}}} \right) \right]$$

Os dados foram submetidos à análise da normalidade dos resíduos (Shapiro–Wilk test) e homocedasticidade das variâncias (Bartlett’s test). Os dados de digestibilidade aparente, atividade enzimática e metabolismo passaram por análise de regressão e os dados de qualidade da água e composição química da carcaça passaram por análise de varância e aplicação do teste de Tukey (5%), com auxílio do programa estatístico R, versão 3.4.0 (2017).

Resultados e discussão

Qualidade da água

As variáveis de qualidade da água mantiveram-se constantes e adequadas para o desenvolvimento da espécie (Cavero et al., 2004; Franco-Rojas e Peláez-Rodríguez, 2007; Ono; Kehdi, 2013), não apresentando diferença estatística ($p > 0,05$) entre os tratamentos devido ao sistema de recirculação de água entre os aquários de digestibilidade e uso de filtro biológico.

Digestibilidade aparente

As dietas experimentais interferiram nos coeficientes de digestibilidade aparente da proteína bruta, energia bruta e matéria seca, apresentando efeitos quadráticos (Tabela 2), para proteína bruta, energia bruta e matéria seca, com níveis ótimos de adição do complexo enzimático ao nível de 0,88 g kg⁻¹, 0,81 g kg⁻¹ e 0,79 g kg⁻¹ respectivamente.

Tabela 2. Digestibilidade aparente da proteína bruta, energia bruta e matéria seca das dietas experimentais com níveis crescentes de complexo enzimático para alimentação do pirarucu (média ± erro padrão)

Digestibilidade aparente	Complexo enzimático (g kg ⁻¹ ração)					p valor
	0,00	0,25	0,50	0,75	1,00	
Proteína bruta (%)**	81,29 ± 0,19	79,62 ± 1,21	78,07 ± 0,11	86,25 ± 0,07	89,08 ± 0,09	4,41 x 10 ⁻⁹
Energia bruta (%)**	67,54 ± 2,05	74,34 ± 0,39	62,18 ± 0,51	76,58 ± 0,09	82,81 ± 0,16	4,04 x 10 ⁻⁸
Matéria seca (%)**	64,84 ± 0,00	72,57 ± 0,00	58,67 ± 0,01	75,02 ± 0,01	82,09 ± 0,00	<2,00 x 10 ⁻¹⁵

**Efeito quadrático. Proteína bruta: 21,42x² - 12,54x + 81,10 (r² = 0,86). Energia bruta: 29,07x² - 15,96x + 69,77 (r² = 0,60). Matéria seca: 33,04 x² - 18,25 x + 67,38 (r² = 0,59).

Os coeficientes de digestibilidade aparente da proteína bruta (78 – 89%), energia bruta (62 – 82%) e matéria seca (58 – 82%) dos juvenis de pirarucu dessa pesquisa foram semelhantes aos observados por Cipriano et al. (2016), avaliando diferentes fontes protéicas na alimentação de juvenis de pirarucu, com valores de digestibilidade aparente para proteína total, energia bruta e matéria seca entre 74 – 97%, 58 – 96% e 61 – 93%, respectivamente. Ono et al. (2008) ao testarem quatro relações de energia e proteína para a juvenis de pirarucu, reportaram taxas de digestibilidade aparente para proteína (74,5%), energia bruta (11 kcal g⁻¹) e matéria seca (68,3%) próximas aos resultados observados nesse estudo, indicando que o aumento da relação de energia: proteína dietéticas leva ao aumento da digestibilidade da energia e gordura em peixes carnívoros.

Peixes carnívoros apresentam altos níveis de lipase e protease (Furné et al., 2005), enzimas que beneficiam a digestibilidade de ingredientes de proteína animal, enquanto a produção de enzimas é influenciada por fatores como mudanças ambientais (Moura et al., 2007) e tamanho da partícula (Polese et al., 2010). Neste estudo associando a digestibilidade aparentes dos pirarucus e a atividade enzimática, os níveis indicados do complexo enzimático desse estudo

A digestibilidade fornece informações sobre a parcela dos nutrientes que foi digerida e absorvida pelo animal, influenciada por diversos fatores, principalmente a composição nutricional da dieta (Bomfim; Lanna, 2004; Cipriano et al., 2015; Pezzato et al., 2009). Os aditivos enzimáticos não possuem função nutricional própria, mas auxiliam na digestão e absorção dos nutrientes, quebra fatores antinutricionais, e conseqüentemente, aumentando a digestibilidade das dietas, principalmente em animais jovens que apresentam o sistema gastrointestinal em formação (Campestrini et al., 2005; Guimarães et al., 2009).

Apesar das propriedades químicas das enzimas exógenas serem bem compreendidas, ainda há variabilidade na resposta fisiológica dos animais diante de diferentes substratos e demais fatores interativos (Bedford, 2000), o que justifica pesquisas que investiguem os benefícios da suplementação enzimática em dietas para peixes, considerando o perfil metabólico, variáveis de desempenho e ensaios de digestibilidade.

A melhora na digestibilidade da proteína em peixes está diretamente associada a absorção dos nutrientes e ao contato das enzimas com esses substratos a serem reduzidos, além da capacidade de digestão de carboidratos e lipídeos associados à proteína dietética, que será disponibilizada para a ação das proteases endógenas e exógenas (Guimarães et al., 2009;

Yin et al., 2001). Da mesma forma, a digestibilidade energética pode aumentar conforme a digestibilidade dos demais nutrientes da dieta aumentam, considerando que proteínas, carboidratos e lipídeos podem ser utilizados pelos peixes como fonte de energia (Meyer et al., 2004). Isso pode ser observado na atividade enzimática dos juvenis de pirarucu desse estudo, com a redução dos níveis da protease alcalina, lipase e amilase.

Atividade enzimática e metabólica

As principais enzimas digestivas avaliadas (protease alcalina, amilase e lipase) no trato intestinal dos juvenis de pirarucu tiveram efeito linear decrescente conforme o aumento dos níveis de inclusão do complexo enzimático (Tabela 3). Esse fenômeno pode ser explicado considerando que parte da proteína ingerida pelo peixe é utilizada na síntese enzimática e a suplementação com enzimas exógenas na dieta pode reduzir a síntese de enzimas endógenas, poupando proteína para a síntese proteica para crescimento muscular (Yin et al., 2001). De acordo com Lin e Tan (2007), a suplementação enzimática exógena pode promover a secreção de enzimas endógenas, e em geral, a atividade das enzimas digestivas se correlaciona com a taxa de crescimento do peixe.

Tabela 3. Atividade das enzimas digestivas, concentrações de proteínas totais e glicogênio hepático de juvenis de pirarucu submetidos a dieta com níveis crescentes de complexo enzimático (média ± erro padrão)

Metabolismo	Complexo enzimático (g kg ⁻¹ ração)					p valor
	0,00	0,25	0,50	0,75	1,00	
Protease alcalina (U µg ⁻¹)*	11,29 ± 2,60	5,66 ± 0,00	4,57 ± 1,99	1,42 ± 0,03	1,64 ± 0,14	5,28 x 10 ⁻⁴
Lipase (U mg ⁻¹)*	8,22 ± 0,79	3,77 ± 0,12	3,74 ± 1,72	5,23 ± 0,41	0,22 ± 0,04	1,47 x 10 ⁻⁵
Amilase (U mg ⁻¹)*	16,76 ± 1,36	7,61 ± 0,99	12,83 ± 1,11	10,53 ± 0,14	3,30 ± 0,08	1,76 x 10 ⁻⁶
Glicogênio hepático (µmol g ⁻¹)*	45,38 ± 1,47	49,09 ± 2,05	52,62 ± 1,82	73,92 ± 4,45	75,49 ± 3,89	4,11 x 10 ⁻⁵
Aspartato aminotransferase (U mg ⁻¹) **	1,83 ± 0,11	2,79 ± 0,36	1,10 ± 0,00	2,29 ± 0,06	2,84 ± 0,17	4,74 x 10 ⁻⁸
Proteínas totais no fígado (g dL ⁻¹)	5,80 ± 1,07	3,94 ± 0,37	5,61 ± 1,39	3,83 ± 0,24	4,84 ± 0,47	0,37
Proteínas totais no intestino (g dL ⁻¹)*	1,37 ± 0,02	2,64 ± 0,76	2,38 ± 0,48	3,51 ± 0,35	5,52 ± 0,71	2,86 x 10 ⁻⁴

*Efeito linear. **Efeito quadrático. Protease alcalina: $-9,42x + 9,62$ ($r^2 = 0,86$). Lipase: $-5,82x + 7,15$ ($r^2 = 0,63$). Amilase: $-9,60x + 15,01$ ($r^2 = 0,55$). Glicogênio hepático: $34,02x + 42,29$ ($r^2 = 0,88$). Aspartato aminotransferase: $2,35x^2 - 1,74x + 2,16$ ($r^2 = 0,25$). Proteínas totais no intestino: $3,68x + 1,25$ ($r^2 = 0,86$).

A concentração de glicogênio no fígado aumentou linearmente em função dos níveis crescentes do complexo enzimático na dieta, apresentando valores entre 45,38 a 75,49 µmol g⁻¹. Estes valores foram abaixo dos encontrados por Gomes (2007) e Luz et al. (2019), onde juvenis de pirarucu apresentaram níveis basais de glicogênio hepático em torno de 85 µmol g⁻¹ e 87,4 µmol g⁻¹, respectivamente. Esse crescimento da concentração do glicogênio hepático pode estar relacionado à amilase que compões o complexo enzimático utilizado, já que essa enzima é responsável pela quebra das ligações glicosídicas dos polissacarídeos como o amido, disponibilizando a glicose dos ingredientes de origem vegetal da formulação da dieta (farelos de trigo, glúten de milho, soja e milho), causando a deposição de glicogênio no fígado (Hemre et al. 2002; Nunes et al., 2006; Stech et al., 2009). Da mesma forma, a adição da celulase, xilanase, betaglucanase e pectinase na dieta, que degradam a parede celular dos vegetais composta por polissacarídeos não amiláceos, considerados fatores antinutricionais (Meurer; Hayashi, 2003; Brito et al., 2008), podem ter disponibilizado os carboidratos da dieta (Silva et al., 2007). A soja, por exemplo, possui polissacarídeos não amiláceos na forma de pectinas, hemiceluloses e oligossacarídeos (Brito et al., 2008), além de inibidores de proteases e lectinas (Campestrini et al., 2005).

Os resultados com juvenis de pirarucu confirmam que a complementação enzimática com carboidrases permite que os peixes utilizem os polissacarídeos não amiláceos como fonte de energia, diminuindo a quantidade de resíduos não digestíveis (Brito et al., 2008).

A atividade da enzima aspartato aminotransferase apresentou um efeito quadrático com nível ótimo de inclusão do complexo enzimático a partir de 0,77 g kg⁻¹. Neste estudo, a

atividade dessa enzima foi influenciada pela ingestão do complexo enzimático e a atividade pode ser considerada baixa em quaisquer dos níveis testados, variando de 1,10 a 3,42 U mg⁻¹. Luz et al. (2019) observou valores desta enzima entre 0,44 a 2,38 U mg⁻¹. Essa baixa atividade da aspartato aminotransferase, uma das principais enzimas envolvidas no metabolismo proteico, está associado a transaminação de aminoácidos para produção de energia e excreção de compostos nitrogenados (Melo et al., 2006; Souza et al., 2014). A pequena atividade da aspartato aminotransferase associada à ausência de alterações ($p = 0,37$) na concentração de proteínas totais no fígado (3,83 – 5,80 U mg⁻¹) sugere que a proteína dietética das rações experimentais foi utilizada pelos peixes para síntese muscular.

O efeito inverso foi observado por Pretto et al. (2014), que associaram a baixa concentração de glicogênio e elevada concentração de proteínas totais no fígado ($49,9 \pm 4,2 - 64,3 \pm 2,5$ U mg⁻¹) com o aumento da atividade da aspartato aminotransferase ($687,9 \pm 107,2 - 1028,6 \pm 87,7$ U mg⁻¹) como um indicativo de catabolismo proteico revelando uma condição de carência energética para o jundiá (*Rhamdia quelen*). Souza et al. (2014) registraram a atividade da aspartato aminotransferase variando de 7,29 a 38,38 U mg⁻¹ ao testarem diferentes relações de proteína:energia. Os autores atribuem o aumento da atividade da enzima a regulação glicêmica e reservas hepáticas em híbridos de *Pseudoplatystoma fasciatum* x *Leiarius marmoratus*. Melo et al. (2006) propõem que a atividade das enzimas aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, glutamato desidrogenase e arginase, chaves no metabolismo proteico, sejam utilizadas como ferramentas para avaliar o balanceamento dos macronutrientes das formulações.

Diante dos resultados, confirma-se que as atividades enzimáticas e metabólicas podem ser utilizadas como uma importante ferramenta para entender a utilização dos nutrientes nas formulações, possibilitando ajustes para evitar, por exemplo, o catabolismo proteico como fonte energética (Melo et al., 2016).

Composição química da carcaça

A composição química das carcaças dos juvenis de pirarucu foi influenciada pelas dietas experimentais (Tabela 4). Os maiores níveis de inclusão do complexo foram associados a maiores porcentagens de matéria seca, energia bruta e extrato etéreo, porém não influenciaram a porcentagem de proteína bruta na carcaça.

Tabela 4. Composição química da carcaça de juvenis de pirarucu submetidos a dieta com níveis crescentes de complexo enzimático (média \pm erro padrão). Valores expressos com base na matéria seca

Item	Complexo enzimático (g kg ⁻¹ ração)*					p valor
	0,00	0,25	0,50	0,75	1,00	
Proteína bruta (%)	63,12 \pm 0,38a	64,36 \pm 0,31a	63,50 \pm 0,42a	60,63 \pm 0,45a	58,90 \pm 0,61a	0,06
Energia bruta (kcal kg ⁻¹)	4320 \pm 31,75b	4378 \pm 17,90b	4700 \pm 61,49a	4310 \pm 4,33b	4718 \pm 62,0a	4,47 x 10 ⁻⁴
Matéria seca (%)	23,41 \pm 0,00d	22,92 \pm 0,01e	24,05 \pm 0,01c	24,10 \pm 0,00b	25,64 \pm 0,00a	2,00 x 10 ⁻¹⁵
Matéria mineral (%)	23,13 \pm 0,16b	21,36 \pm 0,01c	24,18 \pm 0,07a	24,00 \pm 0,17a	21,87 \pm 0,07c	2,42 x 10 ⁻⁶
Extrato etéreo (%)	6,47 \pm 0,11c	6,32 \pm 0,16c	10,55 \pm 0,13b	9,53 \pm 0,36b	12,49 \pm 0,30a	1,50 x 10 ⁻⁷

*Letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p > 0,05$).

A composição da carcaça de juvenis de pirarucu (120,6 \pm 3,5 g) foi determinada no estudo realizado por Ituassú et al. (2005) que, ao analisarem a influência de diferentes níveis proteicos em rações para juvenis da espécie, obtiveram resultados variando de 15,1 a 20,5% para matéria seca; 17 a 19,2% de matéria mineral; 64,3 a 68,8% de proteína bruta; e 6,5 a 12,6% de extrato etéreo. Esses valores se aproximam aos encontrados neste estudo, provavelmente porque os animais foram analisados na mesma faixa de peso (99,08 \pm 17,38 g), considerando que a idade é um dos fatores que exercem influência na composição do músculo.

A análise química das dietas experimentais associada à análise da carcaça deve ser considerada para fornecer informações sobre a transferência dos nutrientes dietéticos para produto final, refletidos na sua qualidade, que será destinado à alimentação humana (Mendonça et al., 2011). No campo da nutrição animal, a composição química dos ingredientes determina o valor nutritivo dos alimentos, influencia diretamente o desempenho zootécnico da espécie e é refletida nas características da carcaça dos animais, que são importantes para a nutrição e saúde humana.

Os peixes apresentam elevado valor nutricional, destacando-se a elevada concentração proteica de alto valor biológico, ricos em aminoácidos essenciais, entretanto, a qualidade da carne dos peixes varia, além da dieta, de acordo com a espécie, idade, tamanho, sexo,

qualidade da água e pela parte do animal que é amostrada (Lima et al., 2012; Melo et al., 2003; Shearer, 1994;).

O baixo conteúdo de matéria seca na carcaça (22,92 – 25,64%) está relacionado ao elevado teor de umidade comum nos peixes, que é em torno de 80% (Abimorad e Castellani, 2011; Melo et al., 2002). É possível observar que o teor de umidade é inversamente proporcional a fração lipídica, assim como foi descrito por Shearer (1994) ao discutir sobre os fatores que afetam a composição corporal de peixes.

A matéria mineral ou cinzas, é o resíduo inorgânico obtido através da incineração da matéria orgânica, convertida em CO₂, H₂O e NO₂, usada para determinar a riqueza mineral dos alimentos (Silva e Queiroz, 2002). De acordo com Pinto (2006), os minerais são elementos estáveis e, entre os macroatmentos, o potássio é o mais abundante com 680,60 mg 100g⁻¹ de matéria seca para o pirarucu. Já o sódio, que aparece em menor concentração em peixes, tem maior concentração na carcaça da espécie, com 1674,60 mg 100 g⁻¹ de matéria seca.

Nas rações para aquicultura, os lipídeos são utilizados como a principal fonte energética, compostos por ácidos graxos, que desempenham funções nutricionais e fisiológicas importantes (Melo et al., 2016). A gordura confere sabor ao músculo e é considerada a maior fonte de ácidos graxos poli-insaturados do grupo ômega 3 na alimentação humana (Santos et al., 2013). Cortegano et al. (2017), ao analisar o perfil lipídico do músculo do pirarucu, concluíram que a ingestão da carne da espécie é uma boa fonte dietética dos ácidos graxos essenciais eicosapentaenoico (EPA) e o docosaheptaenoico (DHA) e que sua qualidade nutricional lipídica é benéfica para a saúde humana.

Entretanto, a proporção lipídica apresenta variações entre os tecidos analisados (Cortegano et al., 2017; Fogaça et al., 2011). Oliveira et al. (2014) encontraram resultados distintos para o dorso e ventre do pirarucu, concluindo que a concentração lipídica do dorso classifica a espécie como pescado magro (0,62 ± 0,02%) e na região ventral como semi-gordo (2,49 ± 0,03%). Neste estudo os resultados para o peixe inteiro eviscerado variaram entre 6 e 12%, que, de acordo com Britto et al. (2014), classifica o pescado como semi-gordo (4,0 - 8,0%) e gordo (> 8,0%). Esses autores evidenciam a importância de classificar os peixes de acordo com o teor lipídico, que altera a palatabilidade da carne, as formas de processamento e conservação, e conseqüentemente, a aceitação pelo mercado consumidor. Pinto (2006), ao

analisar filés da mesma espécie, encontrou teor lipídico de 11,85%, próximo do nosso resultado (12,49%).

De acordo com Arbeláez-Rojas et al. (2002) e Machado e Foresti (2009), a deposição de gordura na carcaça é intensificada em condições de cultivo, pois os animais reduzem o gasto energético com locomoção. Essa condição pode ser observada com a manutenção dos peixes nos aquários de digestibilidade.

Os resultados obtidos nessa pesquisa indicam uma tendência ao aumento da porcentagem de gordura na carcaça em detrimento do aumento da digestibilidade da energia bruta, estando de acordo com Arbeláez-Rojas et al. (2002), que afirma que a deposição de gordura corporal está estreitamente relacionada à concentração energética dietética. O aumento da digestibilidade energética eleva a concentração de glicogênio no fígado, que em excesso, estimula a lipogênese, aumentando a quantidade de gordura depositada na carcaça (Hemre et al., 2002). Além disso, a alimentação à vontade pode ter estimulado os animais a comerem além do necessário para manutenção do metabolismo.

A adição de carboidrase na dieta através do complexo enzimático pode ter disponibilizado mais energia para os peixes, ocasionando o efeito ‘poupador de proteína’ como fonte de energia, então utilizada para a síntese muscular (Booth et al., 2013; Meyer et al., 2004; Silva e Anderson, 1995), o que justifica o elevado teor proteico encontrado na carcaça dos peixes do presente estudo (58,90 – 64,36%).

Resultados adversos foram encontrados por Oliveira et al. (2014), ao analisarem amostras do dorso e ventre da espécie (7,85 kg) com a finalidade de medir as alterações sensoriais, físico-químicas e microbiológicas de exemplares estocados em gelo, apresentando de 20,49 a 22,12% de matéria seca, de 0,84 a 0,87% de matéria mineral, 16,10 a 17,56% de proteína bruta e 0,62 a 2,49% de fração lipídica; e por Fogaça et al. (2011), ao avaliarem o rendimento do filé de pirarucu em diferentes classes de peso (7 a 17 kg), encontrando 23,88 a 24,96% de matéria seca; 2,21 a 2,46% de matéria mineral; de 19,97 a 20,67% de proteína bruta; e de 0,56 a 0,64 de extrato etéreo, confirmando a variabilidade da composição da carcaça de acordo com os fatores supracitados.

Conclusão

O complexo enzimático quando adicionado à dieta de juvenis de pirarucu (65, 22 ± 0,38 – 99,08 ± 17,38 g), aumenta a digestibilidade aparente da proteína bruta, energia bruta e

matéria seca no nível de inclusão de 1,00 g kg⁻¹, influencia a atividade enzimática, o metabolismo e a composição química da carcaça.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (Fapesb) - PRONEM, processo 013/2014; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de mestrado; à empresa Pratigi Alimentos pela confecção das rações base; às equipes dos laboratórios de Nutrição e Alimentação de Peixes (AQUANUT), Nutrição Animal (LABNUT – UESC), Aquicultura (UNIVASF) e de Pesquisa em Química Analítica (LPQA - UESC); e aos professores Dr. Raildo Mota de Jesus e Dr. Wilson Massamitu Furuya.

Referências

- Abimorad, E. G., Castellani, D., 2011. Exigências nutricionais de aminoácidos para o lambari-do-raboamarelo baseadas na composição da carcaça e do músculo. Bol. Inst. Pesca, 37(1), 31-38.
- Arbeláez-Rojas, G. A., Fracalossi, D. M., Fim, J. D. I., 2002. Composição corporal de tambaqui, *Colossoma macropomum*, e matrinxã, *Brycon cephalus*, em sistemas de cultivo intensivo, em igarapé, e semi-intensivo, em viveiros. Rev. Bras. Zootec., 31(3), 1059-1069.
- Ayhan, V., Diler, I., Arabaci, M., Sevgili, H., 2008. Enzyme supplementation to soybean based diet in Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*): Effects on growth parameters and nitrogen and phosphorus excretion. Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg., 14(2).
- Bedford, M. R. (2000). Exogenous enzymes in monogastric nutrition—their current value and future benefits. Anim. Feed Sci. Technol., 86(1-2), 1-13.
- Bomfim, M. A. D., Lanna, E. A. T., 2004. Fatores que afetam os coeficientes de digestibilidade nos alimentos para peixes. R. Eletr. Nutritime, 1(1), 20-30.
- Booth, M. A., Moses, M. D., Allan, G. L., 2013. Utilisation of carbohydrate by yellowtail kingfish *Seriola lalandi*. Aquaculture, 376, 151-161.
- Bremer Neto, H., Graner, C. A. F., Pezzato, L. E., Padovani, C. R., Cantelmo, O. A., 2003. Diminuição do teor de óxido de crômio (III) usado como marcador externo. R. Bras. Zootec., 249-255.
- Brito, M. S., de Oliveira, C. F. S., da Silva, T. R. G., de Lima, R. B., Morais, S. N., da Silva, J. H. V., 2008. Polissacarídeos não amiláceos na nutrição de monogástricos—revisão. Acta Vet. Brasilica, 2(4), 111-117.
- Britto, A. C. P., Rocha, C. B., Tavares, R. A., Fernandes, J. M., Piedras, S. R. N., Pouey, J. L. F., 2014. Rendimento corporal e composição química do filé da viola (*Loricariichthys anus*). Ciênc. Anim. Bras., 15(1), 38-44.
- Campestrini, E., Silva, V. T. M., Appelt, M. D., 2005. Utilização de enzimas na alimentação animal. R. El. Nutritime, 2(6), 254-267.

- Cavero, B. A. S., Pereira Filho, M., Roubach, R., Ituassú, D. R., Gandra, A. L., Crescêncio, R., 2003. Efeito da densidade de estocagem na homogeneidade do crescimento de juvenis de pirarucu em ambiente confinado. *Pesq. Agropec. Bras.*, 38(1), 103-107.
- Cavero, B. A. S., Pereira-Filho, M., Bordinhon, A. M., da Fonseca, F. A. L., Ituassú, D. R., Roubach, R., Ono, E. A., 2004. Tolerância de juvenis de pirarucu ao aumento da concentração de amônia em ambiente confinado. *Pesq. Agropec. Bras.*, 39(5), 513-516.
- Cipriano, F. D. S., Lima, K. S. D., Souza, R. H. B. D., Tonini, W. C. T., Passinato, É. B., Braga, L. G. T., 2016. Digestibility of animal and vegetable protein ingredients by pirarucu juveniles, *Arapaima gigas*. *R. Bras. Zootec.*, 45(10), 581-586.
- Cipriano, F. S., Santos de Lima, K., Bevitório-Passinato, É., Mota de Jesus, R., Oliveira de Magalhães Júnior, F., Teles-Tonini, W. C., Tavares-Braga, L. G., 2015. Apparent digestibility of energetic ingredients by pirarucu juveniles, *Arapaima gigas* (Schinz, 1822). *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 43(4).
- Cortegano, C. A. A., Godoy, L. C. D., Petenuci, M. E., Visentainer, J. V., Affonso, E. G., Gonçalves, L. U., 2017. Nutritional and lipid profiles of the dorsal and ventral muscles of wild pirarucu. *Pesq. Agropec. Bras.*, 52(4), 271-276.
- Dalsgaard, J., Bach Knudsen, K. E., Verlhac, V., Ekmann, K. S., Pedersen, P. B., 2016. Supplementing enzymes to extruded, soybean-based diet improves breakdown of non-starch polysaccharides in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquacult. Nutr.*, 22(2), 419-426.
- Dalsgaard, J., Verlhac, V., Hjermitsev, N. H., Ekmann, K. S., Fischer, M., Klausen, M., Pedersen, P. B., 2012. Effects of exogenous enzymes on apparent nutrient digestibility in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets with high inclusion of plant-based protein. *A. Feed Sci. Tech.*, 171(2-4), 181-191.
- Detmann, E. et al., 2012. Métodos de para Análise de Alimentos. Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.
- Diógenes, A. F., Castro, C., Carvalho, M., Magalhães, R., Estevão-Rodrigues, T. T., Serra, C. R., ... Peres, H., 2018. Exogenous enzymes supplementation enhances diet digestibility and digestive function and affects intestinal microbiota of turbot (*Scophthalmus maximus*) juveniles fed distillers' dried grains with solubles (DDGS) based diets. *Aquaculture*, 486, 42-50.
- Drew, M. D., Racz, V. J., Gauthier, R., Thiessen, D. L., 2005. Effect of adding protease to coextruded flax: pea or canola: pea products on nutrient digestibility and growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *A. Feed Sci. Tech.*, 119(1-2), 117-128.
- Fogaça, F. H. S., Gonçalves de Oliveira, E., Eulles Quixaba Carvalho, S., de Seixas Santos, F. J., 2011. Yield and composition of pirarucu fillet in different weight classes. *Acta Sci. Anim. Sci.*, 33(1).
- Franco, H., Peláez-Rodríguez, M., 2007. Cría y producción de pirarucú en cautiverio-experiencias en el Piedemonte Caqueteño. Universidad de la Amazonia, Florencia (Caquetá-Colombia). (Ed. 1, 50p.)
- Furné, M., Hidalgo, M. C., López, A., García-Gallego, M., Morales, A. E., Domezain, A., Domazainé, J. and Sanz, A. 2005. Digestive enzyme activities in Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. A comparative study. *Aquaculture*, 250, 391-398.

- Guimarães, I. G., Falcon, D. R., Schich, D., Barros, M. M., Pezzato, L. E. (2009). Digestibilidade aparente de rações contendo complexo enzimático para tilápia-do-nilo. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., 61(6), 1397-1402.
- Gomes, L. C., 2007. Resposta fisiológica de estresse em pirarucu (*Arapaima gigas*) submetido ao manuseio. Acta Amaz., 37(4), 629 – 633.
- Hemre, G. I., Mommsen, T. P., Kroghdahl, Å., 2002. Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes. Aquaculture nutrition, 8(3), 175-194.
- Imbiriba, E. P., 2001. Potencial de Criação de Pirarucu, *Arapaima gigas*, em Cativeiro. Acta Amaz., 31(2), 299-316.
- Ituassú, D. R., Pereira Filho, M., Roubach, R., Crescêncio, R., Cavero, B. A. S., Gandra, A. L., 2005. Níveis de proteína bruta para juvenis de pirarucu. Pesq. Agropec. Bras., 40(3), 255-259.
- Jacobsen, H. J., Samuelsen, T. A., Girons, A., Kousoulaki, K., 2018. Different enzyme incorporation strategies in Atlantic salmon diet containing soybean meal: Effects on feed quality, fish performance, nutrient digestibility and distal intestinal morphology. Aquaculture, 491, 302-309.
- Lima, M. M., Mujica, P. I. C., Lima, A. M., 2012. Caracterização química e avaliação do rendimento em filés de caranha (*Piaractus mesopotamicus*). Braz. J. Food Technol., 15(spe), 41-46.
- Luz, J. R., Ramos, A. P. S., Melo, J. F. B., Braga, L. G. T., 2019. Use of sodium butyrate in the feeding of *Arapaima gigas* (Schinz, 1822) juvenile. Aquaculture, 510, 248 – 255.
- Machado, M. R. F., Foresti, F., 2009. Processing yield and chemical composition of the *Prochilodus lineatus* from Mogi Guaçu river, Brazil. Archiv. Zootec., 58(224), 663-670.
- Melo, J. F. B., Neto Radünz, J., Trombetta, C. G., 2002. Desenvolvimento e composição corporal de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com dietas contendo diferentes fontes de lipídios. Ciência Rural, 32(2), 323-327.
- Melo, J. F. B., de Lima Boijink, C., Neto, J. R., 2003. Efeito da alimentação na composição química da carcaça do jundiá *Rhamdia quelen*. Biodiversidade Pampeana, 1(1), 12-23.
- Melo, J. F. B., Lundstedt, L. M., Inoue, L. A. K., Metón, I., Baanante, I. V., Moraes, G., 2016. Glycolysis and gluconeogenesis in the liver of catfish fed with different concentrations of proteins, lipids and carbohydrates. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., 68(5), 1251-1258.
- Melo, J. F. B., Lundstedt, L. M., Metón, I., Baanante, I. V., Moraes, G., 2006. Effects of dietary levels of protein on nitrogenous metabolism of *Rhamdia quelen* (Teleostei: Pimelodidae). Comp. Biochem. Physiol.: Molecular & Integrative Physiology, 145(2), 181-187.
- Melo, J. F. B., Lundstedt, L. M., Moraes, G., Inoue, L. A. K. A. (2012). Effect of different concentrations of protein on the digestive system of juvenile silver catfish. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., 64(2), 450-457.
- Mendonça, P. P., dos Santos, M. V. B., Junior, M. V. V., de Andrade, D. R., 2011. Influência do fotoperíodo emerald sobre características bromatológicas da carcaça de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*). Ciênc. Anim. Bras., 12(2), 213-220.
- Meurer, F., Hayashi, C., Boscolo, W. R., 2003. Digestibilidade aparente de alguns alimentos protéicos pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Rev. Bras. Zootec., 32(6), 1801-1809.

- Meyer, G., Fracalossi, D. M., Borba, M. R., 2004. A importância da quantidade de energia na ração de peixes. *Panorama da Aqüicultura*, 14, 53-57.
- Moura, G. S., Oliveira, M. G. A., Lanna, E. T. A., Maciel Junior, A. and Maciel, C. M. R. R., 2007. Performance and amylase activity in Nile tilapia submitted to different temperatures. *Pesq. Agropec. Bras.*, 42,1609-1615.
- Nunes, É. D. S. S., Cavero, B. A. S., Pereira-Filho, M., Roubach, R., 2006. Enzimas digestivas exógenas na alimentação de juvenis de tambaqui. *Pesq. Agropec. Bras.*, 41(1), 139-143.
- Oliveira, E. G., Pinheiro, A. B., de Oliveira, V. Q., da Silva Júnior, A. R. M., de Moraes, M. G., Rocha, Í. R. C. B., ... Costa, F. H. F., 2012. Effects of stocking density on the performance of juvenile pirarucu (*Arapaima gigas*) in cages. *Aquaculture*, 370, 96-101.
- Oliveira, P.R., Jesus, R. S., Batista, G. M., Lessi, E., 2014. Avaliação sensorial, físico-química e microbiológica do pirarucu (*Arapaima gigas*, Schinz 1822) durante estocagem em gelo. *Braz. J. Food Technol.*, 17(1), 67-74.
- Ono, E. A., Nunes, É. D. S. S., Cedano, J. C. C., Pereira Filho, M., & Roubach, R. (2008). Digestibilidade aparente de dietas práticas com diferentes relações energia: proteína em juvenis de pirarucu. *Pesq. Agropec. Bras.*, 43(2), 249-254.
- Ono, E., Kedhi, J., 2013. Manual de boas práticas de produção do pirarucu em cativeiro. SEBRAE, Brasília.
- Pezzato, L. E., Barros, M. M., Furuya, W. M., 2009. Valor nutritivo dos alimentos utilizados na formulação de rações para peixes tropicais. *Rev. Bras. Zootec.*, 38(supl. especial), 43-51.
- Pinto, S.V., 2006. Caracterizações centesimal e dos perfis de ácidos graxos, aminoácidos e minerais dos materiais cárneos de dez pescados amazônicos liofilizados. Universidade Federal do Pará, Belém.
- Preto, A., Picolli da Silva, L., Radünz Neto, J., Mesquita da Costa Nunes, L., Liberalesso de Freitas, I., Bianchi Loureiro, B., Alves dos Santos, S., 2014. Farelo de crambe nas formas in natura ou reduzida em antinutrientes na dieta do jundiá. *Ciência Rural*, 44(4).
- Polese, M. F., Vidal Junior, M. V., Mendonça, P. P., Tonini, W. C. T., Radael, M. C. and Andrade, D. R. 2010. Effect of corn granulometry on performance of juvenile pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, 62,1469-1477.
- R Core Team, 2017. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Santos, R. D., Gagliardi, A. C. M., Xavier, H. T., Magnoni, C. D., Cassani, R., Lottenberg, A. M. P., ... Fenelon, G., 2013. I Diretriz sobre o consumo de gorduras e saúde cardiovascular. *Arq. Bras. Cardiol.*, 100(1), 1-40.
- Shearer, K. D., 1994. Factors affecting the proximate composition of cultured fishes with emphasis on salmonids. *Aquaculture*, 119(1), 63-88.
- Shi, Z., Li, X. Q., Chowdhury, M. K., Chen, J. N., Leng, X. J., 2016. Effects of protease supplementation in low fish meal pelleted and extruded diets on growth, nutrient retention and digestibility of gibel carp, *Carassius auratus gibelio*. *Aquaculture*, 460, 37-44.
- Silva, D.J., Queiroz, A.C., 2002. Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos. UFV, Viçosa. (3 Ed., 129 p.)
- Silva, J. A. M. D., Pereira Filho, M., Cavero, B. A. S., Pereira, M. I. D. O., 2007. Digestibilidade aparente dos nutrientes e energia de ração suplementada com enzimas

digestivas exógenas para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818). *Acta Amazonica*, 37(1), 157-164.

Silva, S. S., Anderson, T. A., 1995. *Fish nutrition in aquaculture*. Chapman & Hall.

Soares, E. C., Pereira Filho, M., Roubach, R., Soares, R. C. (2008). Protease exógena em dietas para juvenis de tucunaré-paca (*Cichla* sp.) Exogenous protease in diets for tucunaré paca (*Cichla* sp.) juvenile. *R. Bras. Zootec.*, 37(6), 971-976.

Souza, S. A., Souza, R. C., Campeche, D. F. B., RML, C., Melo, J. F. B., 2014. Relação proteína: carboidrato no desempenho e no metabolismo de híbridos de *Pseudoplatystoma fasciatum* (fêmea) X *Leiarius marmoratus* (macho). *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 66(3), 879-886.

Stech, M. R., Carneiro, D. J., Pizauro Júnior, J. M., 2009. Fatores que afetam a produção de enzimas digestivas em peixes e o uso de enzimas exógenas como ferramentas em nutrição de peixes. *Ensaio e Ciência: ciências biológicas, agrárias e da saúde*, 8(2), 79-93.

Sugiura, S. H., Gabaudan, J., Dong, F. M., Hardy, R. W., 2001. Dietary microbial phytase supplementation and the utilization of phosphorus, trace minerals and protein by rainbow trout [*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)] fed soybean meal-based diets. *Aquacult. Res.*, 32(7), 583-592.

Walter, H.E. 1984. Proteinases: Methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrates, em: Bergmeyer, H.U. (Ed.), *Methods of enzymatic Analysis*. Verlag Chemie, Weinheim, p. 270- 277.

Williams, C. H., David, D. J., Iismaa, O., 1962. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. *J. Agricult.Sci.*, 59(3), 381-385.

Yildirim, Y. B., Turan, F., 2010. Effects of exogenous enzyme supplementation in diets on growth and feed utilization in African catfish, *Clarias gariepinus*. *J. Anim. Vet. Adv.*, 9(2), 327-331.

Yin, Y. L., Baidoo, S. K., Jin, L. Z., Liu, Y. G., Schulze, H., Simmins, P. H., 2001. The effect of different carbohydrase and protease supplementation on apparent (ileal and overall) digestibility of nutrients of five hullless barley varieties in young pigs. *Livest. Product. Sci.*, 71(2-3), 109-120.

Zamini, A., Kanani, H. G., azam Esmaeili, A., Ramezani, S., Zoriezahra, S. J., 2014. Effects of two dietary exogenous multi-enzyme supplementation, Natuzyme® and beta-mannanase (Hemicell®), on growth and blood parameters of Caspian salmon (*Salmo trutta caspius*). *Comp. Clin. Path.*, 23(1), 187-192.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos sobre mecanismos básicos da nutrição das espécies de peixes cultivados são fundamentais para a geração de tecnologia nacional de aprimoramento do cultivo espécies nativas com potencial produtivo, principalmente carnívoras, ainda pouco exploradas. O pirarucu é uma espécie que se destaca no contexto nacional, principalmente na região norte do país, e apresenta relevância econômica e social, considerada uma das maiores espécies de água doce do mundo com sua carne apreciada pelo mercado consumidor, comparada ao bacalhau.

Os resultados dessa pesquisa trazem boas perspectivas para o uso de complexo enzimático na dieta de juvenis de pirarucu ($65,22 \pm 0,38 - 99,08 \pm 17,38$ g), associando ensaios de digestibilidade aparente com a atividade enzimática e metabólica como ferramentas para conhecer o estado nutricional e fazer inferências sobre a utilização dos nutrientes pela espécie, contribuindo para o desenvolvimento da piscicultura nacional. Ao melhorar a digestibilidade das dietas, a adição do complexo enzimático reduz, além dos custos com alimentação, a excreção de compostos indigestíveis, minimizando os impactos ambientais dos efluentes da piscicultura.

6. REFERÊNCIAS

- ABELHA, M.C.F.; AGOSTINHO, A.A.; GOULART, E. Plasticidade trófica em peixes de água doce. **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 2, 2001.
- ALLAN, G.L.; ROWLAND, S.J. Performance and sensory evaluation of silver perch (*Bidyanus bidyanus* Mitchell) fed soybean or meat meal-based diets in earthen ponds. **Aquaculture Research**, v. 36, n. 13, 2005.
- ALMEIDA, L.C.; LUNDSTEDT, L.M.; MORAES, G. Digestive enzyme responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed on different levels of protein and lipid. **Aquaculture Nutrition**, n. 12, 2006.
- BACA, L.C. **Historia biológica del paiche o pirarucu (*Arapaima gigas*, Cuvier) y bases para su cultivo en la Amazonía, Iquitos-Perú**. Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana - Programa de Biodiversidad, 2001. 27 p.
- BARCELLOS, O. Uma reflexão do comércio internacional dos setores de carne de frango e de soja do Brasil e Mercosul. **Perspectiva Econômica**, v. 2, n. 2, 2006.
- BARD, J.; IMBIRIBA, E.P. Piscicultura do pirarucu, *Arapaima gigas*. **Boletim Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, v. 52, 1986.
- BOMFIM, M.A.D.; LANNA, E.A.T. Fatores que afetam os coeficientes de digestibilidade nos alimentos para peixes. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 1, n. 1, 2004.
- BOOTH, M.A.; MOSES, M.D.; ALLAN, G.L. Utilisation of carbohydrate by yellowtail kingfish *Seriola lalandi*. **Aquaculture**, v. 376, 2013.
- BORGES, N.S.; PASSOS, E.C.; STEDEFELDT, E.; DE ROSSO, V.V. Aceitabilidade e qualidade dos produtos de pescado desenvolvidos para a alimentação escolar da baixada santista. **Alimentos e Nutrição**, v. 22, n.3, 2011.
- BREMER NETO, H. et al. Diminuição do teor de óxido de crômio (III) usado como marcador externo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2003.
- BRITO, M.S. Polissacarídeos não amiláceos na nutrição de monogástricos – Revisão. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.2, n.4, 2008.
- BUCKUP, P.A.; MENEZES, N.A.; GHAZZI, M.S. **Catálogo das espécies de peixes de água doce do Brasil**. Rio de Janeiro: Museu Nacional, 2007. 195p
- CAMPESTRINI, E; SILVA, V.T.M.; APPELT, M.D. utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.2, n 6, 2005.
- CASTELLO, L. Lateral migration of *Arapaima gigas* in floodplains of the Amazon. **Ecology of Freshwater Fish**, v. 17, 2008a.
- CASTELLO, L. Nesting habitat of *Arapaima gigas* (Schinz) in Amazonian floodplains. **Journal of Fish Biology**, v.72, 2008b.
- CASTILLO, S.; GATLIN III, D.M. Dietary supplementation of exogenous carbohydrase enzymes in fish nutrition: a review. **Aquaculture**, v. 435, 2015.
- CAVERO, B.A.S. et al. Efeito da densidade de estocagem na homogeneidade do crescimento de juvenis de pirarucu em ambiente confinado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 1, 2003a.

- CAVERO, B.A.S. et al. Tolerância de juvenis de pirarucu ao aumento da concentração de amônia em ambiente confinado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n.5, 2004.
- CAVERO, B.A.S. et al. Uso de alimento vivo como dieta inicial no treinamento alimentar de juvenis de pirarucu. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 8, 2003b.
- CIPRIANO, F.S. et al. Apparent digestibility of energetic ingredients by pirarucu juveniles, *Arapaima gigas* (Schinz, 1822). **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 43, n. 4, 2015.
- CIPRIANO, F.S. et al. Digestibility of animal and vegetable protein ingredients by pirarucu juveniles, *Arapaima gigas*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 45, n. 10, 2016.
- CONCEIÇÃO, L.E.C. et al. Avanços recentes em nutrição de larvas de peixes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, 2009.
- CORRÊA, C.F. et al. Responses of digestive enzymes of tambaqui (*Colossoma macropomum*) to dietary cornstarch changes and metabolic inferences. **Comparative Biochemistry and Physiology**, n. 147, 2007.
- CRESCÊNCIO, R. **Treinamento alimentar de alevinos de pirarucu, *Arapaima gigas* (Cuvier, 1829), utilizando atrativos alimentares**. 2001. 35 f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Água Doce e Pesca Interior) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, 2001.
- CYRINO, J.E.P. et al. A piscicultura e o ambiente: o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. suppl spe, 2010.
- DALSGAARD, J. et al. Effects of exogenous enzymes on apparent nutrient digestibility in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets with high inclusion of plant-based protein. **Animal feed science and technology**, v. 171, n. 2-4, 2012.
- DEL RISCO, M. et al. Efecto de tres niveles de proteína dietaria en el crecimiento de juveniles de paiche, *Arapaima gigas* (Shinz, 1822). **Folia amazónica**, v. 17, n. 1-2, 2008.
- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2018**. 2018 - Meeting the sustainable development goals. Rome, 2018. 227 p. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/I9540EN/i9540en.pdf>>. Acesso em: 12 out. 2018.
- FARIA, A.C.E.A.; HAYASHI, C.; SOARES, C.M. Farinha de vísceras de aves em rações para alevinos de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.). **R. Bras. Zootec**, v. 31, n. 2, 2002.
- FERNANDES, J.B.K.; CARNEIRO, D.J.; SAKOMURA, N.K. Fontes e níveis de proteína bruta em dietas para alevinos de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Revista brasileira de Zootecnia**, 2000.
- FILIPETTO, J. E. S. Substituição de fígado bovino por glúten de milho, glúten de trigo e farelo de soja em rações para pós-larvas de piavas (*Leporinus obtusidens*). **Ciência Rural**, v.35, n.1, 2005.

FONTENELE, O. Contribuição para o conhecimento da biologia do pirarucu *Arapaima gigas* (Cuvier), em cativeiro (Actinopterygii, Osteoglossidae). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 8, n. 4, 1948.

FRANCIS, G.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. **Aquaculture**, v. 199, n. 3-4, 2001.

FRANCO-ROJAS, H. H.; PELÁEZ RODRIGUEZ, M. **Cría y producción de pirarucú en cautiverio**: experiencias en el Piedemonte Caqueteño. Florencia: Universidad de la Amazonia, 2007. 50 p.

GLASS, H.J.; MACDONALD, N.L.; MORAN, R.M.; STARK, J.R. Digestion of protein in different marine species. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 91B, n. 3, 1989.

GUIMARÃES, I.G. et al. Digestibilidade aparente de rações contendo complexo enzimático para tilápia-do-nilo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 6, 2009.

HALVERSON, M. **Manual de Boas Práticas de Reprodução do Pirarucu em Cativeiro**. Brasília: SEBRAE, 2013. 76 p.

HARDY, R.W. Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. **Aquaculture Research**, v.41, 2010.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da pecuária municipal 2014**. v. 42. Rio de Janeiro: Governo Federal, 2015. 36 p. Disponível em: <http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2014_v42_br.pdf>. Acesso em: 16 jul. 2018.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da pecuária municipal 2015**. v. 43. Rio de Janeiro: Governo Federal, 2016. 47 p. Disponível em: <http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2015_v43_br.pdf>. Acesso em: 24 jul. 2018.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da pecuária municipal 2017**. v. 45. Rio de Janeiro: Governo Federal, 2018. 9 p. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2017_v45_br_informativo.pdf>. Acesso em: 17 out. 2018.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da pecuária municipal 2016**. v. 44. Rio de Janeiro: Governo Federal, 2017. 53 p. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2016_v44_br.pdf>. Acesso em: 17 out. 2018.

IMBIRIBA, E. P. Potencial da criação de pirarucu, *Arapaima gigas*, em cativeiro. **Acta Amazonica**, v. 31, 2001.

IMBIRIBA, E.P.; LOURENCO JUNIOR, J.B.; DUTRA, S. Rendimento de carne de pirarucu, *Arapaima gigas* (Cuvier). **Embrapa Amazônia Oriental-Séries anteriores (INFOTECA-E)**, n. 150, 1994.

ITUASSÚ, D.R. et al. Níveis de proteína bruta para juvenis de pirarucu. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, n.3, 2005.

- KOLKOVSKI, S. Digestive enzymes in fish larvae and juveniles – implications and applications to formulated diets. **Aquaculture**, v. 200, 2001.
- KUBITZA, F. **Nutrição e Alimentação dos Peixes Cultivados**. 3 ed. Jundiaí: USP, 1999.
- KUBITZA, F. Qualidade da água na produção de peixes-Parte III (final). **Panorama da Aquicultura**, v. 8, n. 47, 1998.
- KUMAR, V. Phytate and phytase in fish nutrition. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. v.1, n. 96.
- LIMA, A. F. et al. **Alevinagem, recria e engorda de pirarucu**. Embrapa Pesca e Aquicultura-Livro técnico (INFOTECA-E). 2017. 157p.
- LOVELL, T. **Nutrition and feeding of fish**. New York: Van Nostrand Reinhold, 1989.
- LUNDSTEDT, L.M.; MELO, J.F.B.; MORAES, G. Digestive enzymes and metabolic profile of *Pseudoplatystoma corruscans* (Teleostei: Siluriformes) in response to diet composition. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 137, n. 3, 2004.
- MAGALHÃES-JÚNIOR, F.O. et al. Digestible Protein Requirement of Pirarucu Juveniles (*Arapaima gigas*) Reared in Outdoor Aquaculture. **Journal of Agricultural Science**, v. 9, n. 9, 2017.
- MELO, J. F. B. et al. Effect of different concentrations of protein on the digestive system of juvenile silver catfish. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 64, n. 2, 2012.
- MELO, J.F.B. et al. Effects of dietary levels of protein on nitrogenous metabolism of *Rhamdia quelen* (Teleostei: Pimelodidae). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 145, n. 2, 2006.
- MELO, J.F.B. et al. Glycolysis and gluconeogenesis in the liver of catfish fed with different concentrations of proteins, lipids and carbohydrates. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 5, 2016.
- MENEZES, N.A. et al. 2003. **Catálogo das espécies de peixes marinhos do Brasil**. São Paulo, Museu de Zoologia USP. 160p.
- MEURER, F.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R. Digestibilidade aparente de alguns alimentos protéicos pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n. 6, 2003.
- MORAES, G.; ALMEIDA, L.C. Nutrição e aspectos funcionais da digestão de peixes. In: BALDISSEROTTO, B.; CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C. **Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce**. Jaboticabal: UNESP, 2014. 336 p. cap. 11, p. 233 – 252.
- NENGAS, I.; ALEXIS, M.N.; DAVIES, S.J. High inclusion levels of poultry meals and related byproducts in diets for gilthead seabream *Sparus aurata* L. **Aquaculture**, v. 179, n. 1-4, 1999.
- NIKOLSKI, D. L. G. **The ecology of fishes**. London: Acad. Press. 1963.
- OLIVEIRA, C.E. Piscicultura Amazônica. **A voz do mar**, v. 23, n. 188, 1944.
- OLIVEIRA, E.G. et al. Effects of stocking density on the performance of juvenile pirarucu (*Arapaima gigas*) in cages. **Aquaculture**, v. 370, 2012.

OLIVEIRA, P.R. et al. Avaliação sensorial, físico-química e microbiológica do pirarucu (*Arapaima gigas*, Schinz 1822) durante estocagem em gelo. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 1, 2014.

OLIVEIRA, V.Q. et al. Preliminary Studies on the Optimum Feeding Rate for *Pirarucu Arapaima gigas* Juveniles Reared in Floating Cages. **International Journal of Aquaculture**, v. 3, 2013.

ONO, E.A. A produção do pirarucu: uma visão geral. **Panorama da Aquicultura**, 2011.

ONO, E.A. et al. Digestibilidade aparente de dietas práticas com diferentes relações energia: proteína em juvenis de pirarucu. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 2, 2008.

ONO, E.A.; KEHDI, J. **Manual de boas práticas de produção do pirarucu em cativeiro**. Brasília, DF: Sebrae, 2013. 44 p.

PEIL, S.Q. et al. Adição de vitamina a na dieta de pós-larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Biodiversidade Pampeana Uruguaiana**, v. 5, n. 1, 2007.

PÉREZ, P.P. et al. **Efecto de la tasa de alimentación en el crecimiento del paiche, *Arapaima gigas***. MEMORIAS: Manejo de Fauna silvestre en Amazonia y Latinoamérica, 2003.

PEZZATO, L.E. et al. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, 2002.

PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; FURUYA, W.M. Valor nutritivo dos alimentos utilizados na formulação de rações para peixes tropicais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2009.

QUEIROZ, H.L. **Natural history and conservation of pirarucu, *Arapaima gigas*, at the amazonian varzea: red giants in muddy waters**. 2000. 251p. Thesis (PhD) - University of St. Andrews, 2000.

REBELATTO JUNIOR, I. A. et al. **Reprodução e engorda do pirarucu: levantamento de processos produtivos e tecnologias**. Brasília, DF: Embrapa, 2015. 102 p.

RIBEIRO, P.A.P. et al. **Manejo nutricional e alimentar de peixes de água doce**. Belo Horizonte, 2012. 92p.

ROBINSON, E.H.; LI, M.H. Low protein diets for channel catfish *Ictalurus punctatus* raised in earthen ponds at high density. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 28, 1997.

RODRIGUES, A.P.O.; MORO, G.V.; SANTOS, V.R.V. et al. **Alimentação e nutrição do pirarucu (*Arapaima gigas*)**. Palmas: Embrapa Pesca e Aquicultura, 2015. 32 p.

ROTTA, M. A. **Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura**. v.53. Corumbá: Embrapa Pantanal-Documentos (INFOTECA-E), 2003. 49 p.

SHI, Z. et al. Effects of protease supplementation in low fish meal pelleted and extruded diets on growth, nutrient retention and digestibility of gibel carp, *Carassius auratus gibelio* **Aquaculture**, v. 460, 2016.

- SILVA, S.S.; ANDERSON, T.A. **Fish nutrition in aquaculture**. CHAPMAN & HALL, 1995. 320 p.
- SOARES, E.C. Avanços no cultivo de espécies carnívoras. **PUBVET**, v.2, n.20, 2008.
- SOUZA, S.A. et al. Relação proteína: carboidrato no desempenho e no metabolismo de híbridos de *Pseudoplatystoma fasciatum* (fêmea) X *Leiarius marmoratus* (macho). **Embrapa Semiárido-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2014.
- STECH, M.R.; CARNEIRO, D.J.; PIZAURO JÚNIOR, J.M. Fatores que afetam a produção de enzimas digestivas em peixes e o uso de enzimas exógenas como ferramentas em nutrição de peixes. **Ensaio e Ciência: ciências biológicas, agrárias e da saúde**, v. 13, n. 2, 2009.
- STONE, D.A.J. Dietary Carbohydrate Utilization by Fish. **Reviews in Fisheries Science**, v. 11, n. 4, 2003.
- SUNDE, J.. Effect of fish feed processing conditions on digestive protease activities, free amino acid pools, feed conversion efficiency and growth in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Aquaculture Nutrition**, n. 10, 2004.
- SUNDE,J.; TARANGER, G.L; RUNGRUANGSAK-TORRISSEN, K. Digestive protease activities and free amino acids in white muscle as indicators for feed conversion efficiency and growth rate in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Fish Physiology and Biochemistry**, n. 25, 2001.
- TENGJAROENKUL, B. Distribution of intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. **Aquaculture**, v. 182, 2000.
- WATSON, L.C.; STEWART, D.J.; TEECE, M.A. Trophic ecology of Arapaima in Guyana: giant omnivores in Neotropical floodplains. **Neotropical Ichthyology**, v. 11, n. 2, 2013.
- WILLIAMS, C. H.; DAVID, Di J.; IISMAA, O. The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. **The Journal of Agricultural Science**, v. 59, n. 3, 1962.
- ZAMBOM, M.A. et al. Valor nutricional da casca do grão de soja, farelo de soja, milho moído e farelo de trigo para bovinos. **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 4, 2001.

APÊNDICE I - PROTOCOLO DE DIGESTÃO DAS AMOSTRAS PARA DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ÓXIDO DE CROMO III

A digestão foi realizada no Laboratório de Pesquisa em Química Analítica (LPQA - UESC) e a quantificação no Centro de Microscopia Eletrônica (CME - UESC).

1. Pesar 200 mg de cada amostra em triplicata;
2. adicionar 4 mL de ácido nítrico concentrado;
3. colocar amostras no bloco digestor e contar 30 minutos após atingir a temperatura de 50 °C;
4. aumentar a temperatura do bloco para 130 °C e deixar por 2 horas;
5. adicionar 3 mL de peróxido de hidrogênio fracionado em três vezes de 1 mL a cada 20 minutos;
6. filtrar as amostras em filtros de fibra de vidro e armazenar em local refrigerado para posterior quantificação no Espectrofotômetro de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES).

APÊNDICE II - PROTOCOLOS DA ANÁLISE ENZIMÁTICA E METABÓLICA

As análises metabólicas foram realizadas no Laboratório de Aquicultura da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF).

1. ENZIMAS

Cerca de 100 mg de amostras do fígado e intestino anterior foram homogeneizadas em misturador com 1 mL de ácido tricloroacético ($C_2HCl_3O_2$) 20%. Três alíquotas de cada amostra (triplicata) de 20 μ L do homogeneizado foram adicionadas em ependorfs para centrifugação (3000 rpm durante três minutos). O sobrenadante foi utilizado para as determinações da atividade das enzimas: amilase, lipase no intestino e aspartato aminotransferase no fígado. As análises foram realizadas seguindo os protocolos dos kits comerciais Labtest referências 11, 107, 109, respectivamente.

A atividade da protease alcalina no intestino foi determinada de acordo com a metodologia descrita por (WALTER, 1984).

- Adicionar solução de caseína 1% como substrato da reação;
- adicionar 20 μ L do homogeneizado da amostra de intestino;
- adicionar 250 - 400 μ l de azocaseína 1 % e tampão Tris/HCl 0.1 M (pH 8.0) na mistura de incubação;
- aguardar a incubação da mistura por 30 minutos à 35 °C;
- interromper a reação com adição de 1.0 ml de TCA 15 %;
- centrifugar a 1.800 g por 10 minutos;
- foi utilizada tirosina como padrão;
- a unidade de atividade enzimática será definida como a quantidade de enzima necessária para catalisar a formação de 1 μ g de tirosina por minuto.

REFERÊNCIA: WALTER, H.E. Proteinases: Methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrates. In Bergmeyer, H.U. (Ed.). Methods of enzymatic Analysis, Verlag Chemie, Weinheim., v. 5, p. 270- 277, 1984

2. GLICOGÊNIO

O glicogênio foi determinado nas amostras de fígado de acordo com a metodologia proposta por Bidinoto et al. (1997).

- Adicionar 1 mL de KOH 6,0N em um tubo com aproximadamente 100 mg de fígado;
- aquecer em banho maria fervente por 3 a 5 minutos;
- passar 250 μ L desta suspensão em tubo limpo e;
- adicionar 1,5 mL de etanol P.A.
- agitar para homogeneizar;
- adicionar 100 μ L de K_2SO_4 ;
- centrifugar 3000 rpm por 3 minutos;
- descartar o sobrenadante invertendo o tubo;
- adicionar 1,25 mL de água destilada ao precipitado e agitar;
- fazer a leitura do branco, padrão e das amostras em espectrofotômetro no comprimento de onda de 480 nm.

REFERÊNCIA: BIDINOTTO, P.M., MORAES, G., SOUZA, R.H.S. Hepatic glycogen and glucose in girth tropical freshwater teleost fish: A procedure for field determinations of micro samples. **Boletim Técnico CEPTA**, v. 10, 1997.

3. PROTEÍNAS TOTAIS

Foram determinadas seguindo as recomendações do kit Labtest referência 99.

- Colocar o reagente biureto nos ependorfs;
- adicionar 20 µL do homogeneizado da amostra de fígado;
- deixar 10 minutos em banho maria na temperatura de 37 °C;
- fazer a leitura do branco, padrão e das amostras em espectrofotômetro no comprimento de onda de 545 nm.
- Cálculo:

$$Proteínas\ totais\ (g\ dL^{-1}) = \frac{Absorbância\ do\ teste}{Absorbância\ do\ padrão} \times 4$$

APÊNDICE III - PROTOCOLOS DA ANÁLISE BROMATOLÓGICA

As análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal (LABNUT) e no Laboratório de Alimentação e Nutrição de Peixes (AQUANUT) da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) de acordo com as recomendações de Detmann et al. (2012).

1. MATÉRIA SECA (MS)

As amostras de fezes e carcaça foram congeladas a $-81\text{ }^{\circ}\text{C}$ e colocadas no liofilizador durante 72 horas, equipamento que retira o vácuo do tubo aonde se encontra a amostra e extrai a umidade por sublimação. Já as amostras de ração foram secas por 24 horas em estufa a $105\text{ }^{\circ}\text{C}$.

$$\%MS = \frac{\text{amostra seca}}{\text{amostra}} \times 100$$

2. MATÉRIA MINERAL (MM)

A matéria mineral (MM) de todas as amostras foi obtida através da queima em forno mufla à $600\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 4 horas.

$$MM = (\text{cadinho} + MM) - \text{cadinho}$$

$$\%MM_{\text{amostra}} = \frac{MM}{\text{amostra}} \times 100$$

$$MM_{MS} = \frac{\%MM_{\text{amostra}}}{\% \text{amostra seca}} \times 100$$

3. PROTEÍNA BRUTA (PB)

A proteína bruta das amostras foi determinada através da digestão em ácido sulfúrico (H_2SO_4) e mistura catalítica (sulfato de sódio - Na_2SO_4 e sulfato de cobre - CuSO_4), destilação com hidróxido de sódio (NaOH) e ácido bórico (H_3BO_3) seguidas da titulação com ácido clorídrico (HCl), de acordo com o método de *kjeldahl*.

$$\%N_{\text{amostra}} = \frac{(\text{Volume}_{\text{HCl titulação}} - \text{Volume}_{\text{HCl branco}}) \times \text{Normalidade}_{\text{HCl}} \times \text{fator de correção}_{\text{HCl}} \times 14 \times 100}{\text{amostra}}$$

$$\%N_{MS} = \frac{\%N_{\text{amostra}}}{\% \text{amostra seca}} \times 100$$

$$\%PB_{MS} = \%N_{MS} \times 6,25$$

4. EXTRATO ETÉREO (EE)

A quantificação do extrato etéreo (EE) foi feita pelo método *Goldfish*, que consiste na lavagem contínua da amostra com éter etílico quente, seguindo as etapas de extração, remoção e pesagem. A análise seguiu as recomendações feitas por Detmann et al. (2012),

com as seguintes modificações: foram pesados entre 750 mg das amostras, colocadas nos cartuchos, que em seguida foram secos em estufa a 105 °C por 2 horas. Após a secagem em dessecador por meia hora, os cartuchos foram pesados e acoplados no aparelho. Quando a temperatura do éter alcançou 90 °C, os cartuchos ficaram imersos por 30 minutos e em seguida sofreram lavagens por cotejamento alternadas de 15 em 15 minutos, durante 3 horas. Ao término da extração, os cartuchos foram colocados no exaustor para evaporação do éter e em seguida secos por 1 hora em estufa a 105 °C. Depois de secos, os cartuchos foram acondicionados em dessecador até alcançar a temperatura ambiente para pesagem. A diferença entre o peso dos cartuchos antes e depois da extração corresponde ao peso da gordura extraída, logo:

$$EE = (\text{cartucho} + \text{amostra}) - \text{cartucho}$$

$$\%EE_{amostra} = \frac{EE}{amostra} \times 100$$

$$\%EE_{matéria\ seca} = \frac{\%EE_{amostra}}{\%matéria\ seca} \times 100$$

REFERÊNCIA: DETMANN, E. et al. **Métodos de para Análise de Alimentos**. Visconde do Rio Branco: Universidade Federal de Viçosa, 2012. 214p.