

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**Soja crua em dietas para a tilápia-do-nilo**  
*(Oreochromis niloticus)*

GRACIELA PESSOA MARTINS

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-graduação em Aquicultura como parte  
dos requisitos para obtenção do título de  
Mestre

JABOTICABAL – SP  
Abril – 2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**Soja crua em dietas para a tilápia-do-nilo**  
*(Oreochromis niloticus)*

GRACIELA PESSOA MARTINS  
Zootecnista

ORIENTADORA: Profa. Dra. Margarida Maria Barros

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-graduação em Aquicultura como parte  
dos requisitos para obtenção do título de  
Mestre

JABOTICABAL – SP  
Abril - 2011

M379s Martins, Graciela Pessoa  
Soja Crua em Dietas Para a Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) / Graciela Pessoa Martins. -- Jaboticabal, 2011  
iv, 79 f. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2011

Orientadora: Margarida Maria Barros  
Banca examinadora: Dalton José Carneiro, Edma Carvalho de Miranda  
Bibliografia

1. Tilápia-do-Nilo-dieta. 2. Piscicultura. 3. Soja-Crua-Tilápia-dieta.  
I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.3.043

## **DEDICATÓRIA**

A **DEUS** por sempre estar ao meu lado, me guiando, me fortalecendo e sendo luz constante no meu caminho.

*“Senhor, tu chegas ao mais profundo de mim e me conheces por dentro. Sabes quando me detenho ou quando não sei o que fazer; entendes minhas ilusões e meus desejos como se fossem teus; em meu caminho puseste uma trilha, em meu descanso te sentaste a meu lado; tocaste todos os meus projetos palmo a palmo.”*

*Salmo 139*

Aos meus pais, **Adevir e Maria Lúcia**, por serem pais maravilhosos e terem sempre me ensinado valores tão nobres a respeito da vida. Obrigada pai e mãe por tudo, amo muito vocês!!!

*“ Um lar é muito mais que uma casa... Dialogar é muito mais que contar o que passa conosco... Reunir-se é muito mais que estar juntos... Compartilhar é muito mais que emprestar coisas... Viver felizes é muito mais que estar contentes...”*

*Juan Carlos Pisano*

As minhas irmãs, **Givânia e Luciana** pelas conversas, orientações a respeito da vida e pelas inúmeras alegrias que juntas pudemos compartilhar. Gi e Lú, amo vocês!!!

Ao meu namorado **Bruno**, pelo apoio constante em tudo que faço e pela sua cumplicidade nos momentos difíceis. Amor te amo demais!!! Obrigada por você ser parte da minha vida!!!

Aos meus amados sobrinhos **Júlia, Vitória, Maísa e Vinícius**, por sempre proporcionar muitas risadas em nossa família!!

## **AGRADECIMENTOS**

*Em primeiro lugar, agradeço a Deus pela minha vida e por seu infinito amor por mim, por nunca permitir que me sentisse só, por sempre soprar palavras de segurança e incentivo no meu coração, por ser uma “fé viva” dentro de mim e por ter permitido que eu nascesse numa família maravilhosa e encontrasse sempre pessoas iluminadas ao longo da minha caminhada;*

*À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pela concessão da bolsa de estudos;*

*À minha orientadora, Profa. Dra. Margarida Maria Barros, pela paciência, ensinamentos constantes e por ser exemplo de dedicação, força e excelência em tudo que faz;*

*Ao Prof. Dr. Luiz Edivaldo Pezzato, pelos ensinamentos, amizade, incentivo e exemplo profissional;*

*Ao Prof. Dr. Ricardo Oliveira Orsi, pelo incentivo e apoio em todos os momentos;*

*Ao Prof. Dr. Carlos Roberto Padovani, Departamento de Bioestatística, pela atenção e auxílio na realização das análises estatísticas;*

*À Profa. Dra. Renée Laufer Amorim, Departamento de Patologia Veterinária da FMVZ – Unesp Botucatu pelo auxílio nas análises histológicas;*

*À Profa. Dra. Silvana Pando, por sua atenção e auxílio na análise de hemaglutinina;*

*À Profa. Dra. Maria Regina Barbieri de Carvalho, Departamento de Tecnologia da FCAV- Unesp Jaboticabal pelo auxílio na análise de hemaglutinina;*

*À Profa. Dra. Edma Carvalho de Miranda e ao Prof. Dr. Dalton José Carneiro pelas sugestões dadas para o aprimoramento da dissertação;*

*À toda a equipe do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos – AquaNutri; Igo Gomes Guimarães, Vivian Gomes dos Santos, Ademir Calvo Fernandes Junior, João Fernando Albers Koch, Caroline Peregrina Teixeira, Rosangela do Nascimento Fernandes, Altevir Signor, André Moreira Bordinhon, Fernando Kojima Nakagome, Daniel de Magalhães Araújo, Luis Gabriel Quintero Pinto, Blanca Stella Pardo Gamboa, Renan de Mattos Botelho, Mariucha Karina Honório Ribeiro Rocha, Rafael Lopes da Silva, Felipe Tenório Cintra, Flavia Mota Damasceno, Érica Fernandes Paris Martins, Pedro Luiz Pucci Figueiredo de Carvalho, William Ferdinand Koptian Senske, Eric (Jundiá), Mariana (Vuku) entre muitos outros que passaram pelo laboratório agradeço pelo apoio, ajuda, amizade e carinho.*

*Aos professores e funcionários do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal pelo auxílio e amizade;*

*Ao Prof. Dr. Edson Ramos da Siqueira por ser esse ser iluminado, paciente e de enorme sabedoria;*

*Ao Prof. Dr. Mário de Beni Arrigoni por sempre ser esse amigo maravilhoso e pelos conselhos ao longo desses anos;*

*A Prof. Dra. Valquíria, pelo exemplo de pessoa e de dedicação;*

*Aos funcionários e amigos da Seção de Pós-graduação do Centro de Aquicultura da UNESP – CAUNESP, Veralice Capatto e David Oliveira pela atenção e auxílios prestados;*

*Aos funcionários da Seção de Pós-graduação da FMVZ, Posto de Serviço Lageado, Seila Cristina Cassineli Vieira e Carlos Pazini Junior;*

*Aos funcionários da biblioteca, pela ajuda nos momentos de estudo;*

*À Gisele Setznagl do Laboratório de Bromatologia pela ajuda nas análises químicas e pela amizade;*

*Ao José Carlos Pedroso de Lima, pela ajuda na realização das lâminas histológicas;*

*À Tania de Lima do Laboratório de Tecnologia de Jaboticabal pela ajuda na análise de hemaglutinina;*

*Aos meus cunhados Luis Cláudio e Marcos, aos meus lindos sobrinhos Júlia, Maísa, Vinícius e Vitória, aos meus avôs Antonio, Conceição, Sofia e em memória meu avô Eujácio;*

*Aos meus tios pela torcida e orações por mim;*

*Aos meus primos por terem sempre me ajudado e pelas conversas amigas;*

*À minha querida sogra Rita Mazini e cunhada Ariane, por terem aberto com todo o carinho a porta de sua casa;*

*Aos amigos Vanessa Pontes, Fabíola, Débora Aline, Daniele de Lova, Flávio, Ricardo, Talita, Tatiane, Tatiana Dias, Margarete, Larissa, Fábio, Sander, Suzana, Fernanda Victor, Fernanda Greco, Cinthia, Bárbara, Dayana e Raquel pela lealdade e amizade que não tem fim.*

*Aos queridos amigos do Aconchego (Centro de Convivência do Idoso) por ter me recebido com todo o amor e carinho e acima de tudo ter me proporcionado grande aprendizado sobre a vida;*

*A todos que de alguma forma me ajudaram para a realização deste trabalho, o meu muito obrigada!!*

***“Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo, qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim.”***

***Francisco Cândido Xavier***

## SUMÁRIO

### CAPITULO I

CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	2
TILÁPIA-DO-NILO.....	2
AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DA SOJA.....	3
USO DA SOJA NA ALIMENTAÇÃO DE PEIXES.....	4
DIGESTIBILIDADE DA PROTEINA DA SOJA.....	6
FATORES ANTINUTRICIONAIS.....	9
INIBIDORES DE PROTEASE.....	10
HEMAGLUTININAS E ATIVIDADE HEMAGLUTINANTE.....	13
FITATOS.....	17
SAPONINAS.....	20
OUTROS FATORES ANTINUTRICIONAIS DA SOJA.....	21
CONTROLE DE QUALIDADE DA SOJA CRUA.....	22
HEMATOLOGIA.....	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27

### CAPÍTULO II

SOJA CRUA EM DIETAS PARA A TILÁPIA-DO-NILO.....	40
Resumo.....	40
Abstract.....	41
Introdução.....	42
Material e Métodos.....	43
Resultados.....	51
Discussão.....	53
Referências Bibliográficas.....	61

### LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição químico-bromatológica e o percentual dos ingredientes da dieta referência e da dieta teste.....	68
Tabela 2. Composição químico-bromatológica e o percentual dos ingredientes das dietas experimentais.....	69

Tabela 3. Análise químico-bromatológica e coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca, energia bruta, proteína bruta, extrato etéreo e cinzas da soja crua.....	70
Tabela 4. Análise dos fatores antinutricionais e valores digestíveis da soja crua.....	70
Tabela 5. Médias e desvio padrão de ganho de peso (GP), consumo aparente ração (CR), conversão alimentar aparente (CAA), taxa de eficiência proteica (TEP), taxa de retenção proteica (TRP) e sobrevivência (SOB) de juvenis de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas contendo níveis 0; 15; 25 e 35% de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da soja crua.....	71
Tabela 6. Média e desvio-padrão da composição química da carcaça da tilápia-do-nilo alimentadas com dietas contendo níveis 0; 15; 25 e 35% de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da soja crua.....	72
Tabela 7. Média e desvio-padrão do número de eritrócito (Erit), porcentagem de hematócrito (Htc), taxa de hemoglobina (Hb), volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) de juvenis de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas contendo níveis 0; 15; 25 e 35% de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da soja crua.....	73
Tabela 8. Média e desvio padrão de proteína plasmática (PPT), albumina (ALB), globulina (GLOB) e relação albumina/globulina (ALB:GLOB) de juvenis de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas contendo níveis 0; 15; 25 e 35% de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da soja crua.....	74
Tabela 9. Mediana e valores mínimos e máximos de número absoluto leucócitos (LEUC), trombócitos (TROMB), linfócitos (LF), neutrófilos (NT), monócitos (MN), basófilos (BAS), células imaturas (CI) e eosinófilos (EOS) de juvenis tilápia-do-nilo alimentadas com dietas contendo níveis 0; 15; 25 e 35% de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da soja crua.....	75

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Análise macroscópica do fígado de tilápia-do-nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) aos 45 dias.....	77
Figura 2. Análise macroscópica do fígado de tilápia-do-nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) aos 90 dias.....	77
Figura 3. Fotomicrografia do fígado de tilápia-do-nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) aos 45 dias.....	77
Figura 4. Fotomicrografia do fígado de tilápia-do-nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) aos 90 dias.....	78
Figura 5. Fotomicrografia do fígado de tilápia-do-nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) aos 90 dias.....	78

**IMPLICAÇÕES..... 79**

# **CAPÍTULO I**

## CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A nutrição de peixes cresce consideravelmente no Brasil e no mundo, acompanhando o avanço e o desenvolvimento de outros segmentos da aquicultura. No entanto, a alimentação representa aproximadamente de 60 a 70% dos custos de produção e, um dos nutrientes que transforma a ração onerosa é a proteína (Tacon, 2003). Pesquisadores tem estudado alternativas para a substituição de ingredientes protéicos de alto custo na ração. No Brasil esta realidade se pauta em sucedâneos para o farelo de soja, sendo que em outros países, como por exemplo os Estados Unidos, o principal foco de estudos é a substituição da farinha de peixe.

Os ingredientes proteicos de origem vegetal são atrativos na indústria de rações, pois apresentam menor custo e, ainda, por existirem em abundância no Brasil. Porém, podem apresentar vários fatores antinutricionais, que prejudicam o desempenho dos animais. Como exemplo de alimento que possui fatores antinutricionais, pode-se citar a soja (*Glycine max*) conhecida pela presença dessas substâncias, cuja inativação requer a presença de calor, que pode encarecer o produto e até mesmo prejudicar seu valor nutritivo se o tratamento for inadequado.

## TILÁPIA-DO-NILO

A tilápia-do-nilo, *Oreochromis niloticus*, pertence à família dos ciclídeos, e é originária da bacia do rio Nilo, no Leste da África; sua produção concentra-se em países que apresentam climas tropical e subtropical. É espécie de fácil manejo e muito resistente a doenças (Lovshin, 1998).

A criação de tilápia também merece destaque na produção aquícola, que chegou a 132 mil toneladas/ano, que representa 39% do total de pescado cultivado, ocasionando somente da piscicultura, elevação de 60,2% em 2008 e 2009, em comparação com 2007 (Ministerio da Pesca e Aquicultura, 2010). No ano de 2011, a expectativa do Ministério da Pesca e Aquicultura é de que a produção total de pescado atinja a meta de 1,43 milhões de toneladas. De acordo com essas projeções, a aquicultura responderá por cerca de 570 mil

toneladas/ano e a pesca extrativa, tanto marítima quanto continental, com cerca de 860 mil toneladas/ano (Ministerio da Pesca e Aquicultura, 2010).

## **AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DA SOJA**

A soja é uma leguminosa que apresenta alto valor nutricional. Tem origem na China e é conhecida desde 2800 A.C. O seu nome originário é “Chian lou”, posteriormente traduzido pelos japoneses como “So-y-a” e, hoje, conhecida mundialmente por soja (Butolo, 2002). Desde a década de 50 passou a ter importância no Brasil (Costa, 1972) e atualmente ocupa o 2º lugar na produção mundial (Butolo, 2002). Muitas pesquisas foram realizadas na área de melhoramento genético a fim de se obter cultivares altamente produtivos e com altos teores de óleo nas sementes (Kiihl et al., 1971), sendo a obtenção deste produto, o foco principal da indústria. Os grãos de soja apresentam pouco ou nenhum amido, cerca de 20% de óleo e 40% de proteína (Sgarbieri, 1996).

O óleo de soja apresenta altas concentrações de ácidos graxos das séries linoléica e linolenica e apesar das altas proporções de ácidos graxos poliinsaturados é relativamente estável à oxidação (Sgarbieri, 1996).

A proteína da soja possui adequada composição em aminoácidos, particularmente lisina, triptofano, fenilalanina e leucina, sendo por isso muito apreciada pelos nutricionistas, embora seja deficiente em aminoácidos sulfurados (metionina e cistina), para a maioria das espécies animais (Lovell, 1985). A composição em aminoácidos está relacionada a diversos fatores, entre eles: variabilidade genética, condições climáticas e de plantio e, ainda, aos tipos de processamento a que são submetidos (Giacheto, 1995). A soja também é excelente fonte de minerais como: cobre, ferro, fósforo, potássio, manganês, magnésio e vitaminas do complexo B (Embrapa, 2010).

Entretanto, o valor nutricional da soja é limitado pela presença de diversos fatores antinutricionais. Entre as substâncias que produzem efeitos prejudiciais destacam-se os inibidores de proteases (tripsina e quimotripsina), as hemaglutininas (lectinas), os compostos fenólicos (taninos), as anti-vitaminas, os quelantes de metais e alguns glicosídeos (saponinas). Dentre

esses, os mais investigados são os inibidores de proteases (Pusztal, 1991). Estes são proteínas de ampla distribuição no reino vegetal, capazes de inibir as atividades da tripsina, quimotripsina, amilase e carboxipeptidase (Silva e Silva, 2000). O inibidor de tripsina bloqueia a ação da tripsina resultando em aumento excessivo da concentração plasmática de colecistoquinina, e desta forma, o pâncreas é continuamente estimulado a liberar mais enzima, provocando hipertrofia pancreática (Carvalho, 2002).

Os fatores antinutricionais estão presentes nos grãos de soja. Para melhorar a qualidade nutricional e utilizá-la como alimento, há necessidade de remover ou inativar esses constituintes. Uma alternativa seria a criação de cultivares, por meio de manipulação genética, que contenha pequena ou nenhuma quantidade desses constituintes indesejáveis, porém, esta estratégia requer estudos prolongados sobre a natureza química e bioquímica desses compostos.

## **USO DA SOJA NA ALIMENTAÇÃO DE PEIXES**

Dentre os inúmeros produtos de origem vegetal o farelo de soja vem recebendo grande atenção por parte dos nutricionistas, como substituto da fração proteica animal. Por exemplo, em uma ração inicial para aves, á base de milho e farelo de soja, quase 70% da proteína é proveniente do farelo de soja. Na indústria da nutrição animal, o farelo de soja e a soja integral são processados com a ação do calor, antes de utilizá-los nas rações, com a finalidade de destruir os fatores antinutricionais, tais como o inibidor de tripsina e quimiotripsina (kunitz e Bowman-Birk), que inibem a digestão protéica e as hemaglutininas (lectinas) (Butolo, 2002).

No caso do farelo de soja, também deve-se utilizar o calor para evaporar o hexano que se usa na extração do óleo, pois além de caro ele é tóxico, tanto para o homem quanto para os animais, entretanto em qualquer processo que requer aquecimento, ocorrerão casos de “subaquecimento” e/ou “superaquecimento”. Quando a soja é subprocessada, continuam ativos inibidores de tripsina que reduzem os índices de produtividade dos animais monogástricos. Em caso de superaquecimento, o valor nutritivo da soja se

reduz com os danos ocasionados pelo excesso de calor, ocorrendo a reação de “Maillard”, onde o aminoácido lisina se complexa com o açúcar e sua disponibilidade é reduzida (Butolo, 2002).

A farinha de peixe tem sido tradicionalmente utilizada nas rações comerciais para peixes, devido ao seu valor nutritivo e palatabilidade. Os nutricionistas têm procurado fontes alternativas de proteína em função da limitada oferta e do alto custo das farinhas de pescado (Lovell, 1981). Elevados níveis de proteína vegetal em dietas para peixes de água quente podem resultar em redução no crescimento e baixa eficiência alimentar (Lim e Dominy, 1991). Isto, em função de balanço incorreto de nutrientes essenciais, devido a fatores antinutricionais das leguminosas ou, ainda pela diminuição da palatabilidade.

Para os peixes de água fria, como a truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), a soja crua oferece alternativa mais econômica que a farinha de peixe, devido ao alto conteúdo de óleo (Akiyama, 1992), que proporciona disponibilidade similar em valor energético (4.220 kcal/kg) à farinha de peixe (4.328 kcal/kg) (NRC, 1981).

Estudo realizado com a espécie tilápia-do-nilo, com substituição progressiva da farinha de peixe por soja crua, os autores observaram diminuição no crescimento dos animais à medida que se aumentou o nível de substituição com soja crua (Wee e Shu, 1989). Lovell (1981) demonstrou que o ganho de peso e a utilização da proteína pelo bagre do canal (*Ictalurus punctatus*) diminuíram quando os alevinos foram alimentados com soja crua. Robaina et al. (1995) estudaram os efeitos da substituição da farinha de peixe por 10, 20 e 30% do farelo de soja para a dourada (*Gilthead seabream*) e observaram resultado similar para crescimento nos diferentes tratamentos em relação ao grupo controle de animais. Entretanto, a atividade da tripsina foi retardada em 30% e ocorreu deposição de lipídeos no fígado pelo alto nível de soja.

Foram estudadas as taxas de inclusão na ração de 0,37; 0,74; 1,11 e 1,48% de inibidores de protease da soja para truta-arco-íris. Os autores observaram aumento do inibidor de tripsina com o aumento da inclusão, sendo parcialmente compensado pelo aumento da secreção de enzimas e a absorção

pelo intestino. A compensação foi total em níveis mais baixos do inibidor de tripsina (Krogdahl et al., 1994).

Em estudo utilizando rações contendo soja crua e processada na alimentação de bagre africano (*Clarias gariepinus*), os autores observaram decréscimo gradual no crescimento e na utilização dos nutrientes, em dietas com altas porcentagens de soja crua, entretanto não foi discutido se a causa foi os fatores antinutricionais ou os altos teores de carboidratos para este peixe carnívoro (Balogun e Ologhobo, 1989). Resultados opostos foram descritos por Carratore et al. (1996) para alevinos de tilapia-do-nilo alimentados com dietas contendo 6,0; 12,0 e 18,0% de soja crua por 90 dias, os quais não apresentaram prejuízo no desempenho produtivo.

## **DIGESTIBILIDADE DA PROTEÍNA DA SOJA**

A determinação da digestibilidade dos componentes de uma dieta é importante no atendimento adequado das exigências nutricionais, uma vez que o fornecimento de dieta equilibrada e o conhecimento de hábitos alimentares, não são suficientes para assegurar resposta positiva no desempenho animal. A respeito da digestibilidade de nutrientes de dietas para peixes ocorre a dificuldade de se coletar, separadamente, fezes e urina, pois o manejo de grande volume de água para análise é problemático (Nose, 1966).

A digestibilidade de vários ingredientes pode ainda ser alterada por fatores como o processamento durante a manufatura da ração, por interações entre ingredientes distintos presentes na mistura (NRC,1977) ou ainda, pelo nível de proteína utilizada (Carneiro e Castagnolli,1984).

Nose (1966) classificou dois métodos para determinação da digestibilidade de nutrientes em dietas para peixes. O método direto, que envolve coleta total das fezes e controle do consumo de alimentos e o método indireto, que utiliza substância inerte de referência como marcador.

Para o método do indicador, a substância marcadora pode ser constituinte natural do alimento ou fonte exógena, ou ambas. As substâncias mais utilizadas para este propósito são: óxido de ferro, óxido de cromo-III,

lignina, sílica, fibra bruta, nitrogênio fecal e cromogênio, um pigmento natural das plantas (Schneider e Flatt, 1975).

Nose (1960) e Inaba et al. (1962) foram os primeiros a usarem o óxido de cromo-III para investigar a digestibilidade da proteína em peixes. Kotb e Luckey (1972) concluíram que o óxido de cromo não é tóxico e que é quase totalmente recuperado nas fezes, portanto, pode ser usado como indicador inerte em estudos de digestibilidade. O procedimento experimental torna-se mais simples quando o método indireto é aplicado aos peixes, pois diminui o tempo de fornecimento de alimento, o manejo de grande volume de água para análise da excreção fecal e os ensaios de digestibilidade passam a ser possíveis até mesmo em água corrente, condição muito próxima a natural (Austreng, 1978; Souza, 1989).

A digestibilidade da fração protéica da soja pode ser prejudicada pelo processamento inadequado, pela não destruição ou desativação total do fator antitriptico, pelo excessivo aquecimento, o qual possibilita a formação de complexo proteína-carboidratos via “reação de Maillard”. Os coeficientes de digestibilidade aparente da proteína do farelo de soja, embora ligeiramente inferiores ao da farinha de peixe, não foram suficientes para explicar as diferenças observadas no desempenho dos peixes, na tentativa de se confeccionar rações à base de proteína de origem vegetal (Hepher, 1988).

Os coeficientes de digestibilidade aparente da proteína do farelo de soja e da farinha de peixe, para a tilápia-do-nilo, foram de 86% e 91%, respectivamente (Hanley, 1987). Tais resultados reforçam a hipótese de que um dos principais limitantes na utilização do farelo de soja como substituto de alimento proteicos de origem animal seja seu desequilíbrio na composição em aminoácidos e a presença de fatores antinutricionais.

Fontainhas-Fernandes et al. (1999) determinaram, com a tilápia-do-nilo, a digestibilidade da soja integral, farelo de soja e, da semente de ervilha. Estes autores observaram que a extrusão, por desativar os fatores antinutricionais, aumentou significativamente a digestibilidade da proteína desses alimentos.

Carratore et al. (1996), em estudo realizado com tilápia-do-nilo, observaram, pelos resultados das análise de coeficientes de digestibilidade aparente, que os tratamentos com 12 e 18% de farinha de soja crua

apresentaram tendência de diminuição da digestibilidade, evidenciando, o início de efeito deletério pela utilização da farinha de soja crua nesses níveis.

Pezzato et al. (2002), determinaram para a tilápia-do-nylo, os coeficientes de digestibilidade aparente de 17 alimentos. Obtiveram para a proteína do farelo de soja 91,56% de digestibilidade, classificando-o como um dos alimentos com melhor coeficiente de digestibilidade aparente.

Estudo contendo soja tratada e soja crua, em vários níveis de inclusão, para a truta-arco-íris e salmão do Atlântico (*Salmo salar*), determinou-se que a digestibilidade dos nutrientes foi afetada pela atividade dos inibidores somente com a utilização da soja crua e que outros constituintes dos grãos afetaram a digestibilidade mais do que os inibidores de tripsina, quando utilizou-se soja tratada (Olli et al., 1990).

Segundo Stech et al. (2010) em estudo realizado com o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) utilizando soja tostada, extrusada, farelo de soja, soja crua e macerada foi obtido 94,99; 95,23; 93,88; 80,06 e 82,80% de coeficiente de digestibilidade, respectivamente, segundo esses autores a utilização de sojas tostada e extrusada ou de farelo de soja para o pacu deve ser priorizada perante as sojas crua ou macerada, em vista dos maiores coeficientes de digestibilidade da fração proteica.

Mendes et al. (2004) obtiveram melhores resultados de digestibilidade no processo de extrusão e micronização das sojas semi-integral e integral, respectivamente, sendo estes eficientes na inativação dos fatores antinutricionais. Porém, para a soja integral expandida o processo de expansão não foi adequado resultando nos piores valores de digestibilidade para suínos em crescimento.

Olli et al. (1994a) mostraram, por meio de curvas de digestibilidade de nutrientes e do crescimento, que o salmão do Atlântico foi hábil em compensar a presença de 5,0 mg de tripsina inibida por grama de alimento, aumentando a secreção de tripsinogênio. Com altos níveis de atividade, os autores relataram que a capacidade do pâncreas em sintetizar tripsina parecia se exaurir. Krogdahl et al (1994) observaram decréscimo na digestibilidade da proteína (93 para 70%), bem como correlação entre a atividade da tripsina intestinal e a digestibilidade da fração proteica em dietas para trutas, após terem sido

alimentadas por 10 dias com rações contendo altos níveis de soja crua. Estes autores relatam que a inibição de enzima parece ser parcialmente compensada pelo aumento na secreção e absorção de proteínas na parte distal do intestino e que a digestão de lipídios não foi afetada pelos inibidores.

## **FATORES ANTINUTRICIONAIS**

O termo antinutricional implica em substância com capacidade de alterar o aproveitamento dos nutrientes contido nos alimentos, podendo tornar indisponível os nutrientes de um ingrediente ou parte desses, diminuir a digestibilidade ou metabolismo e/ou reagir de forma antagônica. Podem também causar hipertrofia pancreática, estimular a hiper e a hipo secreção de enzimas pancreáticas, reduzir a disponibilidade de aminoácidos, vitaminas e minerais (Butolo, 2002), alterar a fisiologia dos peixes, interferir na utilização dos alimentos, diminuir o apetite, prejudicar o desempenho produtivo e levar a morte, se utilizado por períodos prolongados (Makkar, 1997).

Os fatores antinutricionais são classificados em exógenos ou endógenos. O primeiro refere-se a substâncias contaminantes, químicos ou biológicos ocasionadas em determinado produto (agrotóxicos, toxinas, fungos, etc), sendo que os endógenos são substâncias tóxicas ou antinutricionais de ocorrência natural nos ingredientes, sendo na maioria, de origem vegetal, limitando a sua utilização nas formulações de rações.

Os antinutricionais podem ser didaticamente divididos em quatro grupos: a) fatores que agem na utilização e digestão da proteína, como os inibidores de proteases, taninos e lectinas; b) fatores que agem na utilização dos minerais dos quais inclui os fitatos, os pigmentos do gossipol, oxalatos e glicosilatos; c) antivitaminas e d) substâncias mistas como as micotoxinas, mimosina, cianogênicos, nitrato, alcalóides, agentes fotossensibilizantes, fitoestrogênios e saponinas. Esses fatores também podem ser classificados de acordo com sua aptidão em resistir aos processamentos térmicos de desativação, sendo que o tratamento térmico é o mais comum deles. Os antinutricionais termolábeis abrangem os inibidores de proteases, hemaglutininas (lectinas), antiminerais (fitatos), goitrogênios, fatores bociogênicos e antivitaminas, enquanto que os

fatores termoestáveis são representados pelas saponinas, isoflavonas, fatores de flatulência, polissacarídeos não amídicos, alergênicos, lisinoalanina, estrogênios e alguns componentes fenólicos (Francis et al., 2001a; Miura et al., 2001).

São vários os fatores antinutricionais presentes nos produtos e subprodutos de origem vegetal e estes podem diferir significativamente na sua forma de ação, sendo que o potencial desses efeitos depende da espécie animal. Destaca-se também, a habilidade desses antinutricionais em resistir parcialmente ao processo térmico, sendo comum a sua utilização para a destruição destes (Makkar, 1997).

Os fatores antinutricionais, possuem a finalidade de proteger a planta contra as susceptibilidades do meio, predadores, por exemplo. Porém os nutricionistas buscam o alimento com menos fatores antinutricionais para o melhor desempenho dos animais, gerando conflito de interesses e objetivos entre a ciência vegetal e a ciência animal (Francis et al., 2001a).

Segundo Durigan (1995) é difícil o estudo específico dos fatores antinutricionais que se apresentam nos alimentos. Afirma o autor que muitas pesquisas são necessárias, porém, o grau de dificuldade é significativo por encontrarem-se diferentes substâncias num mesmo ingrediente. Os níveis de substâncias tóxicas e/ou antinutricionais, podem alterar a composição ou tornar indisponíveis os nutrientes presentes nos alimentos (Pezzato, 1995).

A maioria dos alimentos composto por plantas, grãos e raízes possuem ampla variedade de fatores antinutricionais. Na soja podemos citar os inibidores de protease, lectinas, ácido fítico, saponinas, fitoestrógenos, antivitaminas e os alérgenos (Francis et al., 2001a).

## **INIBIDORES DE PROTEASE**

O inibidor de protease é um fator antinutricional distribuído nos ingredientes de origem vegetal. Estes são peptídeos capazes de se ligar com as enzimas proteolíticas pancreáticas (tripsina e quimotripsina), tornando-as inativas (Silva e Silva, 2000). São classificados em dois grupos: o tipo Kunitz que é relativamente sensível à temperatura (termolábil) e aos ácidos, possui

peso molecular de aproximadamente 20 kDa e especificidade primária para a tripsina. Embora classificados como termolábeis, não são completamente desativados durante o cozimento rápido e podem reduzir a digestibilidade das proteínas da dieta e, conseqüente, deficiência na absorção de aminoácidos (Fallon, 2000). O tipo Bowman-Birk é mais estável (termoestável), apresenta peso molecular entre seis e 10 kDa e capacidade para inibir a tripsina e a quimotripsina em sítios de ligação independentes (Silva e Silva, 2000; Francis et al., 2001a; Brito, 2006).

O mecanismo de ação do inibidor de protease inicia-se na digestão de proteínas, onde age desativando a ação da enzima protease no quimo e, pelo mecanismo de *feedback* negativo, o pâncreas é estimulado a produzir e liberar mais enzimas no intestino. Porém, o inibidor de tripsina continua bloqueando a ação desta enzima, estimulando o pâncreas a liberar mais enzimas, causando sua hiperatividade (Silva e Silva, 2000). O pâncreas ao detectar a menor presença de tripsina no intestino delgado, aumenta sua secreção, hipertrofiando-se. Esse aumento de produção e hipertrofia pancreática, podem compensar a presença de inibidores de tripsina (IT), desde que a atividade ureática da soja esteja em até 0,20 (Butolo, 2002). Consequentemente ocorre redução da taxa de crescimento nos animais, pois há a redução na digestibilidade das proteínas da dieta.

Os inibidores de protease também causam danos à parede celular da mucosa, estímulo a resposta imune e aumento da perda de nitrogênio endógeno (Hannas e Pupa, 2010).

Nitsan e Liener (1976) estudaram o efeito de dietas com farinha de soja crua e aquecida sobre os níveis de tripsina, quimotripsina e amilase no pâncreas de ratos. Os autores concluíram que a ingestão de soja crua, ao contrário da soja cozida, estimulou a secreção das enzimas pancreáticas. Os resultados da pesquisa de Grant et al. (1988) com ratos alimentados com proteína de soja mostraram considerável aumento do tamanho do pâncreas dos animais.

Kakade et al. (1973) relataram que aproximadamente 40% da depreciação do crescimento em ratos alimentados com soja crua pode ser explicada pelos inibidores de tripsina. Diferentemente de ratos, a ingestão de

farinha de soja e feijão crus por porcos da Índia, bezerros, cachorros e porcos não provoca hipertrofia pancreática, contudo, observa-se hiposecreção das enzimas pancreáticas e sérica, depressão do ganho de peso corporal ou perda de peso dos animais (Hasdai et al., 1989).

Produtos comerciais de soja apresentam inibidores de tripsina na faixa de 2,0 a 6,0 mg/g, com média de 4,0 mg/g (Synder e Kwon, 1987). Os inibidores de tripsina têm ampla distribuição no reino vegetal e estão presentes na maioria das sementes de leguminosas e cereais. As espécies de peixes diferem em sua capacidade de tolerar os inibidores de tripsina nas dietas. Tilápia (Jackson et al., 1982; Shiau et al., 1987, 1989; Wee e Shu, 1989), carpa (Abel et al., 1984; Makkar e Becker, 1999), truta-arco-íris (Dabrowski et al., 1989; Rumsey et al., 1993; Krogdahl et al., 1994), bagre do canal (Wilson e Poe, 1985), salmão (Higgs et al., 1982; Olli et al., 1994) e douradas (Robaina et al., 1995) são capazes de manter taxas de crescimento comparável ao da farinha de peixe com base nas dietas controles. Após a inclusão de níveis de farelo de soja, sementes de tremoço, farelo de canola e farelo de semente de pinhão manso, que são conhecidos por conterem inibidores de tripsina, níveis de IT de 1,6 mg/g ou superior na dieta diminuíram o crescimento de tilápia-do-nylo, mas com níveis dietéticos de 0,6 mg IT g/dieta, os peixes obtiveram adequado crescimento (Wee e Shu, 1989).

Makkar e Becker (1999) encontraram que as carpas alimentadas com dietas contendo farelo de pinhão manso provenientes de sementes não-tóxica, com 24,8 mg IT/g e o farelo tratado termicamente, com 1,3 a 8,3 mg IT/g, não apresentaram diferenças no desempenho quanto ao crescimento, o que implica que os peixes foram capazes de tolerar altos níveis de inibidores de tripsina.

Estudo realizado por Fernandes (2010), contendo níveis crescentes de inclusão de farelo de pinhão manso (0,0; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 e 16,0%) em dietas para tilápia-do-nylo, apresentaram sinais de anorexia, natação errática, apatia, boca e opérculos hemorrágicos, olhos escuros, escoliose e inanição. Os peixes do tratamento com 16% do farelo de pinhão manso apresentaram menor tempo de vida e 100% de mortalidade, indicando a alta toxicidade do farelo de pinhão manso, por causa da ação dos fatores antinutricionais sobre o desempenho da tilápia-do-nylo.

A truta-arco-íris, considerada espécie sensível a esse fator antinutricional, não apresentou alteração com o nível de até 3,0 mg/g de inibidor de tripsina presente na dieta contendo farelo de soja (Kaushik et al., 1995). Porém, o salmão do Atlântico apresentou menor ganho de peso e consumo da dieta contendo farelo de soja em relação aos demais grupos num período de 55 dias (Refstie et al., 1997). Os autores afirmaram dificuldade de identificar os fatores que afetaram negativamente o desempenho do salmão, porém sugeriram haver substância termorresistente presente no farelo de soja capaz de alterar o processo digestório desses peixes.

Com níveis abaixo de 5,0 mg/g, diferentes espécies de peixe têm compensado a presença dos IT pelo aumento da produção de tripsina. Muito farelos de origem vegetal que não passaram por adequado processamento, contém inibidores de protease, como o farelo de soja avaliado comercialmente e que são incluídos nas dietas dos peixes, que também podem possuir outros fatores antinutricionais ou importantes interações entre eles (Francis et al., 2001a).

O processamento térmico (autoclave por 15 a 30 minutos) é recomendado para reduzir os inibidores de tripsina abaixo dos níveis críticos (Norton, 1991). O processamento térmico, deve ser realizado com cautela, sendo que as máquinas devem estar reguladas para minimizar a perda da qualidade nutricional dos ingredientes, como a lisina e também para não determinar degradação proteica.

## **HEMAGLUTININAS E ATIVIDADE HEMAGLUTINANTE**

São albuminas solúveis em água que interagem com as glicoproteínas presentes nas membranas celulares dos glóbulos vermelhos, aglutinando-os (Butolo, 2002). Estas são encontradas em várias leguminosas como, por exemplo, a soja (Francis et al., 2001a). As hemaglutininas possuem, em suas moléculas, um centro ativo específico para combinação com carboidratos. Aglutinam eritrócitos seletivamente, in vitro, iniciam mitose em culturas de linfócitos humanos, podem aglutinar ou inativar células de tumores (Sharon e Lis, 1972) e contribuem para toxicidade das sementes cruas (Liener, 1976). As

células do epitélio do intestino grosso em presença das hemaglutininas tendem a se unir prejudicando a absorção de nutrientes (Butolo, 2002).

Os efeitos prejudiciais das hemaglutininas à fisiologia dos monogástricos são relatados como retardo do desenvolvimento (Francis et al., 2001a), diminuição da digestibilidade de carboidratos, alteração na atividade das enzimas intestinais e hepáticas, diminuição de insulina no sangue (Heugten, 2001), perturbação no metabolismo do intestino delgado e lesões nas vilosidades intestinais (Grant, 1991). Jaffé (1968) propôs que o efeito antinutricional causado pela ingestão das hemaglutininas deve-se a sua habilidade em interagir com os receptores específicos das células da parede intestinal. Pusztal et al. (1979) demonstraram que as hemaglutininas reagem com as células intestinais in vivo e causam o rompimento das microvilosidades das células epiteliais do duodeno e do jejuno. De acordo com os autores, embora prejudicada, a absorção ainda pode ocorrer, provavelmente através das células não alteradas, levando à absorção anormal de substâncias potencialmente perigosas, como as próprias hemaglutininas ou toxinas de origem bacteriana. Pusztal et al. (1975) concluíram que a toxicidade relaciona-se diretamente com o título hemaglutinante.

O fator antinutricional da soja integral e seus produtos, quando utilizados em dietas para salmonídeos, poderia ocorrer pela capacidade das hemaglutininas ligarem-se as bordas das membranas nos enterócitos (Robaina et al., 1995). No salmão do Atlântico, as hemaglutininas da soja se ligam na parte distal do intestino delgado e podem contribuir para o efeito tóxico da soja integral e produtos da soja (Hendriks et al., 1990). Van der Ingh et al. (1991) observaram efeitos distintos do farelo de soja integral em comparação com a dieta controle confeccionada a base de farinha de peixe, na mucosa do intestino distal do salmão do Atlântico. No tratamento com farelo de soja integral o epitélio teve aumento da densidade de células caliciformes e acentuada diminuição ou ausência de vacúolos de absorção, apresentando ainda microvilosidades dos enterócitos encurtadas com o aumento da formação de vesícula microvilares. O aumento da densidade de células caliciformes pode ter sido o resultado da produção de muco no intestino hipertrófico quando submetidos à irritação pela hemaglutinina. Carpas em crescimento obtiveram

resultados similares quando alimentadas com dietas contendo alta (51 unidades de hemaglutinação) ou baixa atividade de hemaglutinina (< 1,2 unidades de hemaglutinação) (Makkar e Becker, 1999).

A hemaglutinina causa irritação à membrana intestinal, resultando em mais secreção de muco que pode prejudicar a capacidade enzimática e absorção da parede intestinal (Francis et al., 2001a).

Outros efeitos das hemaglutininas, tais como perda de massa muscular, depleção de lipídeos no tecido adiposo e aumento do fígado, não foram observados em peixes (Grant, 1991).

Segundo Sgarbieri (1996) as hemaglutininas interferem no sistema endócrino e hormonal, baixando o nível de insulina circulante e a glicemia, isto é, a hemaglutinina seria capaz de, a exemplo da insulina, permeabilizar as membranas celulares, estimulando a entrada de glicose nas células e a sua metabolização. A diminuição do nível de insulina circulante teria efeito catabolizante, aumentando a degradação de proteínas musculares, ativação do ciclo da uréia e excreção do nitrogênio urinário. Da mesma forma, a lipólise seria ativada com a liberação e oxidação de ácidos graxos e o acúmulo sanguíneo de corpos cetônicos, ocorreria, num quadro muito semelhante ao diabetes.

Stech (1996), ao avaliar seis cultivares de soja na alimentação de pacu, concluiu que o inibidor de tripsina e a hemaglutinina, presentes nos grãos de soja integral, apresentaram pequena importância como fator antinutricional para este peixe, não sendo suficientes para comprometer o desenvolvimento, a sobrevivência e os parâmetros metabólicos desta espécie. Stech et al. (2010) analisaram o farelo de soja, soja crua e processada em dietas para o pacu, e apresentaram maiores valores de atividade hemaglutinante para a soja crua e macerada (1024 µg/g) em relação aos demais alimentos, enquanto a extrusada apresentou os menores valores médios (8,0 µg/g). A extrusão foi o processo que proporcionou a menor atividade hemaglutinante.

Estudo realizado por Liener (1953) mostrou que a hemaglutinina purificada, quando adicionada a uma dieta contendo farelo de soja termicamente tratado, retardou significativamente o crescimento dos ratos. Contrário ao estudo realizado por Tuner e Liener (1975), no qual não foi

observado a inibição do crescimento em ratos alimentados com farelo de soja termicamente tratado e acrescido de extrato de hemaglutinina purificada. Os autores observaram, que sob condições de ingestão alimentar controlada, a hemaglutinina não exerce efeito depressor de desenvolvimento sobre o crescimento dos ratos.

As interações complexas entre diferentes frações protéicas podem modificar a atividade biológica. Por exemplo, é concebível que o inibidor de tripsina de alguma forma possa suprimir os efeitos adversos fisiológicos que a hemaglutinina poderia ter sobre o animal. Estudos realizados por Sambeth et al. (1967), envolvendo a avaliação da atividade biológica de várias frações de proteína de soja, demonstraram que muitos dos efeitos biológicos manifestados pelas frações de soja são os resultados de interações entre os diferentes componentes neles contidos.

As hemaglutininas são facilmente destruídas pelo calor úmido. Temperaturas na ordem de 100 a 105°C por 10 a 15 minutos e umidade de 16 a 18%, eliminam a ação da hemaglutinina (Röhr, 1978 e Grant, 1991). Aregheore et al. (1998) reduziram o teor de hemaglutinina do farelo de sementes de *Jatropha* de 102 para 1,17 unidades de hemaglutinação pelo calor úmido a 100 °C por 10 min.

As hemaglutininas, também denominadas lectinas, são glicoproteínas que têm a propriedade específica de se ligar a certos carboidratos (Reynoso-Camacho et al., 2003).

A nomenclatura das hemaglutininas ou lectinas é originada da denominação científica das espécies em que são purificadas, de acordo com o protocolo de purificação, pela designação dos monossacarídeos aos quais têm especificidade ou ainda pela designação do tecido ao qual foram extraídas. Assim, a lectina da *Vicia faba* é conhecida como favina. A concanavalina A, lectina obtida da *Canavalia ensiformis*, e D-galactose-N-acetil-D-galactosamina é uma lectina específica da *Erythrina cristagalli* (Kennedy et al., 1995).

Martin-Cabrejas et al. (1995) encontraram quantidades consideráveis de inibidores de tripsina/quimotripsina e  $\alpha$ -amilase e elevada atividade de hemaglutinina em cinco cultivares de feijões (*Phaseolus vulgaris*) frescos e estocados por cinco anos.

A inativação de lectinas ou redução da atividade hemaglutinante a reduzidos valores é usualmente obtida por métodos tradicionais de preparo doméstico ou processamento industrial dos alimentos (Ojimekwe et al., 1995).

Barca et al. (1991) analisaram o teor de hemaglutinina de soja *in natura* e processada. Os níveis de hemaglutinina mais altos foram encontrados em soja crua (3600 µg/g) e os mais baixos (3,75 a 12,92 µg/g) em produtos de proteína de soja texturizada. Como esperado, os níveis de atividade hemaglutinante de soja dependeram do processamento térmico.

Jaffé e Brücher (1972) pesquisaram a toxicidade intraperitoneal e oral de lectinas de feijões crus em ratos. Quatro tipos de lectina foram encontradas nos feijões, embora somente dois tipos tenham apresentado efeitos tóxicos. Ratos que receberam injeções intraperitoneais de extratos de lectinas tóxicas morreram e os animais alimentados com dietas contendo lectinas tóxicas apresentaram perda de peso, crescimento reduzido, baixa absorção de nitrogênio, alterações do baço e pâncreas e após duas semanas morreram. A toxicidade e inibição do crescimento em animais alimentados com feijões crus, pode ser devido em parte ao efeito das lectinas. Entretanto, deve-se enfatizar que nem todas as lectinas são necessariamente tóxicas ou possuem efeito inibitório sobre o crescimento de animais (Liener, 1974; 1976).

Turner e Liener (1975) pesquisaram em ratos, o efeito da lectina no valor nutricional da soja e sugeriram que, provavelmente, a lectina da soja é o fator que menos afeta o aproveitamento da soja crua como alimento.

Freed e Buckley (1978) estudaram o efeito da aplicação intragástrica de 50 mg de concanavalina A em ratos. Os exames histológicos demonstraram hipersecreção das células mucosas com subsequente extravasamento de muco no jejuno dos animais.

## **FITATOS**

Fitato (hexafosfato de mio-inositol) ou ácido fítico é comum em sementes de plantas, cereais e farelos de oleaginosas como a soja, o algodão e a colza (Francis et al., 2001a). Nas leguminosas o ácido fítico contém aproximadamente 70% do conteúdo de fosfato, sendo estruturalmente

integrado com proteínas e/ou minerais na forma de complexos (Zhou e Erdman, 1995). Cerca de 75% do ácido fítico está associado com componentes da fibra solúvel presentes na semente (Torre et al., 1991).

A disponibilidade de zinco, cobre, cálcio, cromo e outros minerais é reduzida pela presença de ácido fítico nos grãos crus (Butolo, 2002). Em estudo realizado com ratos, os autores avaliaram o efeito inibitório do ácido fítico em produtos de soja sobre a biodisponibilidade de zinco nesses animais e encontraram correlação linear negativa ( $p < 0,05$ ) entre a percentagem de ácido fítico na farinha de soja e a concentração de zinco na tíbia de ratos (Zhou et al., 1992). De fato, Stuart et al. (1986) observaram que em ratos, o zinco de fontes animais é mais biodisponível do que o de fontes vegetais, sendo que a retenção de zinco com a dieta contendo proteína de ovo (85%) foi significativamente maior do que com a dieta contendo proteína de soja (79%).

Para Hurrell et al. (1992), a remoção de ácido fítico de isolados protéicos de soja até níveis menores do que 1,0 mg/g pode assegurar aumento significativo na absorção de ferro em humanos. Porém, algumas pesquisas sugerem papel positivo do ácido fítico quanto a ação antioxidante (Empson et al., 1991; Messina, 1991). O ácido fítico altera o potencial redox do ferro mantendo-o na forma férrica ( $Fe^{3+}$ ). Este efeito oferece proteção contra danos oxidativos, visto que o  $Fe^{2+}$  (ferroso) causa produção de oxirradicais e peroxidação de lipídios, enquanto o  $Fe^{3+}$  é relativamente inerte (Empson et al., 1991).

Ingredientes de origem vegetal utilizados na alimentação dos peixes como os farelos de soja, de colza e de gergelim contêm de 10-15, 50-75 e 24 g/kg de fitato, respectivamente. O reduzido crescimento de diferentes espécies, como a carpa, tilápia, truta e o salmão foram afetados por ingredientes que continham fitato na dieta (Francis et al., 2001a).

Spinelli et al. (1983) observaram diminuição do crescimento em truta-arco-íris alimentadas com dietas contendo 5,0 g/kg de ácido fítico sintético. Dietas contendo níveis elevados de ácido fítico (25,8 g/kg, sintético), para o salmão, também determinaram diminuição no crescimento dos animais (Richardson et al., 1985).

Estudos realizados com juvenis de dourada apresentaram valores reduzidos de digestibilidade e alterações histológicas no fígado quando foram alimentadas com dietas contendo 30% de inclusão da proteína do farelo de soja em substituição à proteína da farinha de peixe. Porém, os valores de inibidores de proteases não foram significativos para causar tais alterações, dessa forma Robaina et al. (1995) sugeriram que as alterações provavelmente foram causadas pelo fitato.

Dietas suplementadas com a enzima fitase neutralizaram o efeito negativo dos ingredientes vegetais que continham fitato. Riche e Brown (1996) constataram que ao suplementar fitase na ração que continha fontes proteicas vegetais, houve aumento de 46,2 a 75,6% dos valores de disponibilidade de fósforo para trutas-arco-íris. A adição de fitase nas dietas de aves e suínos reduz a excreção de fósforo nas fezes em 20 a 30% e aumenta a disponibilidade de outros nutrientes, tais como minerais (cálcio, zinco e cobre), proteínas, aminoácidos e energia, reduzindo as excreções e, conseqüentemente, diminuindo a contaminação ambiental com estes resíduos (Bixo online, 2010). Porém, a adição dessa enzima pode elevar o custo da produção de ração, tornando inviável para a indústria de nutrição animal.

O baixo crescimento dos peixes alimentados com dietas de alto fitato pode ser atribuído a vários fatores como, redução da biodisponibilidade dos minerais, baixa digestibilidade proteica causada pela formação do complexo proteína-ácido fítico e a diminuição da absorção de nutrientes, por danos a região do ceco pilórico (Francis et al., 2001a).

Os fitatos presentes nos cereais estão concentrados na parte exterior do endosperma. O processo de moagem remove a camada externa das sementes, que reduz consideravelmente o teor de fitato. A fermentação da torta também se mostra eficiente, pois minimiza o efeito do ácido fítico proveniente dos grãos, devido a ação das fitases produzidas pelo ácido láctico das bactérias (Francis et al., 2001a). O tratamento térmico (autoclave) também demonstrou reduzir o ácido fítico na linhaça e no gergelim em 72% e 74%, respectivamente (Hossain e Jauncey, 1990). Salmonídeos toleram níveis de fitato na dieta ao redor de 5,0 a 6,0 g/kg, no entanto as carpas são sensíveis a este níveis.

Parece apropriado manter o nível de fitatos abaixo de 5,0 g / kg em alimentos para peixes (Francis et al., 2001a).

## **SAPONINAS**

As saponinas são esteróides ou glicosídeos presentes em grande parte dos ingredientes alternativos para dietas de peixes.

Estas são caracterizadas pelo sabor amargo, capacidade de formar espuma em soluções aquosas, provocar hemólise e, ainda, de se complexarem em esteróides. Quando adicionada à água, são altamente tóxicas para peixes, devido aos danos causados ao epitélio respiratório das brânquias pela ação detergente das saponinas. Elas podem aumentar a digestibilidade dos alimentos ricos em carboidratos devido à sua atividade detergente, a qual reduz a viscosidade e, portanto, impede a ação normal dos alimentos contra o movimento de digestão do intestino (Francis et al., 2001a).

As saponinas também estão relacionadas às modificações na permeabilidade da mucosa intestinal, inibindo o transporte de alguns nutrientes e facilitando a absorção de outros compostos. Elas ainda podem retardar o crescimento dos animais e diminuir a digestibilidade da proteína. Por causa da alta solubilidade da saponina na água, a remoção pela extração aquosa pode ser feita para a maioria dos ingredientes que contém saponina, já que este processo não afeta a qualidade nutricional do alimento (Francis et al., 2001a).

Apesar dos efeitos maléficos citados, as saponinas provenientes da planta *Quillaja* (*Quillaja saponaria* Molina), provocaram efeitos diversos em tilápias-do-nylo. A taxa de crescimento nos grupos que receberam maiores níveis de saponina na ração foi maior quando comparado ao grupo controle. O índice hepatossomático e o intestino-somático apresentaram declínio conforme o aumento de saponina na dieta e os grupos que receberam saponina demonstraram menor excreção e maior assimilação da energia presente na ração, o que indicou o uso mais eficientemente do alimento que o grupo controle (Francis et al., 2001b).

Outro estudo semelhante foi conduzido em carpas e foi observado crescimento significativo no grupo de peixes alimentados com saponina de

*Quillaja* (Francis et al., 2002a; Francis et al., 2002b). Francis et al., (2005) relataram que este tipo de saponina age como promotor de crescimento natural e que pode ser vastamente utilizado na aquicultura, pois promove o crescimento de algumas espécies de peixes, reduz sua taxa metabólica e inibe a reprodução da tilápia.

Bureau et al. (1998) testaram os extratos purificados de farelo de soja e de proteína isolada de soja suplementados com a saponina *Quillaja*. Foi observado que as dietas provocaram completa supressão no desempenho do salmão “*chinook*” (*Oncorhynchus tshawytscha*) devido à drástica redução do consumo de ração. Trutas-arco-íris também apresentaram decréscimo significativo no crescimento. Em ambas as espécies foram observados danos à mucosa intestinal.

A formação do complexo entre a saponina e outros nutrientes ocorrem e podem, principalmente, inativar o efeito tóxico de ambas as substâncias (Makkar et al., 1995a). O consumo simultâneo de saponina e tanino resultaram na perda da sua toxicidade para ratos (Freeland et al., 1985). Foi considerada reação química entre eles, formando o complexo tanino-saponina, inativando a atividade biológica de ambos.

Devido à alta solubilidade da maioria das saponinas na água, a extração aquosa elimina a maioria das saponinas, desde que não afetem a qualidade nutricional dos ingredientes de origem vegetal. Níveis abaixo de 1,0 g/kg da dieta não são susceptíveis para afetar o crescimento dos peixes (Francis et al., 2001a). Mais investigações são necessárias sobre os efeitos e limites de tolerância desse fator amplamente presentes nos alimentos de origem vegetal.

## **OUTROS FATORES ANTINUTRICIONAIS DA SOJA**

Fitoestrógenos são substâncias estrogênicas não esteróides, distribuídas em vários ingredientes de origem vegetal (Farnsworth et al., 1975 a, b). A ação estrogênica está presente na soja, algodão e linhaça, entre outros (Francis et al., 2001a). Quimicamente, os estrógenos vegetais são isoflavonas, que ocorrem na forma de glicosídeos. A molécula de açúcar está ligado a um ou mais dos grupos hidroxila localizados em várias posições do núcleo de

isoflavonas (Liener, 1980). Por exemplo, a soja contém isoflavonas estrogênicas e derivados, tais como coumestrol, formononetina, diadzeína, biochanina A, genisteína e equol (Pelissero et al., 1991a).

Os efeitos estrogênicos dietéticos dos ingredientes de origem vegetal podem ter consequências nos processos fisiológicos dos animais (Francis et al., 2001a). Kaushik et al. (1995) detectaram daidzeína e genisteína na bile de trutas alimentadas com dietas ricas em farinha de soja e atribuíram as menores taxas de crescimento a essas substâncias.

Os goitrogênios são agentes antitireoideanos que inibem a produção de iodo, bloqueando a utilização da tiroxina. Há fatores antivitaminas A e E que aumentam a necessidade dessas vitaminas. A lipase e lipoxidase, promovem a oxidação e rancificação do óleo de soja, as saponinas, estrógenos, fatores de flatulência e alergenios representados pela proteína glicina e  $\beta$  conglicina, que provocam reação de hipersensibilidade (Grant, 1989) reduzem a absorção de nutrientes, causando efeitos deletérios sobre as microvilosidades do intestino delgado em suínos (Butolo, 2002).

O baixo nível energético do farelo de soja é consequência dos altos níveis de oligossacarídeos, principalmente a rafinose e a stachyose, que não podem ser digeridas no trato gastrintestinal das aves em virtude da ausência da enzima endógena  $\alpha$  (1,6) galactosidase e, em função disto (indigestibilidade), a rafinose e stachyose podem induzir diarreias, diminuindo o tempo de passagem da digesta com decréscimo da digestão e absorção de nutrientes da dieta (Butolo, 2002). Oligossacarídeos de rafinose são capazes de produzir flatulência, resultante do metabolismo anaeróbico desses açúcares (De Lúmen, 1992).

## **CONTROLE DE QUALIDADE DA SOJA CRUA**

A atividade ureática da soja é o teste que indica a presença de fatores antinutricionais, como os inibidores de tripsina e a solubilidade proteica avalia o grau de processamento da soja (Mendes et al., 2004).

O método mais adotado, mais econômico e mais rápido é o da medida da atividade ureática, porém de difícil correlação numérica com a solubilidade em KOH 0,2%.

A urease é a enzima que atua quebrando os compostos nitrogenados não proteicos, em amônia e dióxido de carbono. A determinação da urease na soja crua mede, de maneira eficaz, o grau de inativação dos fatores antinutritivos termolábeis. Sua aferição se faz pela variação do pH (atividade ureática). Entretanto, o método mais prático é o da proteína solúvel em solução em hidróxido de potássio a 0,2% (Butolo, 2002).

Vários pesquisadores têm demonstrado decréscimo na solubilidade proteica e na atividade ureática da soja com o aumento do aquecimento utilizados no seu processamento (Antunes e Sgarbieri, 1980 e Lee e Garlich, 1992). Em experimento com autoclavagem da farinha de soja por 0, 5, 10, 20, 40 e 80 minutos, Araba e Dale (1990) demonstraram que a solubilidade da proteína em hidróxido de potássio diminuiu de 86,6% para 40,8% com o cozimento máximo e que, valores abaixo de 70% indicam super aquecimento e acima de 85% relacionam-se a soja subprocessada (Sakomura, 1996). Segundo recomendações da Anfar (2005), o produto para ser comercializado, deve possuir solubilidade superior a 70% e atividade ureática inferior a 0,05 unidades de pH. No entanto a perda de solubilidade da proteína pode ser resultado de mudanças na estrutura covalente, devido à forte formação de pontes de dissulfetos e isto pode não apresentar, necessariamente, alterações drásticas de conformação (Sgarbieri, 1996). Desta forma, esse critério parece não ser o mais adequado para ser utilizado como parâmetro da qualidade da proteína a ser ingerida. Igualmente, Marsman et al. (1993) concluíram que a atividade ureática não se mostrou adequada para a avaliação de produtos extrusados, pois o índice de solubilidade do nitrogênio em hidróxido de potássio foi maior até mesmo quando as condições de extrusão foram extremas.

Estudo realizado por Stech et al. (2010) apresentaram solubilidade proteica e atividade ureática da soja crua de 72,22% e 1,05 unidades de pH respectivamente. Mendes et al. (2004) obtiveram resultados de 86,21% de

solubilidade proteica e 2,09 unidade de pH para a soja integral expandida o que resultou na sua não expansão pelo fato da soja ter sido subprocessada.

Atividade ureática igual a zero, em farelo de soja, nem sempre é indicativo de perdas pelo aquecimento, pois baixos níveis desta atividade não se correlacionam com o prejuízo no desempenho das aves (McNaughton e Reece, 1980). Esta análise não permite expressar valores para a severidade do super processamento (Araba e Dale, 1990 e Anderson-Hafermann et al., 1992). Noland et al. (1976) já haviam sugerido que a atividade ureática não deve ser utilizada como único indicador do valor nutricional da soja integral para suínos.

## **HEMATOLOGIA**

O sangue, tecido líquido que está em equilíbrio com praticamente todos os outros tecidos. Distribui calor, transporta gases respiratórios, nutrientes e produtos de excreção, além de atuar na defesa do organismo. O seu estudo é importante, pois, fornece informações sobre o estado geral do animal (Ranzani-Paiva, 2004).

Nos últimos anos, melhorias têm sido realizadas por meio da adoção de tecnologias e pesquisas avançadas na área animal, e um dos fatores que leva ao melhor entendimento da saúde animal é a avaliação hematológica. No entanto, apesar da variedade de fatores que podem interferir nos valores hematológicos dos animais, muito pouco se tem disponível na literatura, principalmente relacionado com fatores antinutricionais, sendo necessários estudos inerentes ao tema, de forma a esclarecer a influência que estes compostos exercem no perfil hematológico.

Segundo Paes et al. (2000), o hemograma é o exame complementar que fornece ao profissional da área de produção animal informações sobre o estado de saúde dos animais. Assim, diversos pesquisadores, das mais variadas regiões do mundo, têm se preocupado em estabelecer valores referenciais para o número de eritrócitos e outros constituintes sanguíneos.

Silveira (1988) descreveu o hematócrito como sendo a estimativa da massa de eritrócitos em relação ao volume sanguíneo. De acordo com Nunes et al. (2002), quanto maior a solicitação física do animal maior será o valor do

hematócrito por causa da perda de líquidos por meio da forma evaporativa. Lee et al. (1974) relataram que o hematócrito pode estar diminuído em função de anemias, hemólise e prenhez avançada. O hematócrito, segundo (Blaxhall, 1972), pode ser maior em peixes, se comparado aos mamíferos, pois os eritrócitos possuem núcleo.

Baixos valores de hematócrito correspondem a espécies bentônicas e sedentárias, enquanto altos valores correspondem às espécies mais ativas (Larsson et al., 1976). Souza (1994) cita que as variações intraespecíficas ocorrem por fatores como: dieta e estado nutricional, fatores genéticos, salinidade, estresse, densidade de estocagem, mudanças sazonais, ciclos diários, peso e idade. Os valores de hematócrito diminuem quando os peixes encontram-se em estado de inanição, ou estão supostamente doentes (Blaxhall, 1972). A redução que corre durante o jejum, provavelmente, é resultante da menor capacidade de produzir novas células sanguíneas vermelhas ou de mudança adaptativa, devido à relativa inatividade do peixe sob condições de jejum (Lovell, 1970).

Segundo Schimidt-Nielsen (1996), a função da hemoglobina consiste no transporte de oxigênio dos pulmões para os diferentes tecidos e durante o esforço físico a liberação do oxigênio se processa de forma mais rápida, contribuindo para a elevação na taxa de consumo de oxigênio e conseqüentemente aumento do valor da hemoglobina. Em virtude dessas variações é fundamental o estudo hematológico dos animais.

Indubitavelmente, os fatores antinutricionais influenciam no perfil hematológico, como exemplo pode-se citar as lectinas que são fatores antinutricionais e estão presentes em maior quantidade em grãos de leguminosas e gramíneas, e também em outros alimentos como a soja e a ervilha. As lectinas ou hemaglutininas podem ser caracterizadas e detectadas por sua habilidade em aglutinar eritrócitos, em certos casos com alta especificidade. Podem também promover estimulação mitogênica de linfócitos e aglutinação de células cancerosas (Lis e Sharon, 1973).

Geralmente, a atividade citotóxica do gossipol está associado com a diminuição da taxa de hemoglobina e porcentagem de hematócrito, e conseqüentemente o desenvolvimento da anemia (Berardi e Goldblatt, 1980).

Há dois possíveis mecanismos de ação para o desenvolvimento da anemia pelo gossipol que é a anemia dependente de ferro e a anemia hemolítica, ou ambas. Dietas com gossipol reduzem a biodisponibilidade do ferro e conseqüentemente se desenvolve a anemia pela falta de ferro (Clawson et al., 1975). O gossipol livre na dieta diminuiu a resposta hematológica do suíno (Braham et al., 1967) e a redução da sua toxicidade melhora o desempenho das aves (Rojas e Scott, 1969). O gossipol também causa anemia hemolítica por aumentar a fragilidade do eritrócito.

Barros et al. (2002) substituíram o farelo de soja por farelo de algodão em dietas para juvenis de bagre do canal durante 10 semanas e não observaram mudanças nos valores de eritrócitos, leucócitos, hematócrito e hemoglobina desses peixes, mesmo recebendo 55% de farelo de algodão (0,07% de gossipol livre). Avaliaram ainda, o efeito do gossipol nos bagres do canal, infectados com a bactéria *Edwardsiella ictaluri* e observaram que os peixes alimentados com dietas contendo gossipol apresentaram taxa de sobrevivência 48% maior. Essa substância aprimorou a resposta e a resistência imunológica frente a bactéria, fato evidenciado pela melhora da migração dos macrófagos ao exoantígeno, maior produção de anticorpos e maior sobrevivência com contínuo consumo de alimento. A maior palatabilidade e consumo das dietas com farelo de algodão também podem ter contribuído para a melhor resposta imunológica e resistência dos peixes à infecção. Segundo Barros et al. (2002), devido a escassez de informações nessa área, são necessários estudos adicionais para avaliar os efeitos benéficos do gossipol frente a imunidade e resistência dos peixes a infecções.

Em peixes estudos sobre a hematologia se faz necessário para o melhor esclarecimento do estado de saúde frente ao meio ambiente, a nutrição, ao estresse e a vários outros fatores que os influenciam.

Com base nessas informações, esta pesquisa se apresenta em um capítulo intitulado:

Capítulo II – **“Soja crua em dietas para a tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*)”**.

## REFERÊNCIAS

- ABEL, H. J. et al. Possibilities of using heat-treated full-fat soybeans in carp feeding. **Aquaculture**, v. 42, p. 97-108, 1984.
- AKIYAMA, D. M. Utilización de la pasta de soya em los alimentos acuícolas. **Soya Noticias**, México, n. 230, p. 1-8, 1992.
- ANDERSON-HAFERMANN, J. C.; ZHANG, Y.; PARSONS, C. M. Effect of heating on nutritional quality of conventional and kunitz trypsin inhibitor-free soybeans. **Poultry Science**, Champaign, v. 71, n. 10, p. 1700-1709, 1992.
- ANTUNES, P. L.; SGARBIERI, W. C. Effect on heat treatment on the toxicity and nutritive value of dry beans (*Phaseolus vulgaris* var. Rosinha G2) proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 28, p. 935-938, 1980.
- ARABA, M.; DALE, N. M. Evaluation of protein solubility as an indicator of overprocessing soybean meal. **Poultry Science**, Champaign, v. 69, n. 1, p. 76-83, 1990.
- AREGHEORE, E. M.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Assessment of lectin activity in a toxic and a non-toxic variety of *Jatropha curcas* using latex agglutination and haemagglutination methods and inactivation of lectin by heat treatments. **Journal and the Science of Food Agriculture**, v. 77, p. 349–352, 1998.
- ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS FABRICANTES DE RAÇÕES. **Compêndio brasileiro de alimentação animal: métodos analíticos**. São Paulo: Anfar, 2005.
- AUSTRENG, E. Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segments of the gastrointestinal tract. **Aquaculture**, v. 13, p. 265-272, 1978.
- BALOGUN, E., OLOGHOBO, A.D. Growth performance and nutrient utilization of fingerling *Clarias gariepinus* fed raw and cooked soybean diets. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 79, p. 119-126, 1989.
- BARCA, A. M. C.; VÁZQUEZ-MORENO, L.; ROBLES-BURGUEÑO, M. R. Active soybean lectin in foods: isolation and quantification. **Food Chemistry**, Barking, v. 39, n. 3, p. 321-327, 1991.
- BARROS, M. M.; LIM, C.; KLESIUS, P. H. Effect of soyben meal replacement by cottonseed meal and iron supplementation on growth, immune response and resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsiella ictaluri* challenge. **Aquaculture**, v. 207, p. 263-79, 2002.

BERARDI, L. C.; GOLDBLATT, L. A. Gossypol. In: HUISMAN, J.; VAN DER POEL, A. F. B.; LIENER, I. E. (Eds.). **Recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds**. Wageningen: Pudoc, 1980. p. 184-237.

BIXO ON LINE. Uso de enzimas em rações: Disponível em: <<http://www.bichoonline.com.br/artigos/aa0041.htm>>. Acesso em: 6 set. 2010.

BLAXHALL, P. C. The haematological assessment of the health of freshwater fish. A review of selected literature. **Journal Fish Biology**, London, v. 4, p. 593-604, 1972.

BRAHAM, J. E. et al. Effect of gossypol on the iron-binding capacity of serum in swine. **Journal Nutrition**, v. 93, p. 241– 248, 1967.

BRASIL. Ministerio da Pesca e Aquicultura. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br>>. Acesso em: 7 nov. 2010.

BRITO, A. B. Processo de desativação da soja. 2006. Disponível em: <[http://www.polinutri.com.br/conteudo\\_dicas\\_fevereiro\\_06\\_1.htm](http://www.polinutri.com.br/conteudo_dicas_fevereiro_06_1.htm)>. Acesso em: 10 nov. 2009.

BUREAU, D. P.; HARRIS, A. M.; CHO, C. Y. The effects of purified alcohol extracts from soy products on feed intake and growth of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 161, p. 27-43, 1998.

BUTOLO, J. E. Qualidade de ingredientes na alimentação animal. In: BUTOLO, J. E. **Ingredientes de origem vegetal**. Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2002. p. 93-238.

CARNEIRO, D. J.; CASTAGNOLLI, N. Nutrição do pacu II: digestibilidade aparente da proteína em dietas isocalóricas. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 3., 1984, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, CESP, 1984. p.125-132.

CARRATORE, R. C. et al. Desempenho produtivo de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) arraçoados com farinha de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 31, n. 5, p. 369-374, maio 1996.

CARVALHO, M. R. B. Avaliação da atividade dos inibidores de tripsina após digestão enzimática em grãos de soja tratados termicamente. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 15, n. 3, p. 30-34, set. 2002.

CLAWSON, A. J. et al. Unextracted cottonseed in diets for monogastric animals. I. The effect of ferrous sulfate and calcium hydroxide in reducing gossypol toxicity. **Journal Animal Science**, v. 40, p. 640–647, 1975.

COSTA, S. I. **Farinha de soja desengordurada**. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1972. 59 p. (Boletim, 29).

DABROWSKI, K. et al. Effect of partially or totally replacing fishmeal protein by soybean meal protein on growth, food utilisation and proteolytic enzyme activities in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). New in vivo test for endocrine pancreatic secretion. **Aquaculture**, v. 77, p. 29–49, 1989.

DE LUMEN, B. O. Molecular strategies to improve protein quality and reduce flatulence in legumes: A review. **Food Structure**, v. 11, p. 33-46, 1992.

DURIGAN, J. F. **Fatores antinutricionais**. 1995. 29 p. Apostila.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Ovinos. Disponível em: <<http://www.cnpq.embrapa.br>>. Acesso em 30 set. 2010.

EMPSON, K.L.; LABUZA, T. P.; GRAF, E. Phytic acid as a food antioxidant. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 56, n. 2, p. 560-563, 1991.

FALLON, S.; ENIG, M. Soja tragédia e engodo. **Nexus Magazine**, v. 7, n. 3, 2000. Disponível em: <<http://blog.homeopatiaveterinaria.com.br/2008/06/11/soja-tragedia-e-engodo-terceiro-simposio-internacional-da-soja>>. Acesso em: 23 maio 2009.

FARNSWORTH, N. R. et al. Potential value of plants as sources of new antifertility agents I. **Journal of Pharmaceutical Science**, v. 64, p. 535–598, 1975a.

FARNSWORTH, N. R. et al. Potential value of plants as sources of new antifertility agents II. **Journal of Pharmaceutical Science**, v. 64, p. 717–754, 1975b.

FERNANDES, D. R. N. **Valor nutritivo do farelo de pinhão manso (*Jatropha curcas*) para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2010. 81 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura)-Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2010.

FONTAINHAS-FERNANDES, A. et al. Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of Nile tilapia: digestibility and growth performance. **Aquaculture International**, v. 7, n. 1, p. 57-67, 1999.

FRANCIS, G.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. *Quillaja* saponinas - a natural growth promoter for fish. **Animal Feed Science and Technology**, v. 121, p. 147-157, 2005.

FRANCIS, G.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Dietary supplementation with a *Quillaja* saponin mixture improves growth performance and metabolic efficiency in common carp (*Cyprinus carpio* L.). **Aquaculture**, v. 203, p. 311-320, 2002a.

FRANCIS, G.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Effects of cyclic and regular feeding of a *Quillaja* saponin supplemented diet on growth and metabolism of common carp (*Cyprinus carpio* L.). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 24, p. 343–350, 2002b.

FRANCIS, G.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish: review. **Aquaculture**, v. 199, p. 197-227, 2001a.

FRANCIS, G.; MAKKAR, H.P. S.; BECKER, K. Effects of *Quillaja* saponins on growth, metabolism, egg production and muscle cholesterol in individually reared Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, v. 129, p. 105-114, 2001b.

FREED, D. L.; BUCKLEY, C. H. Mucottractive effect of lectin. *Lancet*, London, v. 18, n. 1, p. 585-586, 1978.

FREELAND, W. J.; CALCOTT, P. H.; ANDERSON, L. R. Tannins and saponin: interaction in herbivore diet. **Biochemistry Systematics and Ecology**, v. 13, n. 2, p. 189–193, 1985.

GIACHETTO, P. F. **Utilização de diferentes fontes de calor na inativação térmica dos fatores antinutricionais da soja (*Glycine max*), “IAC-8” e seus efeitos no desenvolvimento de frangos de corte.** Jaboticabal, 103 p, 1995.

GRANT, G. Lectins. In: D’MELLO, F. J. P.; DUFFUS, C. M.; DUFFUS, J. H. (Eds.). **Toxic substances in crop plants.** Cambridge: Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Science Park, 1991. p. 49-67.

GRANT, G. Anti-nutritional effects of soybean: a review. **Progress in Food and Nutrition Science**, v. 13, p. 317-348, 1989.

GRANT, G. et al. Intestinal and pancreatic responses to dietary soybean (*Glycine max*) proteins. **Biochemical Society Transactions**, Colchester, v. 16, n. 4, p. 610-611, 1988.

HANLEY, F. The digestibility of foodstuffs and the effects of selectivity on digestibility determinations in Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 66, p. 163-179, 1987.

HANNAS M. I.; PUPA J. M. R. **Enzimas: uma alternativa viável para enfrentar a crise na suinocultura.** Disponível em: <[http://www.engormix.com/enzimas\\_uma\\_alternativa\\_viavel\\_p\\_artigos\\_26\\_PO\\_R.htm](http://www.engormix.com/enzimas_uma_alternativa_viavel_p_artigos_26_PO_R.htm)>. Acesso em: 4 ago. 2010.

HASDAI, A.; NITSAN, Z.; VOLCANI, R. Growth, digestibility, and enzyme activities in the pancreas and intestines of guinea-pigs fed on raw and heated soya-bean flour. **British Journal of Nutrition**, London, v. 62, n. 3, p. 529-537, 1989.

HENDRIKS, H. G. C. J. M. et al. Binding of soybean agglutinin to small intestinal brush border membranes and brush border membrane enzyme activities in Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture**, v. 91, p. 163–170, 1990.

HEPHER, B. **Nutrition of pond fishes**. Cambridge: Cambridge University Press, 1988. 387 p.

HEUGTEN, E. van. Micotoxins and other antinutritional factors in swine feeds. In: LEWIS, A. J.; SOUTHERN, L. L. (Eds.). **Swine nutrition**. 2nd ed. Boca Raton: CRC, 2001. p. 563-584.

HIGGS, D.A. et al. Evaluation of Tower and Candle rapeseed (canola) meal and Bronowski rapeseed protein concentrate as protein supplements in practical dry diets for juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). **Aquaculture**, v. 29, p. 1–31, 1982.

HOSSAIN, M. A.; JAUNCEY, K. Detoxification of linseed and sesame meal and evaluation of their nutritive value in the diet of carp (*Cyprinus carpio* L.). **Asian Fisheries Science**, v. 3, p. 169–183, 1990.

HURREL, R. F. et al. Soy protein, phytate, and iron absorption in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 56, n. 3, p. 573-578, 1992.

INABA, D. et al. Digestibility of dietary components in fishes – I. Digestibility of dietary proteins in rainbow trout. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, v. 28, n. 3, p. 367-371, 1962.

JACKSON, A. J.; CAPPER, B. S.; MATTY, A. J. Evaluation of some plant proteins in complete diets for the tilapia *Sarotherodon mossambicus*. **Aquaculture**, v. 27, p. 97–109, 1982.

JAFFÉ, W. G.; BRÜCHER, O. Toxicidad y especificidad de diferentes fitohemaglutininas de frijoles (*Phaseolus vulgaris*). **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 22, n. 2, p. 267-281, 1972.

JAFFÉ, M. B. Factores toxicos en leguminosas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 18, p. 205-218, 1968.

KAKADE, M. L.; HOFFA, D. E.; LIENER, I. E. **Journal Nutrition**, v. 103, 1772 (1973).

KAUSHIK, S. J. et al. Partial or total replacement of fishmeal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**, v. 133, p. 257–274, 1995.

KENNEDY, J. F. et al. Lectins, versatile proteins of recognition: a review. **Carbohydrate Polymers**, Great Yarmouth, v. 26, n. 3, p. 219-230, 1995.

KIIHL, R. A. S. et al. Contribuição à cultura da soja. **O agrônomo**, p. 1-9, 1971.

KOTB, A. R.; LUCKEY, T. D. Markers in nutrition. Nutrition Abstracts and Reviews, **Farham Royal**, v. 92, n. 3, p. 813-845, 1972.

KROGDAHL, A.; LEA, T. B., OLLI, J. J. Soybean proteinase inhibitors affect intestinal trypsin activities and amino acid digestibilities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 107, p. 215-219, 1994.

LARSSON, A. et al. Comparative study of some haematological and biochemical blood parameters in fishes from the skagerrak. **Journal Fish Biology**, London, v. 9, p. 425-440, 1976.

LEE, J. A.; ROUSSEL, J. D.; BEATTY, J. F. Effect of temperature season on bovine adrenal cortical function, blood cell profile, and milk production. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 59, n. 1, p. 104-108, 1974.

LEE, H.; GARLICH, J. D. Effect of overcooked soybean meal on chicken performance and amino acid availability. **Poultry Science**., Champaign, v. 71, n. 3, p. 499-509, 1992.

LIENER, I. E. **Toxic constituents of plant foodstuffs**. New York: Academic, 1980. p. 1-502.

LIENER, I. E. Legume toxins in relation to protein digestibility. A review. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 41, p.1076-1081, 1976.

LIENER, I. E. Phytohemagglutinins: their nutritional significance. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 22, n. 1, p. 17-22, 1974.

LIENER, I. E. **Journal Nutrition**, v. 49, p. 527, 1953.

LIM, C.; DOMINY, W. Utilization of plant protein by warmwater fish. In: AQUACULTURE FEED PROCESSING AND NUTRITIONAL WORKSHOP, 1991, Mexico. **Proceedings...** Mexico: American Soybean Association, 1991. p. 163-172.

LIS, H.; SHARON, N. The biochemistry of plant lectins (phytohemagglutinins). **Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v. 42, p. 541-574, 1973.

LOVELL, R. M. Aquaculture and soybean. **Aquaculture Magazine**, Dec. 1985.

LOVELL, R. M. How important is fish feed and nutrition? **Community Fish Aquacult. News**, v. 7, n. 4, p. 36-37, 1981.

LOVELL, R. M. **The chemical biology of fishes**. London: Academic, 1970. 547 p.

LOVSHIN, L. L. Red tilapia or Nile tilapia: which is the best culture fish? In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES DO COLÉGIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 2., 1998, Piracicaba. **Anais...** CBNA, 1998. p. 179-198.

MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Nutritional studies on rats and fish (carp, *Cyprinus carpio*) fed diets containing unheated and heated *Jatropha curcas* meal of a non-toxic provenance. **Plant Foods Human Nutrition**, v. 53, p. 183–192, 1999.

MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Nutrients and antiquality factors in different morphological parts of the *Moringa oleifera* tree. **Journal Agriculture Science**, Cambridge, v. 128, p. 311–322, 1997.

MAKKAR, H. P. S.; BLUMMEL, M., BECKER, K. In vitro effects of and interactions between tannins and saponins and fate of tannins in the rumen. **Journal and the Science of Food Agriculture**, v. 69, p. 481–493, 1995a.

MARSMAN, G. J. P.; GRUPPEN, H.; POEL, A. F. B. Van der. Effect of extrusion on the in vitro digestibility of toasted and untoasted soybean meal: recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON ANTINUTRITIONAL FACTORS (ANFs) IN LEGUME SEEDS, 2., 1993. Wageningen. **Proceedings...** Wageningen: Wageningen Pers, 1993. p. 461-465.

MARTIN-CABREJAS, M. A. et al. Hard-to-cook phenomenon in beans: changes in antinutrient factors and nitrogenous compounds during storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 69, n. 4, p. 429-435, 1995.

McNAUGHTON, J. L.; REECE, F. N. Effect of moisture content and cooking time on soybean meal urease index, trypsin inhibitor content and broiler growth. **Poultry Science**, Champaign, v. 59, n. 10, p. 2300-6, 1980.

MENDES, W. S. et al. Composição química e valor nutritivo da soja crua submetida a diferentes processamentos térmicos para suínos em crescimento. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecia**, v. 56, n. 2, p. 207-213, 2004.

MESSINA, M. Phytate's potential role in reducing colon-cancer risk. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 54, n. 3/4, p. 762, 1991.

MIURA, E. M. Y. et al. Avaliação biológica de soja com baixas atividades de inibidores de tripsina e ausência do inibidor Kunitz. **Archivos Latinoamericanos de nutrición**, v. 51, n. 2, p. 195-198, 2001.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of warmwater fishes and shellfishes**. Washington, DC, 1981. 102 p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of warmwater fishes**. Washington, DC, 1977. 78 p.

NITSAN, Z.; LIENER, I. E. Enzymatic activities in the pancreas, digestive tract and feces of rats fed raw or heated soy flour. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 106, n. 2, p. 300-305, 1976.

NOLAND, P. R. et al. Evaluation of processed soybeans and grain in diets for young pigs. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 43, n. 4, p. 763-769, 1976.

NORTON, G. Proteinase inhibitors. In: D'MELLO, F. J. P.; DUFFUS, C. M.; DUFFUS, J. H. (Eds.). **Toxic substances in crop plants**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Science Park, 1991. p. 68-106.

NOSE, T. On the digestion of food protein by gold-fish (*Carassius auratus L.*) and rainbow trout (*Salmo irideus G.*). **Bulletin of Freshwater Fisheries Research Laboratory**, Tokyo, v. 10, p. 11-22, 1960.

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

NUNES, A. S. et al. Efeito de dois regimes de suplementação e dois sistemas de produção, nos constituintes sanguíneos de cabras Saanen durante a lactação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 3, p. 1245-1250, 2002.

OJIMELUKWE, P. C.; ONUOHA, C. C.; OBANU, Z. A. Effects of processing and *in vitro* proteolytic digestion on soybean and yambean hemagglutinins. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 47, n. 4, p. 293-299, 1995.

OLLI, J. J.; HJELMELAND, K.; KROGDAHL, A. Soybean trypsin inhibitors in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*, L): effects on nutrient digestibilities and trypsin in pyloric caeca homogenate and intestinal content. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 109, n. 4, p. 923-928, 1994.

OLLI, J. J.; KROGDAHL, A.; BERG-LEA, T. Effects of soybean trypsin inhibitor activity on nutrient digestibility in salmonids fed practical diets containing various soy bean meals. In: The current status of fish nutrition in aquaculture. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FEEDING AND NUTRITION IN FISH, 3., 1989, Toba. **Proceedings...** Toba, 1990. p. 263-271.

PAES, P. R.; BARIONI, G.; FONTEQUE, J. R. Comparação dos valores hematológicos entre caprinos fêmeas da raça Parda Alpina de diferentes faixas etárias. **Veterinária Notícias**, v. 6, n. 1, p. 43-49, 2000.

PELISSERO, C.; LE MENN, F.; KAUSHIK, S. Estrogenic effect of dietary soybean meal on vitellogenesis in cultured Siberian sturgeon *Acipenser baeri*. **General Comparative Endocrinology** 83, 447–457, 1991a.

PEZZATO, L. E. et al. Digestibilidade de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira De Zootecnia**. v. 31, n. 4, p. 1595-1604, 2002.

PEZZATO, L. E. Alimentos convencionais e não convencionais disponíveis para indústria da nutrição de peixes na Brasil. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE NUTRIÇÃO DE PEIXES E CRUSTÁCEOS, Campos do Jordão, 1995, p. 33-52.

PUSZTAL, A.; WATT, W. B.; STEWART, J. C. A comprehensive scheme for the isolation of trypsin inhibitors and the agglutinin from soybean seeds. **Journal Agriculture Food Chemistry**, Califórnia, v. 39, p. 862-866, 1991.

PUSZTAL, A. et al. Nutritional evaluation of kidney beans (*Phaseolus vulgaris*): Chemical composition, lectin content and nutritional value of selected cultivars. **Journal of Science of Food and Agriculture**. Oxford, v. 30, n. 9, p. 843-48, 1979.

PUSZTAL, A.; GRANT, G.; PLAMER, J. T. A. Nutritional evaluation of kidney beans (*Phaseolus vulgaris*): The isolation and partial characterization of toxic constituents. **Journal of Science of Food and Agriculture**. Oxford, v. 26, p. 149-156, 1975.

RANZANI-PAIVA, M. J.; SILVA-SOUZA, A. T. Hematologia de peixes brasileiros. In: RANZANI-PAIVA, M. J.; TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. A. P. (Eds.). **Sanidade de organismos aquáticos**. São Paulo: Varela, 2004. p. 89-120.

REFSTIE, S.; HELLAND, S. J.; STOREBAKKEN, T. Adaptation to soybean meal in diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**, v. 153, p. 263–272, 1997.

REYNOSO-CAMACHO, R., DE-MEJIA, E.G., LOARCAPINA, G. Purification and acute toxicity of a lectin extracted from tepary bean (*Phaseolus acutifolius*). **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 41, n. 1, p. 21-27, Jan. 2003.

RICHARDSON, N. L. et al. Influence of dietary calcium, phosphorous, zinc and sodium phytate level on cataract incidence, growth and histopathology in juvenile Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). **Journal Nutrition**, v. 115, p. 553–567, 1985.

RICHE, M.; BROWN, P. B. Availability of phosphorus from feedstuffs fed to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**, v. 142, p. 269–282, 1996.

ROBAINA, L. et al. Soybean and lupin seed meals as protein sources in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*): nutritional and histological implications. **Aquaculture**, v. 130, p. 219-233, 1995.

RÖHR, R. O processamento e utilização na alimentação animal do farelo de soja. In: ENCONTRO NACIONAL DE TÉCNICOS EM NUTRIÇÃO AVÍCOLA, 1., 1978, Jaboticabal. **Anais...** 978. p.111-140.

ROJAS, S. W.; SCOTT, M. L. Factors affecting the nutritive value of cottonseed meal as a protein source in chick diets. **Poultry Science**, v. 48, p. 819– 835, 1969.

RUMSEY, G. L.; HUGHES, S. G., WINFREE, R. A. Chemical and nutritional evaluation of soy protein preparations as primary nitrogen sources of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Animal Feed Science Technology**, v. 40, p. 135–151, 1993.

SAKOMURA, N. K. Uso da soja integral na alimentação de aves. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE NUTRIÇÃO DE SUÍNOS E AVES, 1996, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: CBNA, 1996. p. 26-38.

SAMBETH, W.; NESHEIM, M. C.; SERAFIN, J. A. **Journal Nutrition**, v. 92, 479 p., 1967.

SCHENEIDER, B. H.; FLATT, W. P. **The evaluation of feeds through digestibility experiments**. Athens: University of Georgia Press, 1975. 423 p.

SCHIMIDT-NIELSEN, K. **Fisiologia animal adaptação e meio ambiente**. 5. ed. São Paulo: Santos, 1996. 546 p.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos**: propriedades, degradações, modificação. São Paulo: Varela, 1996, 517 p.

SHARON, N.; LIS, H. Lectins: cell agglutinating and sugar specific proteins. **Science**, Washington, v. 177, p. 949, 1972.

SHIAU, S. Y. et al. Replacement of fishmeal with soybean meal in male tilapia (*O. aureus* x *O. niloticus*) fingerling diets at suboptimal protein level. **Journal World Aquaculture Society**, v. 20, p. 230–235, 1989.

SHIAU, S. Y.; CHUANG, J. L.; SUN, C. L. Inclusion of soybean meal in tilapia (*Oreochromis aureus* x *O. Niloticus*) diets at two protein levels. **Aquaculture**, v. 65, p. 251–261, 1987.

SILVA, M. R.; SILVA, M. A. A. P. Fatores antinutricionais: inibidores de proteases e lectinas. **Revista Nutrição**, Campinas, v. 13, n. 1, p. 3-9, 2000.

SILVEIRA, J. M. Patologia clínica veterinária: teoria e interpretação. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. 196 p.

SOUZA, R. R. P. **Digestibilidade da proteína de dietas para o híbrido de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e tambaqui (*Colossoma macropomum*).** 1989. 79 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Zootecnia)-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1989.

SOUZA, V. L. **Efeitos da restrição alimentar e da realimentação no metabolismo de pacus juvenis (*Piaractus mesopotamicus*).** 1994. 163 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista, 1994.

SPINELLI, J.; HOULE, C. R.; WEKELL, J. C. The effect of phytates on the growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed purified diets containing varying quantities of calcium and magnesium. **Aquaculture**, v. 30, p. 71–83, 1983.

STECH, M. R.; CARNEIRO, D. J.; CARVALHO, M. R. B. Fatores antinutricionais e coeficientes de digestibilidade aparente da proteína de produtos de soja para o pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Acta Scientiarum: animal sciences**, Maringá, v. 32, n. 3, p. 255-262, 2010.

STECH, M. R. **Avaliação nutricional de seis cultivares de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) e sua utilização na alimentação de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1987).** 1996. 78 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Zootecnia)-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1996.

STUART, S. M. et al. Bioavailability of zinc to rats as affected by protein source and previous dietary intake. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 116, n. 8, p.1423-1431, 1986.

SYNDER, H. E.; KWON, T. W. Soybean Utilization. Van Nostrand Reinhold, New York, 1987.

TACON, A. G. J. **Feed ingredients for warmwater fish: fish meal and other processed feedstuffs.** FAO Fisheries. Rome, FAO, 1993. 64 p. (Circular no. 856).

TORRE, M.; RODRIGUEZ, A. R.; SAURA-CALIXTO, F. Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 1, n. 1, p. 1-22, 1991.

TURNER, R. H.; LIENER, I. E. The effect of the selective removal of hemagglutinins on the nutritive value of soybeans. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 23, n. 3, 1975.

VAN DER INGH, T. S. G. A. M. et al. Effects of soybean-containing diets on the proximal and distal intestine in Atlantic salmon (*Salmo salar*): a morphological study. **Aquaculture**, v. 94, p. 297–305, 1991.

WEE, K. L.; SHU, S.-W. The nutritive value of boiled full-fat soybean in pelleted feed for Nile tilapia. **Aquaculture**, v. 81, p. 303-314, 1989.

WILSON, R. P.; POE, W. E. Effects of feeding soybean meal with varying trypsin inhibitor activities on growth of fingerling channel catfish. **Aquaculture**, v. 46, p. 19-25, 1985.

ZHOU, J. R.; ERDMAN, J. W. Phytic acid in health and disease. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 35, n. 6, p. 495-508, 1995.

ZHOU, J. R. et al. Reduction of phytic acid in soybean products improves zinc bioavailability in rats. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 122, n. 12, p. 2466-2473, 1992.

## **CAPÍTULO II**

### **Soja crua em dietas para a tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*)**

**RESUMO** – A pesquisa teve por objetivo avaliar o coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) da soja crua (SC) e a substituição (0,0; 15,0; 25,0; 35,0%) da proteína do farelo de soja pela proteína da soja crua em dietas práticas, sobre o desempenho produtivo, resposta hematológica e análise histopatológica do fígado. A pesquisa foi dividida em dois estudos: Estudo I - ensaio de digestibilidade. Foram utilizados 80 juvenis ( $\pm 50,0$  g) de tilápia-do-nilo num sistema para determinação dos CDA, sendo a ração teste acrescida de 0,1% de  $Cr_2O_3$ . Estudo II - ensaio de desempenho produtivo e saúde. Por 90 dias. Foram utilizados 160 peixes com peso médio inicial de  $17,0 \pm 1,55$  g, distribuídos em 32 tanques-rede de 200L (cinco peixes/aquário). Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e oito repetições. Ao final do período experimental determinou-se o desempenho produtivo (ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar aparente, taxa de eficiência proteica, taxa de retenção proteica e porcentagem de sobrevivência). Posteriormente, foram efetuadas as análises hematológicas dos peixes (contagem de eritrócitos, porcentagem de hematócrito, taxa de hemoglobina e contagem diferencial de leucócitos) e aos 45 e 90 dias as lâminas histológicas dos fígados. Os peixes alimentados com ração sem SC apresentaram melhor ganho de peso e consumo de ração. Sinais de estresse, confrontos agonísticos, dominância entre os animais e lesão dérmica foi observado nos peixes alimentados com rações contendo níveis crescentes de soja crua. O fígado dos peixes não apresentou edema ou necrose, apenas degeneração. A soja crua prejudicou o desempenho produtivo da tilápia-do-nilo, porém no período de 90 dias, não determinou alterações no eritrograma e histologia do fígado.

**Palavras chave:** antinutricional, digestibilidade, hematologia, nutrição, soja crua.

## **RAW SOYBEANS IN DIETS FOR NILE TILAPIA (*Oreochromis niloticus*)**

**ABSTRACT** - The research aimed to evaluate the apparent digestibility coefficient (ADC) of raw soybean (RS) and the replacement of protein from soybean meal by raw soybean protein in increasing levels of RS (0.0, 15.0, 25, 0, 35.0%) in practical diets on productive performance, hematological response and histopathological analysis of liver. The present research was divided into two studies: Study I - the digestibility trial. In this study 80 juveniles ( $\pm 50.0$  g) of Nile tilapia were used to determining the ADC. Chromic oxid was added in test diet at a rate of 0.1%. Study II - productive performance and health trial. In this study the experimental period was 90 days. One hundred and sixty fish with initial average weight of  $17.0 \pm 1.55$  g were used. The animals were distributed into 32 cages of 200L containing five fish per aquarium. Treatments were arranged in a completely randomized design with four treatments and eight replicates. At the end of the experimental period fish were weighed to determine productive performance (weight gain, feed intake, apparent feed conversion, efficiency protein ratio, protein retention ratio and survival percentage). Hematological parameters evaluated after 90 days were total (erythrocyte and leukocytes count, differential leucocytes, hematocrit, hemoglobin, total plasmatic protein, albumin and globulin). Hematimetric indices were calculated. At the 45th and the 90th days histological slides of fish livers were performed. Fish fed diet with no RS showed better weight gain and feed intake. Signs of stress, agonistic behaviors, dominance among animals and skin lesions were observed in fish fed diets containing raw soybean. Fish livers showed no edema or necrosis, only degeneration. Raw soybean impaired growth performance, however 90 days did not determined alterations neither on erythrogram nor in histological characteristics of liver.

**Keywords:** antinutritional, digestibility, hematology, nutrition, raw soybeans.

## INTRODUÇÃO

Dentre os inúmeros produtos de origem vegetal, os grãos de soja (*Glycine max*) recebem atenção por parte dos nutricionistas como substituto da fração proteica animal. No entanto, são vários os fatores antinutricionais presentes nos produtos e subprodutos de origem vegetal, podendo diferir significativamente nos níveis de toxicidade, sendo que esses efeitos dependem da espécie animal. Destaca-se também, a habilidade desses antinutricionais em resistir ao processo térmico, comum à sua desativação (Makkar, 1997).

O termo antinutricional implica em substância com capacidade de alterar o aproveitamento dos nutrientes contido nos alimentos, podendo tornar indisponível os nutrientes ou parte desses, diminuir a digestibilidade ou metabolismo e/ou reagir de forma antagônica (Makkar, 1997). Podem reduzir a disponibilidade de aminoácidos, vitaminas e minerais (Butolo, 2002), alterar a fisiologia dos peixes, interferir na utilização dos alimentos, diminuir o apetite, prejudicar o desempenho produtivo e levar a óbito, se utilizado por períodos prolongados (Makkar, 1997).

Os grãos de soja possuem vários antinutricionais, tais como os inibidores de protease, lectinas, ácido fítico, saponinas, fitoestrógenos, antivitaminas e alérgenos (Francis et al., 2001a). Porém, apresentam alto valor nutricional, como elevadas concentrações de ácidos graxos das séries linoléica e linolênica (Sgarbieri, 1996), proteína com adequada composição em aminoácidos, particularmente lisina, triptofano, fenilalanina e leucina, sendo por isso apreciada pelos nutricionistas, embora seja deficiente para a maioria das espécies animais em aminoácidos sulfurados (metionina e cistina) (Lovell, 1985).

O estudo da soja crua se torna interessante para peixes, já que o avanço das pesquisas realizadas por geneticistas tem sido significativo pelo desenvolvimento de cultivares de soja com baixa atividade do inibidor de tripsina, o que tem permitido avaliar sua potencialidade no arraçoamento dos animais e, também, considerar sua disponibilidade e satisfatória composição em nutrientes (Lovell, 1981 e Costa, 2004).

Com base no exposto, esta pesquisa teve por finalidade avaliar o coeficiente de digestibilidade aparente da soja crua, e os seus efeitos

antinutricionais, em dietas práticas, no desempenho produtivo, resposta hemática e histologia de fígado da tilápia-do-nylo.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

A pesquisa foi realizada na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Botucatu, Laboratório de Nutrição e Saúde de Peixes, AquaNutri, unidade integrada ao Centro de Aquicultura da UNESP.

### *Descrição do Material Testado*

A soja crua, cultivar Dow 5D688RR, utilizada foi produzida na Fazenda Lageado da Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu/UNESP. Os grãos de soja crua (SC) foram triturados em moinho de facas, mantendo a temperatura de 30 °C durante a moagem, obtendo-se o produto para posterior utilização nas rações. O mesmo foi analisado quanto aos teores de umidade, proteína bruta, extrato etéreo, cinzas, fibra bruta e energia bruta, conforme metodologia descrita pela AOAC (2000). Estas análises foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal da FMVZ - UNESP – Câmpus de Botucatu.

### *Análise dos Fatores Antinutricionais e de Controle de Qualidade*

Para a análise de atividade dos inibidores de tripsina, a soja crua, foi finamente moída (“mesh” 60) e desengordurada a frio, com sucessivas lavagens em éter de petróleo. Estas análises foram realizadas no Laboratório de Bioquímica de Fatores Antinutricionais do Departamento de Tecnologia da FCAV, Câmpus de Jaboticabal.

### *Atividade dos Inibidores de Tripsina*

O valor para atividade do inibidor de tripsina foi determinado utilizando-se o método descrito por Kakade et al. (1969), que emprega o BAPNA (N $\alpha$ -benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida) como substrato para tripsina. Uma Unidade de Tripsina (UT) foi definida como o aumento de 0,01 unidade de absorvância a 410 nm por 100 mL do meio de reação. A atividade do inibidor de tripsina representa as unidades de tripsina inibida (UTI/mg de amostra desengordurada).

### *Solubilidade Proteica e Atividade Ureática*

As análises de atividade ureática e de solubilidade protéica em KOH (g/100) da soja crua foram realizadas no LABTEC (Laboratório de Análises Químicas – Campinas, SP).

## **ESTUDO I - DIGESTIBILIDADE**

### *Confecção das Dietas*

Foi empregada uma dieta referência (Tabela 1) para a determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da matéria seca, proteína bruta, energia bruta, extrato etéreo e a disponibilidade dos minerais do farelo de soja crua (SC).

A dieta-teste foi confeccionada de forma que a soja crua substituísse 30,0% da ração referência. Os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) foram determinados pelo método indireto utilizando-se o óxido de cromo-III como marcador inerte na concentração de 0,1% da dieta de acordo com Bremer Neto et al. (2005).

Na confecção das dietas (referência e teste), após pesagem e homogeneização dos ingredientes, foi acrescida água (temperatura a 55,0 °C) na proporção de 18,0% do peso total da ração. As misturas foram peletizadas em prensa especial para as dietas referência e teste (Ação Científica<sup>®</sup>) e secas em estufa com ventilação forçada (55 °C/24:00 horas). Após, os péletes foram desintegrados em equipamento próprio para fracionamento, o que possibilitou a obtenção de grânulos homogêneos com diâmetro geométrico médio (DGM) de

4,0 mm. As dietas foram armazenadas em freezer a -18,0 °C até a utilização. O processo de peletização foi escolhido visando-se minimizar a ação do calor na inativação dos fatores antinutricionais.

### *Sistema Experimental e Peixes*

Para alojamento e alimentação dos peixes, foram utilizados oito aquários de formato circular, confeccionados em fibra de vidro com capacidade de 250 litros/cada. Estes possuem sistema de recirculação contínua de água, com filtro físico-biológico e temperatura controlada por meio de termostato. Para a coleta de fezes foram utilizados quatro aquários de formato cônico com capacidade de 300 litros. A temperatura e o oxigênio dissolvido da água dos aquários de digestibilidade e de alimentação foram mantidos por meio de aquecedores (25,5 °C) e pedra porosa acoplada a aerador central (6,50 mg/L), respectivamente. O nível de amônia foi monitorado e mantido abaixo de 0,01 mg/L, por meio de sifonagem e reposição de água. Os parâmetros apresentados foram determinados utilizando-se sonda YSI 556 MPS®.

Foram alojados 80 juvenis de tilápia-do-nilo invertidos sexualmente, provenientes da Piscicultura Fernandes (peso médio de 50,0 g) em oito tanques-rede (10 peixes/tanque-rede) de formato circular (80,0 cm de diâmetro e 60,0 cm de altura), confeccionados em tela plástica (malha de 1,50 cm entre/nós).

Os tanques-rede foram utilizados para abrigar os peixes e facilitar o manejo de alimentação e coleta de fezes, proporcionando o menor estresse possível.

### *Procedimento Experimental*

Foi empregada a metodologia descrita por Pezzato et al. (2004), sendo que os peixes foram arraçoados fora do sistema coletor de fezes, nos aquários de alimentação, por meio do arraçoamento manual.

Para adaptação do sistema experimental os peixes foram alimentados durante cinco dias, antes do início do experimento.

Durante o período experimental, os animais foram mantidos, durante o dia, nos aquários de alimentação, sendo alimentados duas vezes no período matutino, às 8:00 e 12:00 horas. No período vespertino, a alimentação foi intensificada a cada hora, até as 17:00 horas. No final de cada tarde, 18:00 horas, os tanques-rede eram transferidos aos aquários de coleta de fezes, onde permaneceram até a manhã do dia seguinte, sendo, então, o tanque-rede devolvido ao respectivo aquário de alimentação. Esses tanques, dotados de sistema de coleta de fezes por gravidade, possibilitaram a obtenção do material para análise em coletores adaptados e acoplados ao aquário. Após os períodos de alimentação e de coleta de fezes, foi efetuada a limpeza dos aquários, preparando-os para nova coleta (repetição). Foram necessários três dias de coleta de fezes (repetição/dia) para a dieta referência e para a dieta teste. Após a coleta, as fezes foram desidratadas em estufa com ventilação forçada (55 °C/48 horas), moídas em micro moinho, retiradas as escamas, utilizando-se pinça e microscópio estereoscópico e, posteriormente, armazenadas a -18,0 °C para análises.

### *Análises Químicas*

As análises químico-bromatológicas dos alimentos, das rações e das fezes e a determinação da concentração de crômio, das fezes e das rações, foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal da FMVZ - UNESP – Câmpus de Botucatu. As análises de proteína foram realizadas segundo a AOAC (2000). As análises para determinação da concentração de crômio, das fezes e das rações, foram realizadas segundo Bremer Neto et al. (2005).

### *Cálculo do Coeficiente de Digestibilidade Aparente*

O coeficiente de digestibilidade aparente foi calculado com base na seguinte fórmula (Cho et al., 1987):

$$CDA = 100 - \left[ 100 - \left( \frac{\% Cr_{2O_3r}}{\% Cr_{2O_3f}} \right) \cdot \left( \frac{\% Nf}{\% Nr} \right) \right]$$

sendo:

CDA = coeficiente de digestibilidade aparente (%);

%Cr<sub>2</sub>O<sub>3r</sub> = percentagem de óxido de crômio-III na ração;

%Cr<sub>2</sub>O<sub>3f</sub> = percentagem de óxido de crômio-III nas fezes;

%N<sub>f</sub> = percentagem de nutriente nas fezes;

%N<sub>r</sub> = percentagem de nutriente na ração.

A digestibilidade aparente dos nutrientes da soja crua foi calculada de acordo com a seguinte fórmula, proposta por Forster, (1999).

$$CDA_N = [(CDA_{RT} \times D_T) - (0.7 \times D_R \times CDA_{RR})] / (0.3 \times D_N)$$

sendo:

CDA<sub>N</sub> = coeficiente de digestibilidade aparente de nutriente;

CDA<sub>RT</sub> = coeficiente de digestibilidade aparente de nutrientes na ração teste;

CDA<sub>RR</sub> = coeficiente de digestibilidade aparente de nutrientes na ração referência;

D<sub>T</sub> = percentagem de nutriente da ração teste;

D<sub>R</sub> = percentagem de nutriente da ração referência;

D<sub>N</sub> = percentagem de nutriente do ingrediente teste.

## *ESTUDO II – DESEMPENHO PRODUTIVO*

### *Confecção das Dietas*

A dieta controle (0% SC) foi formulada com base nas exigências nutricionais da espécie e confeccionada a base de farelo de soja como fonte proteica principal. Três níveis de substituição 15,0; 25,0 e 35,0% da proteína do farelo de soja pela proteína da soja crua constituíram os tratamentos SC15, SC25 e SC35, respectivamente (Tabela 2). As dietas práticas foram balanceadas de acordo com os valores de proteína bruta determinados por Rostagno et al. (2005) e formuladas para atender a exigência em 30,0% de PB e 4.000 kcal EB/kg da dieta.

Os ingredientes utilizados na confecção das dietas que compõem os tratamentos experimentais tiveram seu diâmetro de partículas homogeneizados

(0,42 mm), acrescidos de água a 55 °C, na proporção de 35% do peso total da mistura. Posteriormente, as misturas foram peletizadas (Ação Científica<sup>®</sup>) e secas em estufa de circulação de ar a 55 °C, durante 24 horas. Em seguida as dietas foram fracionadas e os grânulos de diâmetros geométrico médios ajustados ao tamanho da boca dos animais, sendo posteriormente, armazenadas a -18,0 °C até sua utilização.

### *Sistema Experimental e Peixes*

Foram selecionados 160 juvenis de tilápia-do-nilo, invertidos sexualmente, com peso médio inicial de aproximadamente  $17,0 \pm 1,55$  g provenientes da mesma desova, os quais foram distribuídos aleatoriamente em 32 tanques-rede (quatro tanques-rede/ aquário de 1000 L) com volume de 200 litros cada, numa densidade de estocagem de cinco peixes/aquário. Do mesmo lote de peixe foram separados dez juvenis para determinação da composição químico-bromatológica inicial da carcaça.

Os tratamentos experimentais foram aleatoriamente distribuídos nos aquários, os quais são dotados de sistema de recirculação de água, com biofiltro de 1000 L para o conjunto de aquários, para manutenção da qualidade físico-química da água. A temperatura foi mantida dentro da faixa de conforto para a espécie ( $25,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$ ), por meio de sistema de termostato digital.

### *Procedimento Experimental*

Os peixes foram alimentados até a saciedade aparente, quatro vezes ao dia: às 8:00, 11:00, 14:00 e 17:00 horas, durante toda a fase experimental. Manteve-se o fotoperíodo de 10L:14E durante os 90 dias experimentais. As análises físico-químicas da água foram medidas quinzenalmente utilizando-se a sonda YSI 556 MPS<sup>®</sup> apresentando  $6,6 \pm 0,70$  mg/L de oxigênio dissolvido e pH próximo a 7, segundo as recomendações de Boyd (1990). Os aquários foram sifonados semanalmente para a limpeza e retirada das fezes, resultando na renovação diária de aproximadamente 20,0% do volume total da água do sistema.

Ao final de 90 dias foram determinados os valores de ganho de peso (GP), consumo aparente de ração (CR), conversão alimentar aparente (CAA), taxa de eficiência proteica (TEP), taxa de retenção proteica (TRP) e a porcentagem de sobrevivência (SOB).

### *Análises Químicas*

As análises químicas das rações e das carcaças dos peixes foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal da FMVZ - UNESP – Câmpus de Botucatu. As frações matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra bruta (FB) e cinzas foram determinadas segundo AOAC (2000). A energia foi determinada por meio de bomba calorimétrica (IKA® Werke – JK C2000 basic). Um lote de alevinos ao início e ao final do período experimental foi anestesiado com solução alcoólica de benzocaína, abatidos e determinados os valores químicos da composição corporal (AOAC, 2000). Desses peixes foram retiradas as escamas antes de serem moídos e, logo em seguida, acondicionados em frascos e armazenados a -18,0°C até posterior análise.

### *Análises Hematológicas*

Para a avaliação dos parâmetros hematológicos foram analisados aleatoriamente oito peixes por tratamento. Os peixes foram anestesiados (benzocaína, 1g/15 L de água) e, após estarem completamente sedados, foram realizadas as coletas de sangue por punção vaso caudal, com seringa de 1,0 mL banhada com anticoagulante, EDTA a 3,0%.

A contagem do número de eritrócitos (Erit) foi realizada pelo método do hemocitômetro em câmara de Neubauer, utilizando Azul de Toluidina Merck® a 0,01% diluído em solução fisiológica 0,9%, em pipeta de Thoma na proporção 1:200. A taxa de hemoglobina (Hb) foi determinada pelo método da cianometahemoglobina, utilizando-se kit comercial Hemoglobina Analisa Diagnóstica®, para determinação colorimétrica. A porcentagem de hematócrito (Htc) foi obtida utilizando-se o método do microhematócrito. As variáveis foram avaliadas utilizando-se as técnicas descritas por Jain (1986). Foram calculados

os índices hematimétricos, volume corpuscular médio [VCM = (Htc/eritrócitos) x 10] e concentração de hemoglobina corpuscular média [CHCM = (Hb/Htc) x 100], úteis na classificação morfológica das anemias e avaliação da resposta eritropoiética (Wintrobe, 1934).

A diferenciação dos leucócitos foi realizada em extensão sanguínea, corada com May-Grünwald Giemsa (Rosenfeld, 1947). Para tal, as lâminas foram previamente limpas, desengorduradas e devidamente identificadas (duas lâminas/peixe). Após a confecção, essas foram acondicionadas em caixas apropriadas e posteriormente coradas, utilizando-se técnica descrita por Jain (1986). A contagem diferencial foi realizada em microscópio utilizando-se aumento 100X. Foram contadas 200 células, estabelecendo-se o percentual de cada componente celular de interesse.

Os valores de proteína plasmática total (PPT) foram mensurados por meio do uso de refratômetro manual de Goldberg, pela quebra do capilar de microhematócrito logo acima da camada de leucócitos, após a leitura do hematócrito. Para a análise de albumina, foram utilizadas as mesmas amostras de sangue colhidas para o hemograma. Estas foram centrifugadas em centrífuga refrigerada Eppendorf<sup>®</sup> a 3000 rpm durante 10 minutos para a obtenção do plasma. A quantidade de albumina (ALB) foi determinada pelo método do verde de bromocresol utilizando-se kit comercial Albumina Analisa Diagnóstica<sup>®</sup>, para determinação colorimétrica. De posse dos resultados de albumina e proteína plasmática total foi determinada a quantidade de globulina (GLOB) no plasma e a relação albumina:globulina (ALB:GLOB).

#### *Análise Histopatológica do Fígado*

Aos 45 e 90 dias de experimento foram coletados os fígados de cinco peixes por tratamento. Para tal, os animais foram anestesiados como solução alcoólica de benzocaína (1,5 g/15 L água), pesados e abatidos por aprofundamento do plano anestésico. Após a retirada os fígados foram mantidos em formol a 10%.

Ao confeccionar as lâminas histológicas, o material foi submetido à desidratação por tratamento com álcool em concentrações crescentes (70,0 a

100,0%). As amostras foram diafanizadas e incluídas em parafina e submetidas a cortes em micrótomo rotativo. Os cortes, com cinco micrômetros de espessura, foram corados com Hematoxilina e Eosina (HE). Realizou-se a avaliação histopatológica dos fígados, com auxílio de microscópio ótico acoplado ao sistema analisador de imagens Leica QWin, v3.0 no Serviço de Patologia Veterinária, Departamento de Clínica Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Câmpus de Botucatu.

### *Delineamento experimental e Análises Estatísticas*

O delineamento experimental usado foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos e oito repetições.

Os dados de ganho de peso médio, consumo aparente de ração, conversão alimentar aparente, taxa de eficiência proteica e taxa de retenção proteica foram submetidos à técnica da análise de variância para o modelo com um fator, complementada com o teste de comparações múltiplas de Tukey (Zar, 1999). Os dados de sobrevivência foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, complementado com as comparações múltiplas de Dunn (Zar, 1999). Os dados de carcaça foram submetidos à técnica da análise de variância para o delineamento inteiramente casualizado, complementada com o teste de comparações de Tukey para todos os pares de médias (Zar, 1999). Os dados de hematologia foram submetidos à análise de variância para o modelo de medidas repetidas em grupos independentes (Johnson e Wichern, 2002).

## **RESULTADOS**

As análises químico-bromatológicas e os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da soja crua (SC) estão apresentados na Tabela 3. Os resultados de energia e extrato etéreo são considerados altos para a SC, e o nível de proteína bruta está de acordo com a composição proteica de elevado valor biológico.

Os valores de atividade ureática, solubilidade proteica, atividade do inibidor de tripsina e os valores digestíveis da soja crua estão apresentados na Tabela 4.

Os valores médios de ganho de peso (GP), consumo aparente de ração (CR), conversão alimentar aparente (CAA), taxa de eficiência proteica (TEP), taxa de retenção proteica (TRP) e a mediana da sobrevivência (SOB) dos peixes, alimentados com as diferentes dietas estão apresentados na Tabela 5. Não houve diferenças estatísticas para a taxa de sobrevivência.

A substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da soja crua na dieta influenciou o ganho de peso e o consumo aparente de ração após 90 dias de alimentação. Foi obtida a maior média para a taxa de retenção proteica com 0% de soja crua na dieta em relação aos demais tratamentos (Tabela 5).

A composição química das carcaças dos peixes que consumiram as diferentes dietas está apresentada na Tabela 6. Houve diferença estatística para as variáveis analisadas, umidade (UM), cinzas e extrato etéreo (EE), exceto para a proteína bruta (PB). O extrato etéreo no tratamento sem soja crua resultou na maior média, em resposta a alta quantidade de óleo incluído na dieta.

Os valores médios do número de eritrócitos (Erit), porcentagem de hematócrito (Htc), taxa de hemoglobina (Hb), volume corpuscular médio (VCM) e a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) dos peixes, estão apresentados na Tabela 7. Não houve efeito ( $P > 0,05$ ) nos valores hematológicos com a substituição de soja crua nas rações.

A Tabela 8 apresenta a quantidade de proteína plasmática total (PPT), albumina (ALB), globulina (GLOB) e a relação albumina-globulina (A:G) dos peixes alimentados com as rações contendo SC. Houve efeito significativo apenas para a variável albumina.

A substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da soja crua não influenciou na quantidade de leucócitos totais (LEUC), trombócitos (TROMB), linfócitos (LF), monócitos (MN), basófilos (BAS), células imaturas (CI) e eosinófilos (EOS). Houve, porém, diferença estatística ( $P < 0,05$ ) apenas para o número de neutrófilo (NT), Tabela 9.

A avaliação macroscópica do fígado dos peixes aos 45 dias, revelou que a forma, cor, consistência e tamanho dos órgãos estavam normais para 0%, 15%, 25% e 35% SC (Figura 1). Aos 90 dias, os fígados dos animais submetidos aos diferentes tratamentos tinham aspecto amarelado, com bordos arredondados e consistência mais friável (aspecto gorduroso); porém, mais pronunciada esta característica no tratamento isento de SC, devido a quantidade de óleo presente na dieta. Os fígados dos peixes do tratamento com 35% SC também apresentaram menor tamanho e a cor mais amarelada que os demais tratamentos (Figura 2).

A análise histopatológica dos fígados revelou hepatócitos com vacuolizações no citoplasma e núcleo central, característicos de degeneração hidrópica. Aos 45 dias, nos tratamentos 0%, 25% e 35% de SC foi observado degeneração hidrópica intensa, e com o 15% SC ocorreu degeneração hidrópica moderada nos fígados dos peixes.

Havia outros com macro e/ou microgotículas citoplasmáticas e núcleo deslocado para a periferia, caracterizando degeneração gordurosa. Essas lesões não tinham distribuição lobular, estando difusa pelo parênquima e em diferentes graus de intensidade e também não apresentavam diferenças entre os grupos. Como todos os animais apresentaram o mesmo padrão de lesão de hepatócitos, incluindo o grupo controle, não pode-se atribuir ao tipo de dieta a causa da degeneração observada (Figura 3), entretanto, aos 90 dias nos tratamentos 0%, 25% e 35% de SC foi observado degeneração hidrópica moderada a intensa, degeneração gordurosa leve a moderada e colestase leve. Nos peixes do tratamento com 15% de SC foi observado degeneração hidrópica leve a moderada e colestase leve, sendo esses achados semelhantes aos fígados dos peixes do grupo controle (Figuras 4 e 5).

## **DISCUSSÃO**

Durante o período experimental, o consumo de alimento foi afetado pela substituição da soja crua nas rações. De acordo com Francis et al. (2001a), os antinutricionais presentes na soja crua, tais como, lectinas, ácido fítico,

saponinas, inibidores de protease e os alérgenos, podem influenciar a ingestão das rações.

Indicadores químicos (inibidor de tripsina, solubilidade proteica e a atividade ureática) e indicadores biológicos (ganho de peso, conversão alimentar, digestibilidade e sinais subclínicos) têm sido usados para determinar a presença dos antinutricionais nos alimentos e os seus efeitos nos animais (Lim e Akiyama, 1991).

A soja crua utilizada apresentou atividade ureática indicando a presença de fatores tóxicos; solubilidade proteica que retratou o seu subprocessamento e alto inibidor de tripsina que contribuiu para a sua toxicidade. Respostas semelhantes foram descritas para o pacu, *Piaractus mesopotamicus*, alimentados com dietas contendo soja crua (Stech et al., 2010). Diferentemente dos resultados encontrados neste estudo, no que se refere aos antinutricionais presentes na SC para a tilápia-do-nilo, a análise feita no farelo de soja revelou inibidor de tripsina de 1-5 mg/g, solubilidade proteica de 60-70% e atividade ureática inferior a 0,05 unidade de pH, considerados adequados para a maioria das espécies de peixes como, a carpa comum, *Cyprinus carpio* (Viola et al., 1983); bagre do canal, *Ictalurus punctatus* (Wilson e Poe, 1985); truta- arco-íris, *Oncorhynchus mykiss* (Olli e Krogdahl, 1994) e salmão do Atlântico, *Salmo salar* (Olli e Krogdahl, 1994; Olli et al., 1994a).

Neste estudo, o CDA da proteína bruta da soja crua foi de 68,71% considerado baixo se comparado a outros estudos (Pezzato et al., 2002 e Stech et al., 2010). Isso ocorreu provavelmente, devido a presença de fatores antinutricionais, como o inibidor de tripsina, o qual diminui a ação da principal enzima proteolítica presente no estômago, a tripsina. Explicações semelhantes foram apresentadas por Hepher (1988) sobre a baixa digestibilidade da fração proteica do farelo de soja, o qual relata que esta pode ter sido prejudicada pelo processamento inadequado, pela não destruição ou desativação total do inibidor de tripsina ou pelo excessivo aquecimento, o qual possibilita a formação de complexo proteína-carboidratos via “reação de Maillard”. Sgarbieri (1996) relatou ainda que mudanças na conformação das proteínas que sofreram desnaturação são as responsáveis pelo maior ataque de enzimas

proteolíticas, pois a conformação mais aberta da proteína aumenta o grau de digestibilidade.

Segundo Haard et al. (1996) e Arndt et al. (1999), para aumentar a digestibilidade da proteína da soja crua, há a necessidade do seu tratamento térmico, como relatado para salmonídeos. No que se refere a esse tipo de tratamento, Costa et al. (2006) relataram que os coeficientes de digestibilidade mais baixos foram obtidos com as sojas cruas e os mais altos com a soja tostada a 130°C; no entanto, temperaturas superiores a essa reduziram disponibilidade dos aminoácidos em rações para frangos de corte.

Em relação a digestibilidade aparente da soja crua para o pacu, Stech et al. (2010) encontraram 80,06% de CDA da proteína bruta, valor mais elevado comparado a média de 68,71% para a soja crua avaliado neste estudo.

Pezzato et al. (2002) avaliaram a digestibilidade aparente da proteína bruta do farelo de soja para a tilápia-do-nilo. Encontraram 91,56% de CDA da proteína bruta, destacando a maior digestibilidade do farelo de soja, por se tratar de produto, na qual é realizado o tratamento térmico. Entretanto, encontraram para o CDA da energia, média de 73% (sendo o resultado similar ao obtido neste estudo) e maior CDA para o extrato etéreo, média de 82,67%.

No que se refere ao desempenho produtivo dos peixes durante 90 dias, as dietas contendo soja crua influenciaram as variáveis ganho de peso, consumo aparente de ração e taxa de retenção proteica. Resultados semelhantes foram encontradas por Refstie et al. (1997), com o salmão do Atlântico, que apresentou menor GP e CR quando alimentado com dietas contendo farelo de soja, num período de 55 dias. Os autores observaram dificuldade em identificar os fatores que afetaram o desempenho do salmão; porém, sugeriram haver substância termorresistente no farelo de soja, capaz de alterar o processo digestório desses peixes. Igualmente, prejuízos no GP e no CR com a inclusão de soja crua em dietas foram descrito para várias espécies de peixe de clima temperado (Lovell, 1981; Balogun e Ologhobo, 1989; Shu e Wee, 1989; Olli et al., 1990 e Krogdahl et al., 1994).

Respostas positivas foram observadas por Toledo (1995), onde demonstrou que a inclusão de soja crua em rações, para alevinos de tambaqui (*Colossoma macropomum*), não provocaram alterações nos parâmetros de

desempenho de produção e sobrevivência dos peixes, mostrando a possibilidade de utilização da soja como principal concentrado proteico em dietas para essa espécie.

A soja crua afetou o consumo de ração, observando diminuição no CR na terceira semana de experimento para os peixes do tratamento contendo 35% SC. Os animais também apresentavam agressividade entre si, sendo este comportamento observado em todos os tratamentos, influenciando o consumo de ração. Duas a três semanas após, os peixes do tratamento 25% SC também apresentaram diminuição no consumo, estendendo até o fim do período experimental quando abrangeram também os peixes do tratamento 15% SC. O maior nível de inclusão de soja crua influenciou negativa e mais precocemente a ingestão de ração. Além dos fatores antinutricionais presentes nas dietas contendo SC, a agressividade entre os peixes, apresentada nos tratamentos com soja crua, pode ter influenciado o consumo de ração.

A sobrevivência não foi afetada pelos níveis de soja crua na ração, sendo que a mortalidade registrada, embora pequena, foi provavelmente devido a confrontos agonísticos entre os animais, sugeridos pelo comportamento dos peixes. Essa hipótese pode ser, ainda, reforçada pelos ferimentos e lesões na pele observados nos peixes mortos. Este tipo de comportamento agressivo também foi descrito (Medeiros et al., 2005) e, segundo estes, isso pode estar associado ao hábito territorialista da tilápia, que apresenta interações agressivas caracterizadas por ataques diretos de um indivíduo ao outro, resultando em confrontos nos quais há agressões físicas, ameaças, perseguições e fugas.

A influencia negativa da soja crua na conversão alimentar aparente e taxa de eficiência proteica, atribuídas ao inibidor de tripsina presente nas dietas, foram anteriormente descritos por Refstie et al. (1998) para o salmão do Atlântico e para o salmão “chinook” (*Oncorhynchus tshawytscha*) e truta arco-íris, por Bureau et al. (1998).

Avaliando-se de forma conjunta os resultados de desempenho produtivo, pode-se constatar que a soja crua causou menor ganho de peso e consumo aparente de ração, e baixa taxa de retenção proteica; porém, o

período de 90 dias pode não ter sido suficiente para refletir, de modo significativo, a mortalidade dos peixes.

Na presente pesquisa, em todos os tratamentos, os peixes apresentaram em suas carcaças, elevado conteúdo de extrato etéreo, que decresceu gradativamente nos animais arraçoados com dietas contendo níveis crescentes de soja crua, provavelmente pelo menor consumo aparente de ração. Porém, não foi observada diferença no teor de proteína bruta corporal. Diferente dos resultados apresentados neste trabalho, Tacon et al. (1983) observaram maior acúmulo de gordura corporal em peixes alimentados com soja crua integral em relação aos que ingeriram farelo de soja ou farinha de peixe, devido a maior quantidade de óleo presente nos grãos de soja crua integral.

O estudo dos componentes do sangue e suas funções tem sido importante ferramenta para o conhecimento das condições de equilíbrio orgânico normal e patológico. Por meio da hematologia é possível determinar a influência de condições nutricionais e ambientais que possam alterar a higidez dos peixes, colaborando no diagnóstico de condições adversas (Ranzani-Paiva e Silva Souza, 2004) e na compreensão da relação entre as características sanguíneas e a saúde dos peixes e sua associação com o ambiente (Tavares-Dias et al., 1999).

As características hematológicas dos peixes hípidos apresentam ampla variação em função de fatores internos e externos. Desta forma, para se utilizar estes parâmetros como instrumento de diagnósticos de possíveis patologias é preciso, inicialmente, conhecer os valores normais, considerando-se a amplitude de sua variação fisiológica e as características de cada espécie, em cada local (Ranzani-Paiva e Silva-Souza, 2004).

Nesta pesquisa, a substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da soja crua nas rações manteve o eritrograma dos peixes ao final do período experimental, dentro dos parâmetros normais para peixes sadios definidos por Tavares-Dias e Faustino (1998) para a espécie: 25,6-30,6 %; 6,6-8,5 g/dL e 19,2-28,9 g/dL para porcentagem de hematócrito, taxa de hemoglobina e concentração de hemoglobina corpuscular média, respectivamente. Em pesquisas realizadas sob as mesmas condições

laboratoriais e com a mesma espécie, ficaram definidas as faixas de valores normais entre  $1,82-1,98 \times 10^6/\mu\text{L}$ ; 26-29 %; 6,9-8,5 g/dL e 26,5-29,3 g/gL para número de eritrócitos, porcentagem de hematócrito, taxa de hemoglobina e concentração de hemoglobina corpuscular média, respectivamente (Barros et al., 2009).

Peres et al. (2003) obtiveram médias do eritrograma utilizando 45% de soja crua nas dietas: de  $2,65 \times 10^6/\mu\text{L}$ ;  $2,10 \times 10^6/\mu\text{L}$ ; 32,88 % e 8,08 g/dL para contagem de células totais, contagem do número de eritrócitos, porcentagem de hematócrito e taxa de hemoglobina, respectivamente, não diferindo significativamente entre os tratamentos; estes valores estão dentro da faixa de normalidade relatada para o bagre do canal (Grizzle e Rogers, 1976; Lim e Klesius, 1997, Barros et al., 2002).

Resultados diferentes foram encontrados por Carvalho et al. (1997), que avaliaram cultivares de soja crua na alimentação de pacu e encontraram porcentagens de hematócrito diminuindo aos 16 e 60 dias, em relação ao início do experimento.

Devido a observações diárias em todos os tratamentos, os peixes aparentavam estresse por causa de confrontos agonísticos, sugeridos pelo seu comportamento e pela característica da espécie. Notou-se que, apesar dos peixes de todos os tratamentos estarem estressados e 75% deles estarem recebendo rações com soja crua, isto não determinou alterações na eritropoiese, demonstrando que os peixes, mesmo sob condições adversas, continuaram a produzir células sanguíneas, não se registrando hemaglutinação dos eritrócitos, conforme esperado pela possível presença da hemaglutinina.

Embora tenham sido observados confrontos agonísticos, não houve diminuição do número de leucócitos e linfócitos, denominada leucopenia e linfocitopenia, respectivamente, que são efeitos do estresse descritos por vários autores (Barton e Iwana, 1991; Falcon et al., 2008; Signor, 2007). Apesar de não significativo, houve aumento do número de leucócitos e linfócitos dos peixes alimentados com 35% SC na dieta, provavelmente causado pelo fator antinutricional presente na dieta.

A imunidade inata, que corresponde a primeira linha de defesa, é composta por neutrófilos e macrófagos (Tizard, 2002). Aumento significativo no

número de neutrófilos foi observado em peixes alimentados com dietas contendo 35% SC, entretanto este não foi diferente dos peixes alimentados com dietas isentas de SC. A presença aumentada dessas células pode estar associada a possíveis ferimentos causados pelos confrontos agonísticos, que permitem a entrada de agentes patógenos e, por consequência, exigem a presença de maior número de neutrófilos para combater infecções. A queda do número de leucócitos e linfócitos, bem como o aumento no número de neutrófilos, é quadro característico de estresse. Resultados similares foram apresentados por Guimarães (2009) que obteve aumento significativo no número de neutrófilos após o estímulo pelo frio, enquanto a porcentagem de linfócitos foi reduzida, para a tilápia-do-nilo. A leucopenia, a queda na produção total de células brancas acompanhada de linfocitopenia e o aumento na produção de neutrófilos para a tilápia-do-nilo, após estímulo pelo frio e bactéria, também foi reportada por Falcon (2007), caracterizando, dessa forma, o estresse que esses animais sofreram. A caracterização e a identificação deste parâmetro são importantes na avaliação das alterações do estado fisiológico dos peixes (Ranzani-Paiva et al, 2004).

Segundo Thomas (2000), o comprometimento da resistência orgânica em peixes sob condições de estresse tem sido também avaliado por meio da concentração de proteína plasmática. A proteína plasmática total refere-se à fração albumina e globulina presente no plasma ou soro sanguíneo. Estas duas classes de proteína do soro são produzidas no fígado, sendo a primeira, a fração mais abundante e responsável pelo transporte de nutrientes e manutenção do equilíbrio osmótico do sangue, enquanto a fração globulina está envolvida nos mecanismos de defesa do animal. Embora não de modo significativo, houve tendência de diminuição da relação ALB:GLOB com a maior substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da soja crua. Isto pode ser indício de possível aumento de imunoglobulinas, as quais estão associadas ao sistema imune. Em monogástricos, a restrição dietética de proteína pode causar hipoproteïnemia e hipoalbumineia, mas as concentrações de globulina normalmente não sofrem alterações. Alterações significativas apresentadas nos valores de ALB podem refletir ainda possível condição de estresse dos animais.

De acordo com Rotta (2003), o órgão que metaboliza e sintetiza boa parte das proteínas corpóreas e todas as proteínas sanguíneas, é o fígado, que nos teleósteos possui considerável volume em relação ao corpo. Este é um órgão multifuncional responsável pelo processamento e depósito de metabólitos importantes para a sobrevivência desses animais. Em peixes que se alimentam de ração, sua cor é mais clara do que a dos peixes, da mesma espécie, que se encontram em habitat natural. Na tilápia-do-nilo, apresenta-se como órgão compacto que se combina com o pâncreas formando o hepatopâncreas, sendo que em outras espécies se encontram totalmente separados (Rotta, 2003).

Aos 45 dias, os peixes dos diferentes tratamentos apresentaram degeneração hidrópica leve, moderada e intensa. Neste tipo de degeneração celular reversível há o acúmulo de água no meio intracelular, consequências de desequilíbrios no controle do gradiente osmótico, no nível da membrana citoplasmática e nos mecanismos de absorção, eliminação de água e eletrólitos intracelulares. A degeneração hidrópica ocorre nos casos de excesso de cortisol (Miranda e Santos, 2008). Este resultado foi confirmado pelas observações diárias, na qual os peixes de todos os tratamentos aparentavam estresse pelos confrontos agonísticos.

Aos 90 dias, os peixes dos diferentes tratamentos apresentaram degeneração hidrópica de leve a intensa, degeneração gordurosa leve a moderada e colestase leve. Na degeneração gordurosa ou esteatose, ocorre o acúmulo citoplasmático reversível de gordura sob a forma de triglicerídeos, em quantidade maior que a normal ou em células que normalmente não a contêm; a degeneração gordurosa também é um tipo de lesão celular reversível, como na hidrópica. Na colestase ocorre a redução ou supressão do fluxo de bile devido a disfunção do hepatócito ou obstrução das vias biliares intra- ou extra-hepáticas e caracteriza-se pelo acúmulo de bile nos canalículos biliares e no interior de hepatócitos, que podem apresentar-se tumefeitos e espumosos (Camargo e Oliveira, 2007). A degeneração gordurosa apresentada nesta pesquisa foi secundária a hidrópica, uma vez que o estímulo persistiu, confirmando estes resultados pelo estado gorduroso com que os fígados se apresentaram nas análises macroscópicas. Seguida da degeneração

gordurosa, foi observada a colestase. Resultados similares foram apresentados por Hipolito et al. (2001) em fígados de rãs-touro (*Rana catesbeiana*) alimentadas com rações contendo aflatoxinas.

A degeneração gordurosa foi mais evidente no tratamento sem SC, indicando que houve degeneração pelo excesso de gordura na dieta; porém, como esta foi observada em todos os grupos, não se pode inferir que esta seja a única causa.

Entretanto, vale ressaltar que o período de 90 dias de alimentação pode também ter sido decisivo para as respostas descritas nesse estudo. Num período prolongado, como seria em condições de cultivo, a utilização da soja crua em rações para a tilápia-do-nilo poderia promover respostas diferentes, o que sugere a indicação de novas pesquisas.

A soja crua prejudicou o desempenho produtivo da tilápia-do-nilo, porém, no período de 90 dias, não determinou alterações no eritrograma e nem histológicas de fígado.

## REFERÊNCIAS

ARNDT, R. E. et al. Effects of heat treatment and substitution level on palatability and nutritional value of soy defatted flour in feeds for Coho Salmon, *Oncorhynchus kisutch*. **Aquaculture**, Logan, v. 180, p. 129-145, 1999.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST. **Official methods of analysis**. Gaithersburg, MD, 2000.

BALOGUN, E.; OLOGHOBO, A. D. Growth performance and nutrient utilization of fingerling *Clarias gariepinus* fed raw and cooked soybean diets. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 79, p. 119-126, 1989.

BARROS, M. M. et al. Hematological response and growth performance of Nile tilapia fed diets containing folic acid. **Aquaculture Research**, v. 40, p. 895-903, 2009.

BARROS, M. M.; LIM, C.; KLESISUS, P. H. Effect of soybean meal replacement by cottonseed meal and iron supplementation on growth, immune response and resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsiella ictaluri* challenge. **Aquaculture**, v. 207, p. 263-279, 2002.

BARTON, B. A.; IWAMA, G. K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. **Annual Review of Fish Diseases**, v. 1, p. 3-26, 1991.

BOYD, C. E. **Water quality management for ponds fish culture**. Elsevier: New York, 1990. 490 p. (Development in aquaculture and fisheries science series).

BREMER NETO, H. et al. The spectrophotometric method on the routine of 1,5-diphenylcarbazide was adjusted on chromium determination in feces, after its utilization as a biological marker as chromium (III) oxide. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 25, n. 3, p. 691-697, 2005.

BUREAU, D. P.; HARRIS, A. M.; CHO, C. Y. The effects of purified alcohol extracts from soy products on feed intake and growth of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 161, p. 27-43, 1998.

BUTOLO, J. E. Qualidade de ingredientes na alimentação animal. In: BUTOLO, J. E. **Ingredientes de origem vegetal**. Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2002. p. 93-238.

CAMARGO, J. L. V.; OLIVEIRA, D. E. **Patologia geral**: abordagem multidisciplinar. Rio Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 178 p.

CARVALHO, M. R. B.; STECH, M. R. Avaliação da composição centesimal e das atividades dos fatores antinutricionais em diferentes cultivares de soja. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 24, n. especial, p. 139-145, 1997.

CHO, C.Y. La energia en la nutrición de los peces. In: ESPINOSA DE LOS MONTEROS, J.; LABARTA, U. (Eds.). **Nutrición en acuicultura II**. Madrid: Acribia S.A, 1987. p. 197-237.

COSTA, F. G. P. et al. Desempenho de pintos de corte alimentados com rações contendo soja integral extrusada em diferentes temperaturas, durante as fases pré-inicial e inicial. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 7, n. 1, p. 1-10, 2006.

COSTA, M. M. et al. Ganho genético por diferentes critérios de seleção em população segregantes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 39, n. 11, p. 1095-1102, 2004.

FALCON, D. R. et al. Differential leukocyte counts of Nile tilapia fed diets supplemented with vitamin C and lipid submitted to low temperature stress. **Ciencia Animal Brasileira**, v. 9, n. 3, p. 543-551, 2008.

FALCON, D. R.  **$\beta$ -glucano e vitamina C no desempenho produtivo e parâmetros fisiopatológicos em juvenil de tilápia do Nilo: nível de suplementação e tempo de administração**. 2007. 145p. Tese (Doutorado em Zootecnia)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

FORSTER, I. A note on the method of calculating digestibility coefficients of nutrients provided by single ingredients to feeds of aquatic animals. **Aquaculture Nutrition**, v. 5, p. 143-145, 1999.

FRANCIS, G.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish: review. **Aquaculture**, v. 199, p. 197-227, 2001a.

GRIZZLE, J. M.; ROGERS, W. A. Anatomy and histology of channel catfish. Auburn: Auburn University Agriculture, Experimental Station, 1976.

GUIMARÃES, I. G. Vitamina A em dietas para a tilápia do Nilo. 2009. 89 p. Tese (Doutorado em Zootecnia)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2009.

HAARD, N. F. et al. Estimation of protein digestibility: IV. Digestive proteinases from the pyloric caeca of Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) fed diets containing soybean meal. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 115B, p. 533-540, 1996.

HEPHER, B. **Nutrition of pond fishes**. Cambridge: Cambridge University Press, 1988. 387 p.

HIPOLITO, M.; MARTINS, A. M. C. R. P. F.; BACH, E. E. Aspectos bioquímicos em fígado de rãs-touro (*rana catesbeiana* shaw, 1802) sadias e doentes. **Arquivos Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, n. 2, p. 147-153, 2004.

JAIN, N. C. **Schalm's veterinary haematology**. 4th ed. Philadelphia: Lea and Febiger, 1986. 1344 p.

JOHNSON, R. A.; WICHERN, D. W. Applied multivariate statistical analyses. 5th ed. New Jersey: Prentice-Hall, 2002.

JUNQUEIRA, R. G.; SGARBIERI, V. C. Isolation and general properties of lectins from the bean (*Phaseolus vulgaris* L. var.rosinha G<sub>2</sub>). **Journal of Food Biochemistry**, p. 165-179, 1981.

KAKADE, M. L.; SIMONS, N.; LIENER, I. E. An evaluation of natural vs. Synthetic substrates for measuring the antitryptic activity of soybean samples. **Cereal Chemistry**, v. 46, p. 518-526, 1969.

KROGDAHL, A.; LEA, T. B., OLLI, J. J. Soybean proteinase inhibitors affect intestinal trypsin activities and amino acid digestibilities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 107, p. 215-219, 1994.

LIM, C.; AKIYAMA, D. M. Full-fat soybean meal utilization by fish. In: AKIYAMA, D. M.; TAN, R. K. H. (Eds.). **Aquaculture feed processing and nutrition workshop**. Thailand and Indonesia, 1991. p. 188-198.

LIM, C.; KLESIUS, P. H. Responses of channel catfish (*Ictaluri punctatus*) fed iron-deficient and replete diets to *Edwardsiella ictaluri* challenge. **Aquaculture**, v. 157, p. 83-93, 1997.

LOVEII, R.M. Aquaculture and soybean. **Aquaculture Magazine**, Dec. 1985.

LOVEII, R. M. How important is fish feed and nutrition? **Community Fish Aquaculture News**, v. 7, n. 4, p. 36-37, 1981.

MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Nutrients and antiquality factors in different morphological parts of the *Moringa oleifera* tree. **Journal Agriculture Science**, Cambridge, v. 128, p. 311-322, 1997.

MEDEIROS, A. P. T. et al. Encontros agonísticos e territorialidade entre machos de híbrido vermelho de tilápia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) X *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852) e de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (Cichlidae). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Juiz de Fora, v. 7, n. 2, p. 273-284, 2005.

MIRANDA, P. C.; SANTOS, P. C. G. dos. Degeneração hidrópica. **Revista Científica Eletrônica da Medicina Veterinária**, Garça, n. 10, 2008.

OLLI, J. J.; HJELMELAND, K.; KROGDAHL, A. Soybean trypsin inhibitors in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*, L): effects on nutrient digestibilities and trypsin in pyloric caeca homogenate and intestinal content. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 109, n. 4, p. 923-928, 1994a.

OLLI, J. J.; KROGDAHL, A. Nutritive value of four soybean products in diets for rainbow trout (*Onchorynchus mykiss* Walbaum) reared in freshwater. **Acta Agriculturae Scandinavica Section A: animal science**, v. 44, p. 185-192, 1994.

OLLI, J. J.; KROGDAHL, A.; BERG-LEA, T. Effects of soybean trypsin inhibitor activity on nutrient digestibility in salmonids fed practical diets containing various soy bean meals. In: The current status of fish nutrition in aquaculture. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FEEDING AND NUTRITION IN FISH, 3., 1989, Toba. **Proceedings...** Toba, 1990. p. 263-271.

PERES, H.; LIM, C.; KLESIUS, P. H. Nutritional value of heat-treated soybean meal for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**, v. 225, p. 67-82, 2003.

PEZZATO, L.E. et al. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 31, n. 4, p. 3361-3370, 2002.

PEZZATO, L.E. et al. Nutrição de peixes. In: CYRINO, J. E. P. et al. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: Aquabil, 2004. v. 1, p. 75-170.

RANZANI-PAIVA, M. J.; SILVA-SOUZA, A. T. Hematologia de peixes brasileiros. In: RANZANI-PAIVA, M. J.; TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. A. P. (Eds.). **Sanidade de organismos aquáticos**. São Paulo: Varela, 2004. p. 89-120.

REFSTIE, S.; HELLAND, S. J.; STOREBAKKEN, T. Adaptation to soybean meal in diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**, v. 153, p. 263-272, 1997.

REFSTIE, S.; STOREBAKKEN, T.; ROEM, A. J. Feed consumption and conversion in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with fish meal, extracted soybean meal or soybean meal with reduced content of oligosaccharides, trypsin inhibitors, lectins and soya antigens. **Aquaculture**, v. 162, p. 301-312, 1998.

ROSENFELD, G. Corante pancrômico para a hematologia e citologia clínica: nova combinação dos componentes do May-Grünwald e do Giemsa num só corante de emprego rápido. **Memórias do Instituto Butantan**, São Paulo, v. 20, p. 329-334, 1947.

ROSTAGNO, H.S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**. UFV. Viçosa, 2005, p.186.

ROTTA, M. A. **Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2003. 48 p. (Documentos, 53).

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos**: propriedades, degradações, modificações. São Paulo: Varela, 1996. 520 p.

SHU, S. W.; WEE, K. L. The nutritive value of boiled full-fat soybean in pellet feed for Nile tilapia. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 1, n. 81, p. 303-314, 1989.

SIGNOR, A. **Desempenho produtivo e resistência ao estresse pelo frio da tilápia do Nilo alimentada com dietas suplementadas com levedura autolizada e zinco**. 2007. 113 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura)-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Centro de Aquicultura Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

STECH, M. R.; CARNEIRO, D. J.; CARVALHO, M. R. B. Fatores antinutricionais e coeficientes de digestibilidade aparente da proteína de produtos de soja para o pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Acta Scientiarum: animal sciences**, Maringá, v. 32, n. 3, p. 255-262, 2010.

TACON, A. G. J. et al. Studies on the utilization of full-fat soybean and solvent extracted soybean meal in a complete diet for rainbow trout. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, v. 49, p. 1437-1443, 1983.

TAVARES-DIAS, M. et al. Características hematológicas de teleósteos brasileiros. II: parâmetros sanguíneos do *Piaractus mesopotâmicus* Holmberg (Osteichthyes, Characidae) em policultivo intenso. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 16, n. 2, p. 423-431, 1999.

TAVARES-DIAS, M.; FAUSTINO, C. D. Parâmetros hematológicos da tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* (Cichlidae) em cultivo extensivo. **Ars Veterinária**, Jaboticabal, v. 14, p. 254-263, 1998.

THOMAS, J. S. Overview of plasma protein. In: FELDMAN, B.F. et al. **Schalm's veterinary hematology**. Philadelphia: Lippincott, 2000.

TIZARD, I. R. **Imunologia veterinária**: uma introdução. 6. ed. São Paulo: Roca, 2002. 120 p.

TOLEDO, M. P. A. **Efeito do tratamento térmico da soja integral utilizada em dietas para crescimento de alevinos de tambaqui (*Colossoma macropomum*)**. 1995. 71 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura)-Faculdade de Ciência Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1995.

VIOLA, S.; MOKADY, S.; ARIELI, Y. Effects of soybean processing methods on the growth of carp (*Cyprinus carpio*). **Aquaculture**, v. 32, p. 27-38, 1983.

WILSON, R. P.; POE, W. E. Effects of feeding soybean meal with varying trypsin inhibitor activities on growth of fingerling channel catfish. **Aquaculture**, v. 46, p. 19-25, 1985.

WINTROBE, M. M. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. **Folia Haematologica Leipzig**, v. 51, p. 32-49, 1934.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. 4th ed. New Jersey: Prentice Hall, 1999. 663 p.

# **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1. Composição químico-bromatológica e o percentual dos ingredientes da dieta referência e da dieta teste

Ingredientes (%)	Dieta Referência	Dieta Teste
Farelo de soja	56,31	-
Farinha de peixe	2,00	-
Fubá de milho	15,94	-
Farelo de trigo	13,47	-
Quirera de arroz	8,00	-
DL - Metionina	0,23	-
Treonina	0,28	-
Óleo de soja	0,30	-
Fosfato bicálcico	2,40	-
Calcário	0,40	-
Sal comum	0,10	-
Vitamina C	0,04	-
Suplemento vitamínico <sup>a</sup>	3,00	-
Suplemento mineral <sup>a</sup>	1,10	-
BHT <sup>b</sup>	0,02	-
Óxido de crômio (Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	0,10	-
Dieta Referência (%)	-	70,00
Ingrediente Teste (%)	-	30,00
<b>TOTAL</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>

**Composição Calculada**

Energia Digestível (Kcal/kg)	3056,90	3056,90
Proteína Bruta (%)	30,67	30,67
Proteína Digestível (%)	28,09	28,09
Extrato Etéreo (%)	2,53	2,53
Fibra Bruta (%)	5,59	5,59

<sup>a</sup>Suplemento mineral e vitamínico - composição por quilo de produto: Vit. A=1.200.000 UI; vit. D3=200.000 UI; vit. E=12.000 mg; vit. K3=2.400 mg; vit. B1=4.800 mg; vit. B2=4.800 mg; vit. B6=4.000 mg; vit. B12=4.800 mg; ác. fólico =1.200 mg; pantotenato de cálcio =12.000 mg; vit. C=48.000 mg; biotina =48 mg; colina =65.000 mg; ácido nicotínico =24.000 mg; Fe=10.000 mg; Cu=600 mg; Mn=4.000 mg; Zn=6.000 mg; I=20 mg; Co=2 mg e Se=20 mg;

<sup>b</sup>Antioxidante Butil hidroxitolueno.

Tabela 2. Composição químico-bromatológica e o percentual dos ingredientes das dietas experimentais

Ingredientes (%)	Tratamento			
	Níveis de substituição da soja crua (%)			
	0% SC <sup>1</sup>	15% SC <sup>2</sup>	25% SC <sup>3</sup>	35% SC <sup>4</sup>
Farelo de trigo	13,50	13,18	8,50	3,00
Farinha de carne e osso 45	10,50	10,50	10,50	10,50
Farelo de soja	61,10	53,00	48,00	42,00
Soja crua	0,00	10,62	17,70	24,78
Fubá de milho	2,00	6,00	11,40	18,92
Amido de milho	2,00	0,00	0,00	0,00
Óleo de soja	10,23	6,00	3,15	0,00
Sal comum	0,10	0,10	0,10	0,10
DL - Metionina	0,22	0,25	0,30	0,35
Vitamina C	0,08	0,08	0,08	0,08
Suplemento vitamínico <sup>a</sup>	0,15	0,15	0,15	0,15
Suplemento mineral <sup>b</sup>	0,10	0,10	0,10	0,10
BHT <sup>c</sup>	0,02	0,02	0,02	0,02
<b>TOTAL</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
<b>Composição Calculada</b>				
Energia Bruta (Kcal/kg)	4053	4090	4114	4120
Energia Digestível (Kcal/kg)	3583	3495	3425	3337
Proteína Bruta (%)	30,87	31,68	31,98	31,91
Proteína Digestível (%)	27,67	27,39	27,08	26,44
Extrato Etéreo (%)	12,86	11,21	10,09	8,69
Fibra Bruta (%)	4,10	4,77	4,90	4,94

<sup>a</sup>Suplemento vitamínico, níveis de garantia por kg da dieta: vitamina A, 16060 UI; vitamina D3, 4510 UI; vitamina E, 250 UI; vitamina K, 30 mg; vitamina B1, 32 mg; vitamina B2, 32 mg; pantotenato de cálcio, 80 mg; niacina, 170 mg; biotina, 10 mg; ácido fólico, 10 mg; vitamina B12, 32 mg; vitamina B6, 32 mg.

<sup>b</sup>Suplemento mineral, níveis de garantia por kg da dieta: Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>, 0,7 mg; MnO, 50 mg; ZnO, 150 mg; FeSO<sub>4</sub>, 150 mg; CuSO<sub>4</sub>, 20 mg; CoSO<sub>4</sub>, 0,5 mg; I<sub>2</sub>Ca, 1 mg. <sup>c</sup>Antioxidante Butil hidroxitolueno.

<sup>1</sup>0% de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da soja crua; <sup>2</sup>15% de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da soja crua; <sup>3</sup>25% de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da soja crua; <sup>4</sup>35% de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da soja crua.

Tabela 3. Análise químico-bromatológica da soja crua e coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca, energia bruta, proteína bruta, extrato etéreo e cinzas da soja crua

<b>Soja Crua</b>		
<b>Parâmetros</b>	<b>Valores</b>	<b>CDA<sup>1</sup> (%)</b>
MS <sup>2</sup> (%)	86,83	80,17
EB <sup>3</sup> (kcal/kg)	6025	72,05
PB <sup>4</sup> (%)	36,04	68,71
FB <sup>5</sup> (%)	9,65	
EE <sup>6</sup> (%)	24,59	70,17
Cinzas (%)	4,88	65,16

<sup>1</sup>Coeficiente de digestibilidade aparente. <sup>2</sup>Matéria seca; <sup>3</sup>energia bruta; <sup>4</sup>proteína bruta; <sup>5</sup>fibra bruta; <sup>6</sup>extrato etéreo.

Tabela 4. Análise dos fatores antinutricionais e valores digestíveis da soja crua

<b>Soja Crua</b>	
<b>Parâmetros</b>	<b>Valores</b>
Atividade Ureática (pH)	2,21
Solubilidade Proteica (%)	86,57
Inibidor de Tripsina (UTI/mg)	257
ED <sup>1</sup> (kcal/kg)	4341
PD <sup>2</sup> (%)	24,76

<sup>1</sup>Energia digestível; <sup>2</sup>proteína digestível.

Tabela 5. Médias e desvio padrão de ganho de peso (GP), consumo aparente ração (CR), conversão alimentar aparente (CAA), taxa de eficiência proteica (TEP), taxa de retenção proteica (TRP) e sobrevivência (SOB) de juvenis de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas contendo níveis 0; 15; 25 e 35% de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da soja crua

Variáveis	Tratamento				Valor de P
	0% SC	15% SC	25% SC	35% SC	
GP (g)	522,30 ± 41,25 <sup>a</sup>	381,17 ± 62,51 <sup>b</sup>	360,94 ± 65,46 <sup>b</sup>	358,62 ± 31,62 <sup>b</sup>	P < 0,05
CR (g)	829,59 ± 51,28 <sup>a</sup>	739,53 ± 20,14 <sup>b</sup>	730,99 ± 29,60 <sup>b</sup>	704,99 ± 30,75 <sup>b</sup>	P < 0,05
CAA	1,60 ± 0,15	2,00 ± 0,40	2,10 ± 0,46	1,98 ± 0,16	P > 0,05
TEP (%)	1,75 ± 0,17	1,45 ± 0,25	1,35 ± 0,28	1,41 ± 0,12	P > 0,05
TRP (%)	24,79 ± 0,57 <sup>a</sup>	20,92 ± 0,65 <sup>b</sup>	18,16 ± 0,71 <sup>c</sup>	19,12 ± 0,66 <sup>c</sup>	P < 0,05
SOB (%)	100,00 ± 0,00	92,00 ± 16,00	100,00 ± 00,00	100,00 ± 0,00	P > 0,05

Duas médias seguidas de uma mesma letra minúscula, não diferem entre si (P > 0,05) pelo teste de Tukey.

Tabela 6. Média e desvio-padrão da composição química da carcaça da tilápia-do-nilo alimentadas com dietas contendo níveis 0; 15; 25 e 35% de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da soja crua

%	Carcaça (inicial)	Tratamento				Sig**
		0% SC	15% SC	25% SC	35% SC	
Umidade	74,02	70,35 ± 1,00 <sup>b</sup>	71,27 ± 2,29 <sup>b</sup>	72,12 ± 1,13 <sup>ab</sup>	73,62 ± 0,54 <sup>a</sup>	P < 0,05
Protéina Bruta	15,74	15,77 ± 0,40 <sup>a</sup>	17,50 ± 2,55 <sup>a</sup>	15,85 ± 0,53 <sup>a</sup>	15,64 ± 0,62 <sup>a</sup>	P < 0,05
Extrato Etéreo	4,78	10,49 ± 1,14 <sup>a</sup>	8,61 ± 0,72 <sup>b</sup>	8,56 ± 0,99 <sup>b</sup>	7,06 ± 0,29 <sup>c</sup>	P < 0,05
Cinzas	3,99	3,56 ± 0,27 <sup>a</sup>	2,81 ± 0,69 <sup>b</sup>	3,81 ± 0,31 <sup>a</sup>	4,03 ± 0,26 <sup>a</sup>	P < 0,05

Duas médias seguidas de uma mesma letra minúscula, não diferem entre si (P > 0,05) pelo teste de Tukey; Resultados expressos na matéria original.

\*\*Nível de significância.

Tabela 7. Média e desvio padrão do número de eritrócito (Erit), porcentagem de hematócrito (Htc), taxa de hemoglobina (Hb), volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) de juvenis de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas contendo níveis 0; 15; 25 e 35% de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da soja crua

Variáveis	Tratamento				Valor de P
	0% SC	15% SC	25% SC	35% SC	
Erit ( $10^6/\mu\text{L}$ )	2,02 ± 0,17	2,08 ± 0,23	2,10 ± 0,32	1,89 ± 0,30	P > 0,05
Htc (%)	26,57 ± 4,08	26,25 ± 5,06	27,81 ± 3,86	24,19 ± 2,87	P > 0,05
Hb (dL)	6,51 ± 1,17	6,39 ± 0,89	7,15 ± 0,76	6,30 ± 0,98	P > 0,05
VCM (fL)	133,46 ± 21,20	126,29 ± 18,82	135,22 ± 28,27	129,70 ± 16,17	P > 0,05
CHCM (%)	24,82 ± 1,48	24,58 ± 1,82	25,95 ± 2,98	26,01 ± 2,31	P > 0,05

Não diferiram entre si pelo teste de Tukey (P > 0,05).

Tabela 8. Média e desvio padrão de proteína plasmática (PPT), albumina (ALB), globulina (GLOB) e relação albumina/globulina (ALB:GLOB) de juvenis de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas contendo níveis 0; 15; 25 e 35% de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da soja crua

Variáveis	Tratamento				Valor de P
	0% SC	15% SC	25% SC	35% SC	
PPT (mg/dL)	3,06 ± 0,50	3,09 ± 0,60	3,07 ± 0,53	2,69 ± 0,47	P > 0,05
ALB (mg/dL)	1,16 ± 0,30 <sup>ab</sup>	1,40 ± 0,20 <sup>a</sup>	1,03 ± 0,20 <sup>b</sup>	1,00 ± 0,26 <sup>b</sup>	P < 0,05
GLOB (mg/dL)	2,05 ± 0,70	2,05 ± 0,92	2,43 ± 0,65	1,81 ± 0,49	P > 0,05
ALB:GLOB	0,77 (0,37 - 0,88)	0,79 (0,58 - 1,91)	0,51 (0,36 - 0,71)	0,59 (0,35 - 0,96)	P > 0,05

Duas médias seguidas de uma mesma letra minúscula, não diferem entre si (P > 0,05) pelo teste de Tukey.

Tabela 9. Mediana e valores mínimos e máximos de número absoluto leucócitos (LEUC), trombócitos (TROMB), linfócitos (LF), neutrófilos (NT), monócitos (MN), basófilos (BAS), células imaturas (CI) e eosinófilos (EOS) de juvenis de tilápia-do-nilo alimentadas com dietas contendo níveis 0; 15; 25 e 35% de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da soja crua

Variáveis	Tratamento					Valor de P
	0% SC	15% SC	25% SC	35% SC		
LEUC (10 <sup>4</sup> céls/μL)	9,50 (6,29 - 14,80)	6,95 (3,23 - 17,25)	6,04 (2,68 - 12,27)	11,64 (2,51 - 14,15)		P > 0,05
TROMB (10 <sup>4</sup> céls/μL)	6,12 (1,14 - 7,84)	4,58 (1,38 - 12,14)	4,27 (1,66 - 7,54)	7,29 (0,56 - 11,70)		P > 0,05
LF (10 <sup>4</sup> céls/μL)	8,93 (5,60 - 14,57)	6,53 (2,71 - 16,56)	5,56 (2,53 - 11,53)	10,66 (0,21 - 13,16)		P > 0,05
NT (10 <sup>4</sup> céls/μL)	0,27 <sup>ab</sup> (0,00 - 0,36)	0,19 <sup>b</sup> (0,08 - 0,60)	0,22 <sup>b</sup> (0,05 - 0,46)	0,66 <sup>a</sup> (0,11 - 2,08)		P < 0,05
MN (10 <sup>4</sup> céls/μL)	0,17 (0,04 - 0,41)	0,06 (0,00 - 0,22)	0,11 (0,05 - 0,23)	0,23 (0,00 - 0,42)		P > 0,05
BAS (10 <sup>4</sup> céls/μL)	0,00 (0,00 - 0,10)	0,00 (0,00 - 0,14)	0 (0,00 - 0,11)	0,01 (0,00 - 0,42)		P > 0,05
CI (10 <sup>4</sup> céls/μL)	0,01 (0,00 - 0,31)	0,00 (0,00 - 0,28)	0,02 (0,00 - 0,40)	0,00 (0,00 - 0,56)		P > 0,05
EOS (10 <sup>4</sup> céls/μL)	0,00 (0,00 - 0,09)	0,00 (0,00 - 0,08)	0,00 (0,00 - 0,30)	0,00 (0,00 - 0,14)		P > 0,05

Duas medianas seguidas de uma mesma letra minúscula, não diferem entre si (P > 0,05) pelo teste de Dunn.

# **LISTA DE FIGURAS**



Figura 1. Análise macroscópica do fígado de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) aos 45 dias. 0% SC.

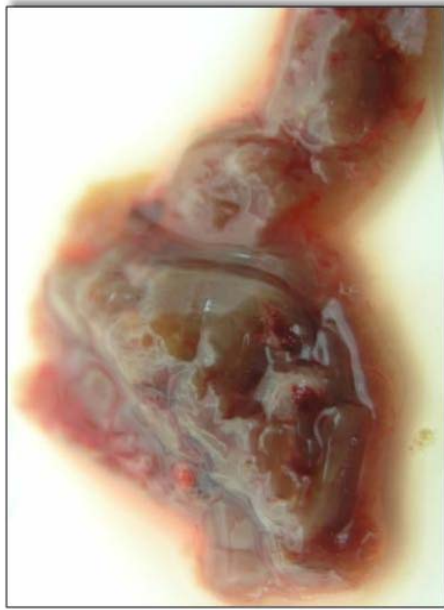


Figura 2. Análise macroscópica do fígado de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) aos 90 dias. 35% de SC.

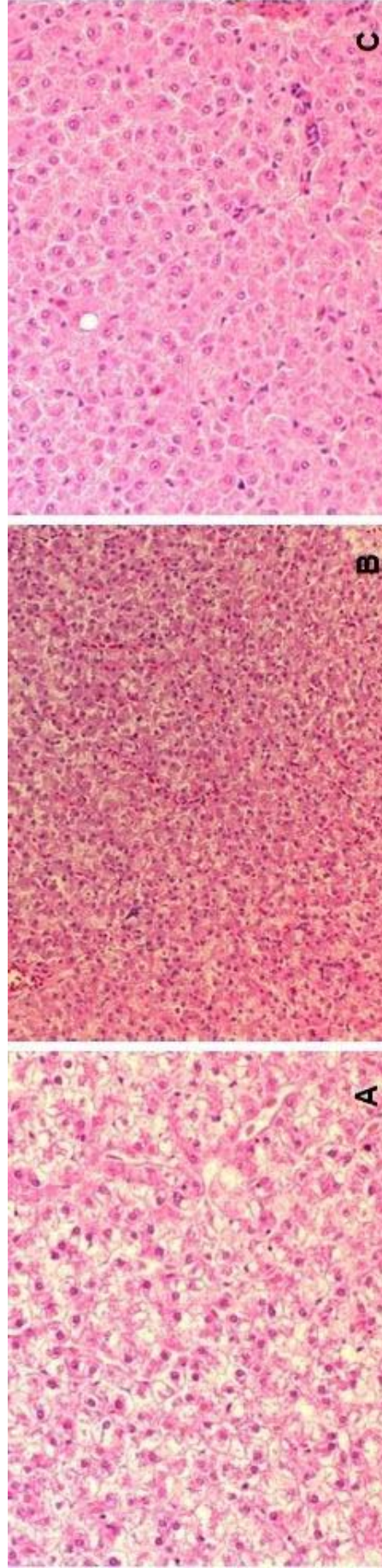


Figura 3. Fotomicrografias do fígado de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) aos 45 dias. **A**- 0% SC, H/E, 40X, degeneração hidrópica leve. **B**- 25% SC, H/E, 20X, degeneração hidrópica moderada; **C**- 35% SC, H/E, 40X, degeneração hidrópica intensa.

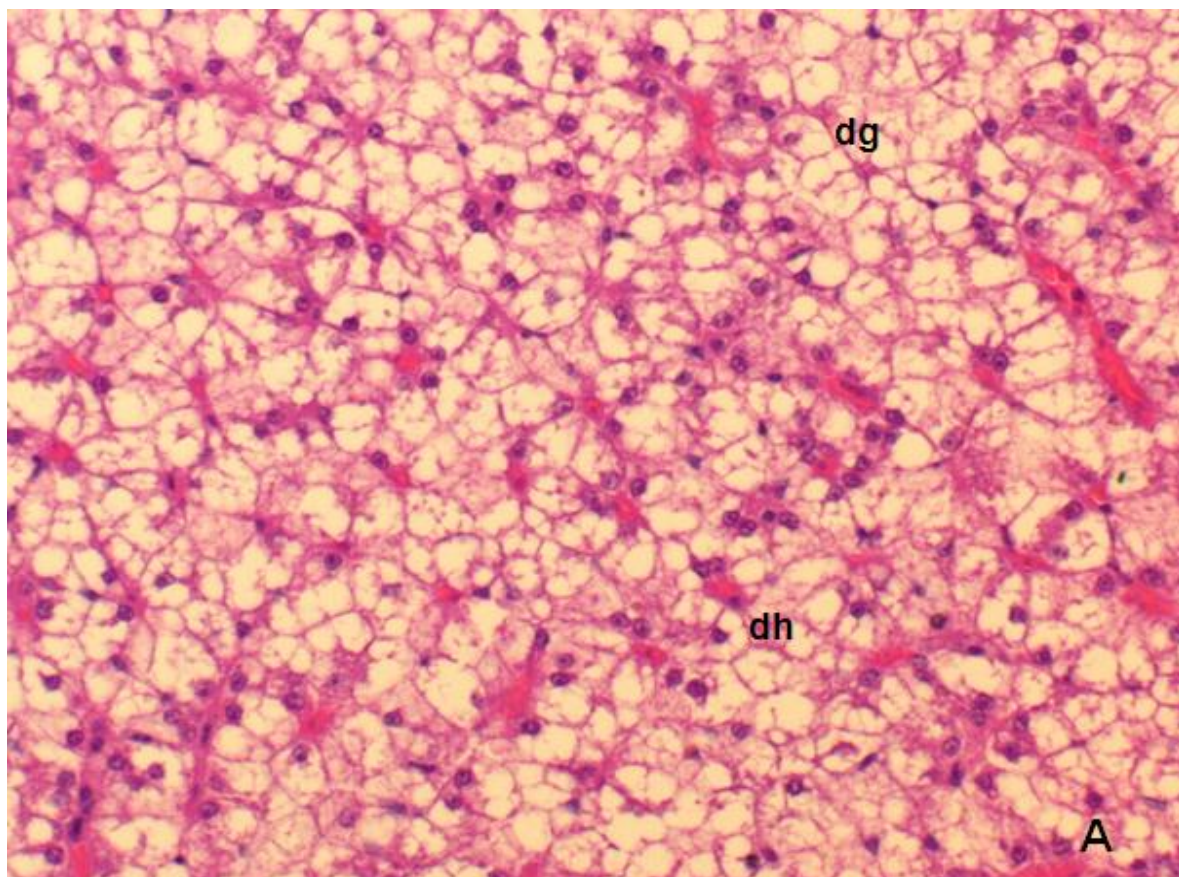


Figura 4. Fotomicrografia do fígado de tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus*) aos 90 dias. A- 0% SC, H/E, 40X, degeneração hidrópica intensa (dh) e degeneração gordurosa (dg).

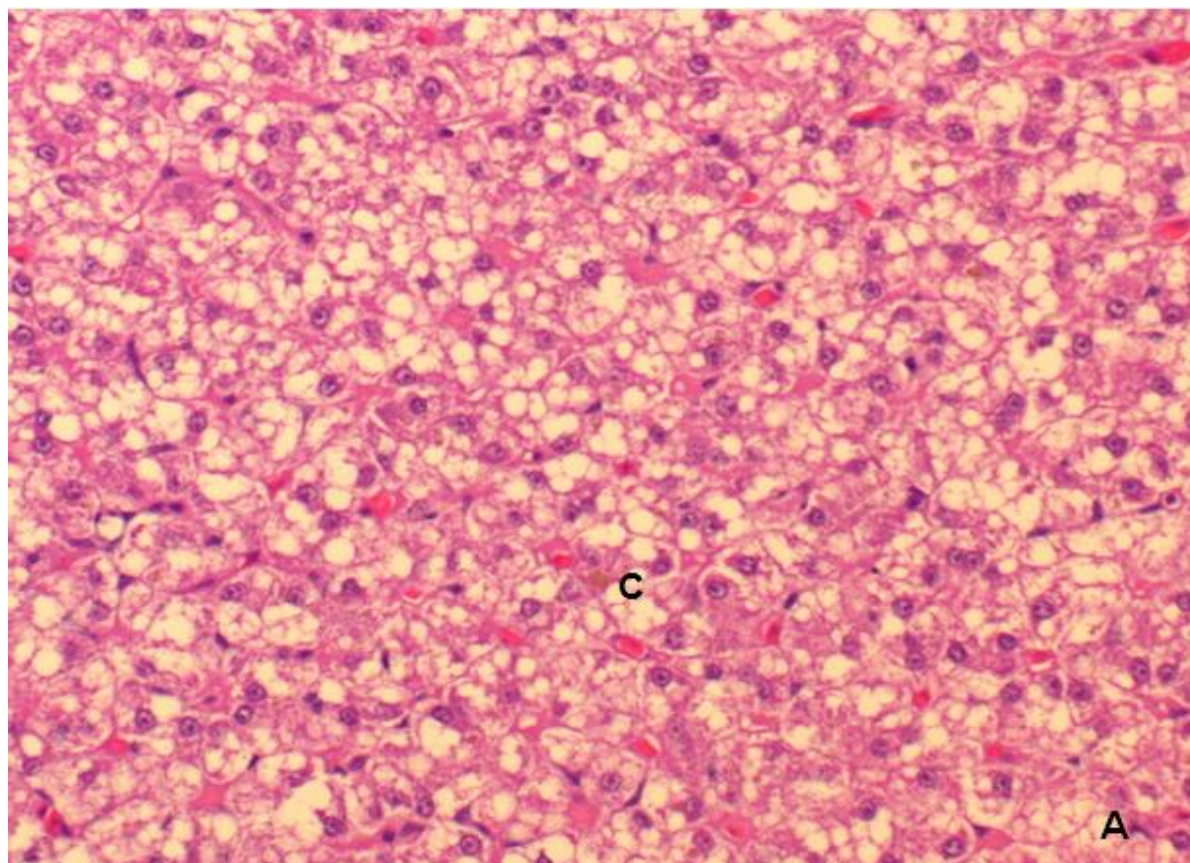


Figura 5. Fotomicrografia do fígado de tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus*) aos 90 dias. A- 0% SC, H/E, 40X, degeneração gordurosa moderada e colestase leve (c).

## **IMPLICAÇÕES**

A ausência de sinais clínicos em peixes alimentados com níveis crescentes de soja crua, possivelmente, deve-se ao período de experimental (90 dias). Provavelmente, estudos com períodos experimentais mais longos possam evidenciar alterações mais pronunciadas em relação à digestibilidade, no desempenho produtivo, nas respostas hematológicas e nas análises histológicas.

Neste trabalho não foi possível determinar a hemaglutinação dos eritrócitos pela dificuldade da realização desta análise, mas a constatação deste parâmetro seria de extrema importância para entender a saúde dos animais alimentados com soja crua perante os fatores antinutricionais.

Para entender melhor os efeitos antinutricionais presentes na soja crua, há necessidade de mais pesquisas com diferente período de tempo e espécie e também a importância de mais estudos dos fatores antinutricionais em relação a saúde animal.