



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL



**Valor nutritivo do farelo de pinhão manso (*Jatropha curcas*) para  
alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**

ROSANGELA DO NASCIMENTO FERNANDES

JABOTICABAL – SP

fevereiro – 2010



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL



**Valor nutritivo do farelo de pinhão manso (*Jatropha curcas*) para  
alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**

ROSANGELA DO NASCIMENTO FERNANDES  
Zootecnista

Orientador: Prof. Dr. Luiz Edivaldo Pezzato

Co-orientador: Dr. Hamilton Hisano

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

JABOTICABAL – SP

fevereiro – 2010

F363v Fernandes, Rosangela do Nascimento  
Valor nutritivo do farelo de pinhão manso (*Jatropha curcas*) para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) / Rosangela do Nascimento Fernandes. -- Jaboticabal, 2010  
vii, 81 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2010

Orientador: Luiz Edivaldo Pezzato

Banca examinadora: Wilson Massamitu Furuya, Fabiana Pilarski  
Bibliografia

1. Fatores antinutricionais. 2. Histologia. 3. Intoxicação. I. Título.  
II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.3.043

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

REITORIA

CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

### CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO:** Valor nutritivo do farelo de pinhão manso (*Jatropha curcas*) para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

**AUTORA:** ROSANGELA DO NASCIMENTO FERNANDES

**ORIENTADOR:** Prof. Dr. LUIZ EDIVALDO PEZZATO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE em AQUICULTURA ,  
pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. LUIZ EDIVALDO PEZZATO

Departamento de Melhor e Nutri Animal / Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu

Prof. Dr. WILSON MASSAMITU FURUYA

Departamento de Zootecnia / Universidade Estadual de Maringá

Fabiana Pilarski

Profa. Dra. FABIANA PILARSKI

Laboratório de Patologia de Organismos Aquáticos / Centro de Aquicultura da UNESP - CAUNESP

Data da realização: 08 de fevereiro de 2010.

A Deus, pela vida e porque com Ele tudo é possível.

Aos meus pais Obelisto e Rosa por me mostrarem desde cedo o que é batalhar por um futuro melhor, por nunca desistir dos objetivos e, enfim, pelo apoio, amor, compreensão e caráter.

À minha querida irmã Renata pelo apoio, compreensão e orgulho mútuo.

**OFEREÇO E DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Luiz Edivaldo Pezzato, antes de tudo, pela amizade, apoio, oportunidade, respeito, paciência e orientação.

Ao Dr. Hamilton Hisano, pela amizade, colaboração, incentivo, respeito e orientação.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Margarida Maria Barros pela amizade e respeito.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Renée Laufer Amorim do departamento de patologia veterinária da FMVZ – Unesp Botucatu pelo auxílio nas análises histológicas.

Ao Prof. Dr. Carlos Roberto Padovani do departamento de Bioestatística do IB, pelo auxílio nas análises estatísticas.

Ao Prof. Dr. Sérgio Fonseca Zaiden da Faculdade de Rio Verde (GO), à Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Irene Bastos Franceschini Vicentini e ao Prof. Dr. Carlos Alberto Vicentini do departamento de morfologia da Unesp de Bauru, pela amizade e pelo auxílio nas análises histológicas.

Ao Sr. Orandi do laboratório de morfologia da Faculdade de Ciências Agrônomicas e Veterinárias (FCAV) da Unesp de Jaboticabal pela amizade e auxílio na confecção das lâminas histológicas.

Aos professores Dr. João Batista Kochenborger Fernandes, Dr. Wilson Massamitu Furuya e à Dr<sup>a</sup> Fabiana Pilarski, pela amizade, grande contribuição e sugestões ao trabalho.

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

Às minhas grandes amigas e companheiras de todos esses anos de faculdade Flávia Hermínia Vicente, Natália Bortoleto Athayde e Fabiana de Souza Costa

pela amizade, compreensão, ajuda nos momentos difíceis, pelos desabafos e carinho.

Aos meus amigos do AquaNutri Igo Gomes Guimarães, Daniel Magalhães Araújo, Vivian Gomes dos Santos, Caroline Pelegrina Teixeira, Altevir Signor, Ademir Calvo Fernandes Júnior, João Fernando Albers Koch, Fernando Kojima Nakagome, Graciela Pessoa Martins, Érica Fernanda Paris Martins, Flávia Mota Damasceno, Renan Mattos Botelho, Rafael Lopes, Pedro Pucci, Mariúcha, William (Matrinxã) entre muitos outros que passaram pelo laboratório agradeço pelo apoio, ajuda, amizade e carinho.

Aos amigos do laboratório de aves Vitor Fascina, Ana Cristina Stradiotti, Fabyola Barros de Carvalho, Carolina Miranda de Carvalho, Vanessa Cristina Pelícia, Luciene Aparecida Madeira, Gustavo (“cachorrito”) Thiago (funcionário) e “Poka” pela amizade, ajuda e carinho.

Aos amigos do Caunesp Róberson Sakabe, Haluko Massago, Thálita Stefann Ribeiro Nascimento, Patrick Hainfellner, Fabiana Pilarski, Sílvia Patrícia, Veralice Capatto, Eduardo Antônio Sanches, Fabrizia Otani (Moeda), Márcia Regina Stech, entre outros (que posso estar esquecendo aqui) pela amizade, apoio, compreensão e momentos divertidíssimos que passei ao lado de vocês!

Aos amigos “extracurriculares” Célia da Silva Lima, Caroline Pereira (*The Flash*), Luciana Rodrigues, Gil Ignácio, Marleide Costa, Cláudia Marie Komiyama, Lucinei Fernando, Roberto Camargo, Lúcio Girão, Leonardo (Da Roça), Belinha (fichinha), Adélia (Celu), Daniela (Amapô), Érico (Tadau), Gustavo (Mineiro), Telma Fabro, Satie, “Goró” e “Desa” pela amizade e pelos momentos alegres que passei ao lado de vocês.

À Dona Mercedes, pelo carinho e acolhimento em sua casa em Jaboticabal.

Ao meu cunhado Mauro César, pela amizade e por fazer minha irmã feliz e deixá-la menos estressada comigo.

Às minhas avós Apolônia Pereira da Silva e Avandite dos Santos Fernandes (*in memoriam*) pelo carinho, incentivo e por sempre acreditarem em mim.

À Vitória Carolina, pelo carinho e por fazer sentir-me “irmã” dela.

Ao Rodrigo Macedo pelo amor e respeito inimagináveis.

Enfim, agradeço à todas as pessoas que acreditaram e apoiaram, de um modo ou de outro, à mim e minha pesquisa.

À FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo financiamento da pesquisa. Processo: 07/57824-4.

Esta pesquisa foi aprovada pela Câmara de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ, em 09 de dezembro de 2008, sob o protocolo n° 227/2008-CEEA.

## SUMÁRIO

---

	Página
<b>CAPÍTULO I</b> .....	1
Considerações Iniciais.....	2
1.1 Tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ).....	2
1.2 Pinhão Manso ( <i>Jatropha curcas</i> ) .....	3
1.3 Farelo de pinhão manso na alimentação animal.....	5
1.4 Fatores Antinutricionais.....	8
1.5 Inibidores de Proteases.....	9
1.6 Lectinas.....	11
1.7 Saponinas.....	12
1.8 Fitatos.....	14
1.9 Éster de Forbol.....	15
Referências Bibliográficas.....	18
 <b>CAPÍTULO II</b> .....	 24
Farelo de pinhão manso ( <i>Jatropha curcas</i> ) sobre o desempenho de alevinos de tilápia do Nilo.....	25
Resumo.....	26
Abstract.....	27
Introdução.....	29
Material e Métodos.....	31
Resultados e Discussão.....	34
Conclusões.....	40
Agradecimentos.....	40
Referências.....	41
Tabelas.....	45
Figuras.....	49
 <b>CAPÍTULO III</b> .....	 51
Alterações teciduais em intestino, fígado e pâncreas intra-hepático de alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de farelo de pinhão manso.....	52
Resumo.....	53

Abstract.....	54
Introdução.....	56
Material e Métodos.....	58
Resultados e Discussão.....	62
Conclusão.....	75
Agradecimentos.....	75
Câmara de ética animal.....	75
Referências.....	76
<b>CAPÍTULO VI.....</b>	<b>80</b>
Considerações Finais.....	81

---

## **CAPÍTULO – I**

---

## CONSIDERAÇÕES INICIAIS

---

A aquicultura brasileira tem se desenvolvido intensamente nas últimas décadas, em resposta ao potencial aquático, à tecnologia empregada em rações e às formas de criação empregados. No entanto, o custo para manter a constante produção de pescado é considerado elevado para a maioria dos produtores.

A maior despesa origina-se da ração que chega a consumir cerca de 60 a 70% dos custos de produção e, um dos nutrientes que transforma a ração onerosa é a proteína. Alternativas para a substituição de ingredientes protéicos de alto custo na ração são estudadas por pesquisadores e pela indústria de alimentos para animais. Entretanto, a substituição de alguns ingredientes é arriscada e muitas vezes utilizada moderadamente, pois cada modelo biológico pode responder de diversas maneiras.

Os ingredientes protéicos de origem vegetal são os que apresentam menor custo por existir em maior abundância no Brasil, por isso, tão atrativo para a indústria de ração. Porém, um dos principais obstáculos para a inclusão de alimentos alternativos de origem vegetal na alimentação de peixes é a qualidade da proteína. Outra limitação ocorre quando o alimento de origem vegetal apresenta fatores antinutricionais que podem reduzir o desempenho dos animais.

---

### 1.1 Tilápia do Nilo

---

A tilápia do Nilo pertence à família *Ciclidae* e é originária dos rios e lagos africanos. Por ser uma espécie que ocorre numa grande variedade de habitats de água doce como rios, lagos, canais de águas residuais e canais de irrigação (Froese & Pauly, 2007) e possuir crescimento rápido, tolerância a altas densidades de estocagem e baixa suscetibilidade a doenças, é excelente para a aquicultura mundial (Borgeson, 2005). Sua rusticidade e adaptabilidade climática é vasta o que lhe confere o título de segunda espécie de peixe mais cultivada no mundo, perdendo apenas para a carpa (*Cyprinus carpio*).

A tilápia possui estrutura morfológica e fisiológica adaptada ao hábito alimentar onívoro, o que proporciona maior aptidão ao seu manejo alimentar em sistemas

intesivos. Por causa dessa característica, as tilápias possuem maior tolerância a fatores antinutricionais em comparação à carpa (Francis et al., 2001a).

---

## 1.2 Pinhão Manso (*Jatropha curcas*)

---

A família Euphorbiaceae compreende aproximadamente 8000 espécies e cerca de 321 gêneros. O gênero *Jatropha* possui cerca de 170 espécies de plantas herbáceas e arbustivas, das quais várias apresentam valor medicinal, ornamental e econômico (Heller, 1996; Nunes, 2007).

A família do pinhão manso é a mesma da mamona (*Ricinus communis*) e da mandioca (*Manihot esculenta*). Possivelmente originária do Brasil, esta planta foi introduzida nas ilhas de Cabo Verde e Guiné no continente africano por navegadores portugueses no final do século XVIII, onde posteriormente foi disseminada no mesmo continente (Nunes, 2007).

A planta do pinhão-manso é um arbusto ou árvore com até quatro metros de altura, flores pequenas, amarelo-esverdeadas, unissexuadas ou ocasionalmente hermafroditas (Heller, 1996). Seu fruto é uma cápsula com três sementes escuras, lisas, de 2,5 a 4cm de comprimento, 1,5 a 3cm de diâmetro e dentro das quais se encontra a amêndoa branca, tenra e rica em óleo (SBRT, 2006; Nunes, 2007). A semente, quando seca possui cerca de  $1,5 \pm 2$ cm de comprimento, por  $1,0 \pm 1,5$ cm de largura, é ovalada, endospermica, tegumento rijo, quebradiço, de fratura resinosa. É composta por 33,5 a 66% de casca e de 55 a 66,5% de amêndoa dependendo da variedade, condições ecológicas e tratos culturais (Nunes, 2007). A produção anual de sementes está entre 100 a 8000 quilos por hectare. Porém, o pico de produção da semente pode variar com as oscilações de chuva e fertilidade do solo. As partes importantes da planta estão apresentadas na Figura 1 (Heller, 1996).

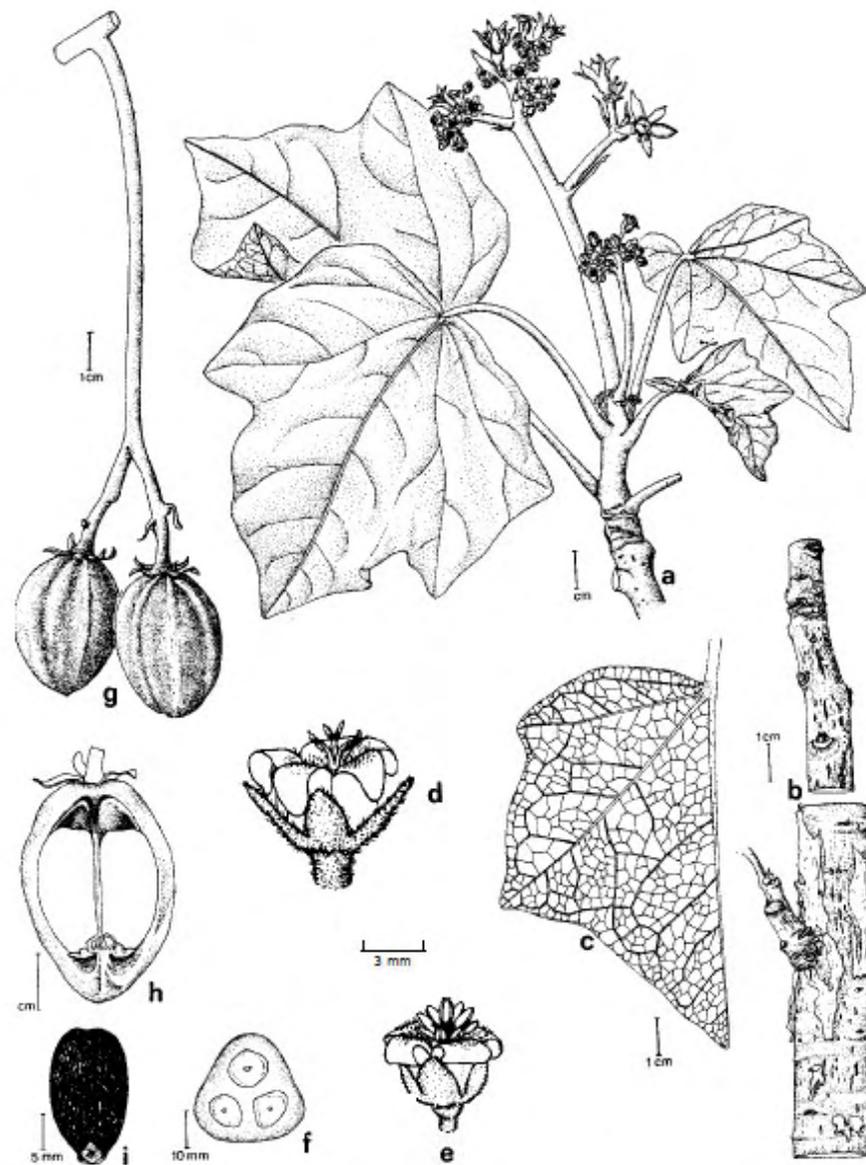


Figura 1: Partes importantes do pinhão manso: a - ramo de inflorescência, b - córtex, c- capilares de nervura da folha, d - pistilo, e - estame, f - corte do fruto imaturo, g - frutos, h - corte longitudinal do fruto, i - semente.

Alguns autores (Openshaw, 2000; SBRT, 2006) relatam alta porcentagem de óleo extraída da semente sendo entre 50 e 60% quando solventes são utilizados e cerca de 32 a 35% quando a extração é por expressão (trituração e aquecimento da amêndoa). Este óleo que é de propriedade viscosa e não emite fumaça quando queimado, pode ser utilizado para iluminação, como lubrificante e para a manufatura de sabão, velas e

verniz. Ele também serve como combustível para máquinas a diesel (Makkar et al., 1997; Openshaw, 2000).

A origem do nome *Jatropha* vem do grego *iatrós* (doutor) e *trophé* (comida), o que significa ‘uso medicinal’ (Heller, 1996). Sua seiva possui propriedades cicatrizantes e antimicrobianas contra *Staphylococcus* e *Echerichia coli*. As raízes são consideradas diuréticas e antileucêmicas e as folhas podem ser utilizadas para combater doenças de pele. As sementes, bem como o óleo retirado destas, são freqüentemente usadas como purgativo, no tratamento de afecções da pele, hidropisia, gota, paralisia e reumatismo, principalmente nos países tropicais (SBRT, 2006).

Popularmente é conhecida como *physic nut* (inglês), *pignon d’Inde* (França), *kadan* (Nepal), *piñoncillo* (México), *pinhão manso*, *purgueira*, *pinhão-de-cena*, *pinhão-de-inferno*, *figo-do-inferno*, *pinhão-das-barbadas* (Brasil) (SBRT, 2006; Nunes, 2007). É encontrada em quase todas as regiões intertropicais, estendendo sua ocorrência à América Central, Índia, Filipinas e Timor, até mesmo às zonas temperadas, em menor proporção. No Brasil, esta planta ocorre praticamente em todas as regiões, sempre de forma dispersa adaptando-se em condições edafoclimáticas variáveis, propagando-se, sobretudo nos estados do Nordeste, Goiás e em Minas Gerais (SBRT, 2005). Estabelece-se de maneira fácil, cresce relativamente rápido e é rústica sendo tolerante à estiagem (Openshaw, 2000; Makkar et al., 1997). Geralmente cresce em terrenos abandonados, áreas marginais não cultivadas e em solos pedregosos. Possui habilidade de recuperar e restaurar áreas com erosão sendo que, aparentemente adapta-se melhor em regiões mais secas dos trópicos, com baixo índice pluviométrico (Heller, 1996; Makkar et al., 1997; Nunes, 2007). O pinhão manso também é cultivado como cerca viva, porém não compõe pastagem, pois suas folhas e talos são tóxicos aos animais. Variedades não-tóxicas encontradas no México podem ser interessantes para o uso na alimentação animal (Makkar et al., 1998).

---

### 1.3 Farelo de pinhão manso na alimentação animal

---

Da industrialização do pinhão manso obtém-se, como produto principal, o óleo e, como subproduto, a torta. Após passar por moinho esta se apresenta na forma de farelo. O farelo possui alto teor protéico variando entre 25,43 a 68%, dependendo do óleo

residual (Makkar et al., 1997; Aregheore et al., 2003; Martinez-Herrera, 2006; Neiva Júnior et al., 2007).

Segundo Makkar et al. (1998) e Chivandi et al. (2006) a composição química do pinhão manso varia conforme a fonte, sendo similar a do farelo de soja. Apresenta os seguintes aminoácidos: arginina (12,9%), cistina (1,58%), fenilalanina (4,89%), histidina (3,08%), isoleucina (4,85%), leucina (7,5%), lisina (3,4%), metionina (1,76%), tirosina (3,78%), treonina (3,59%), triptofano (1,31%) e valina (5,3%). Porém, em comparação ao farelo de soja, o farelo de pinhão manso apresenta menor valor de lisina e maior valor de aminoácidos sulfurados (Makkar et al., 1998).

Apesar de possuir alto valor nutritivo, a torta de pinhão manso atualmente é utilizada como adubo orgânico. Isso se deve à presença de fatores antinutricionais em sua composição e à falta de conhecimento tecnológico para seu processamento e detoxicação, indispensáveis para o uso na alimentação animal (Cleef et al., 2007).

Segundo Makkar et al. (1997), ao estudarem variedades da planta provinda de diversos países, quantificaram a composição química das sementes em relação aos fatores antinutricionais. O inibidor de tripsina foi quantificado e variou entre 18,4 a 27,5mg de tripsina inibida por grama de matéria seca. A lectina apresentou 0,85 a 6,85 de atividade hemaglutinante. A porcentagem de saponina e de fitato variou de 1,82 a 3,4% e de 6,2 a 10,1%, respectivamente. Não foi detectado nível de éster de forbol na semente de pinhão manso provinda da cidade de Paplanta no México, porém a variedade provinda de Kitui no Quênia apresentou 3,32mg/g, considerado o maior nível entre as variedades estudadas. Nenhuma variedade da semente da planta brasileira foi pesquisada.

Entre os fatores antinutricionais presentes, o éster de forbol (phorbol-12-myristate 13-acetate) tem sido identificado como a principal substância tóxica encontrada na semente do pinhão manso (Makkar & Becker, 1999). Devido a esse fator, alguns autores desaconselham o uso da torta do pinhão manso para a alimentação animal, informando sua toxidez em monogástricos e ruminantes (Gandhi et al., 1995; Becker & Makkar, 1998; Gübitz et al., 1999; Chivandi et al., 2006).

Ao tratar o farelo de pinhão manso para a total desativação dos fatores antinutricionais, Chivandi et al. (2006) observaram que suínos alimentados com rações contendo níveis crescente desse farelo, revelaram severos efeitos adversos. Foi

observado no sangue desses animais que a concentração e atividade sérica de alfa amilase, porcentagem de hematócrito, glicose, colesterol e triglicerídeos séricos apresentaram significativa redução ao serem expostos à dieta contendo níveis crescentes de farelo de pinhão manso. Além disso, os animais apresentaram diarreia, o que indica que alguns princípios tóxicos não foram desativados totalmente.

Sementes de pinhão manso foram administradas para bezerros nas doses de 2,5; 1,0; 0,25 e 0,025g/kg por 14 dias. As sementes foram fatais para bezerros alimentados com as doses maiores após 19 horas da administração. O restante dos animais apresentaram sinais de envenenamento e morreram no 10º e 14º dia, conseqüentemente. Foi constatado aumento da aspartato aminotransferase, amônia e potássio e diminuição da proteína total e do cálcio sérico nos animais envenenados (Ahmed & Adam, 1979a).

Sinais como diarreia, consumo reduzido de água, desidratação, olhos fundos e inapetência foram algumas das manifestações apresentadas por ovinos e caprinos que consumiram sementes de pinhão manso. Todos os caprinos apresentaram decréscimo no nível de glicose e marcada elevação na concentração de arginase e glutamato oxaloacetato transferase séricos. Exames *pós mortem* revelaram hemorragia no rumem, retículo, rins, baço e coração, hemorragia e enterite catarral ou abomasite, congestão e edema de pulmão e excessivo fluido seroso nas cavidades. Congestão e vários níveis de degeneração gordurosas no fígado e considerável redução no conteúdo em glicogênio e necrose dos hepatócitos também foram observados (Adam & Magzoub, 1975; Ahmed & Adam, 1979b). Durante quatro semanas frangos foram alimentados com sementes de pinhão manso. A intoxicação severa foi indicada pela diminuição do crescimento, hepato-nefropatias e congestões e hemorragias espalhadas (El Badwi & Adam, 1992).

Makkar et al. (1999) trabalharam com farelo de pinhão manso não tóxico, processados em quatro diferentes temperaturas, provindo da cidade de Vera Cruz no México. Ratos alimentados com a dieta contendo farelo de pinhão manso processado apresentaram maiores valores de ganho de peso e a taxa de eficiência protéica. Porém, carpas alimentadas com a dieta contendo farelo de pinhão manso não tratado e submetido à alta temperatura, apresentaram maior ganho de peso, porém não diferindo do tratamento controle. Isso demonstra que diferentes modelos biológicos podem se comportar diferentemente à dieta e que esses resultados devem ser avaliados com cautela em função da espécie animal utilizada.

Diminuição do apetite e do peso, diarreia, dificuldade motora e mortalidade de todos os ratos alimentados com diferentes tipos de farelo de pinhão manso detoxificado foram observados por Rakshit et al. (2008). Porém, mesmo os farelos contendo diferentes tratamentos e detoxicação, fatores como sabor, cheiro e textura das dietas podem ter influenciado no decréscimo do consumo das dietas pelos ratos (Aregheore et al., 2003).

Variedades da planta pinhão manso com sementes isentas ou com baixo teor de toxinas foram encontradas no México. Porém, Heller (1996) e Cleef et al. (2007) afirmaram que é necessário muita pesquisa sobre essa oleaginosa, para analisar a viabilidade de inclusão da torta na alimentação animal. A composição nutricional da torta da semente extraída da variedade não tóxica apresenta similar ou igual valor dos nutrientes contidos na variedade tóxica (Makkar et al., 1997). Por estes fatores, esta variedade oferece promissora inclusão do subproduto dessa planta em dietas para animais.

---

#### 1.4 Fatores Antinutricionais

---

A avaliação do valor nutricional de determinados alimentos depende principalmente de seus nutrientes e da sua disponibilidade biológica. Depende, ainda, da presença e dos níveis de substâncias tóxicas e/ou antinutricionais, as quais podem alterar essa composição ou tornar indisponíveis esses nutrientes (Pezzato, 1995). Esses fatores podem provocar efeitos fisiológicos adversos ou diminuir a biodisponibilidade de nutrientes (Silva & Silva, 2000).

Segundo Chubb (1982), o termo antinutricional implica em substância com capacidade de alterar as possibilidades de aproveitamento dos nutrientes contidos nos alimentos. Os fatores antinutricionais tornam indisponíveis os nutrientes de um alimento ou parte desses, diminuem a sua digestibilidade ou metabolismo e/ou reagem de forma antagônica, afetando, portanto, sua eficiência nutritiva. Além desses prejuízos, podem ainda alterar a fisiologia do animal, diminuir o apetite e o desempenho produtivo e, em alguns casos, ser fatal quando utilizado por longo período.

Os fatores antinutricionais podem ser amplamente 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; 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 fatores termolábeis, desativados na presença de calor, abrangem os inibidores de proteases, fitatos, lectinas, goitrogênios e antivitaminas. Enquanto que os fatores termoestáveis, não se alteram na presença de calor, são representados pelas saponinas, polissacarídeos não amiláceos, proteínas antigênicas, estrogênios e alguns componentes fenólicos (Francis et al., 2001a).

A semente do pinhão manso contém propriedades tóxicas devido à presença de fatores antinutricionais como a lectina, também chamada de curcina ou ricina (Heller, 1996; Aregheore et al., 1998; Gübitz et al., 1999; Nunes, 2007), inibidor de protease e demais substâncias como a saponina, fitato e éster de forbol também são encontrados na torta deste vegetal (Makkar et al., 1997).

---

### 1.5 Inibidores de Proteases

---

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. São classificados em dois grupos: o tipo Kunitz que é relativamente sensível à temperatura e aos ácidos, possui peso molecular de aproximadamente 20 kDa e especificidade primária para a tripsina. O tipo Bowman-Birk é mais estável e apresenta peso molecular entre seis e 10 kDa, capacidade para inibir a tripsina e a quimotripsina em sítios de ligação independentes (Silva & Silva, 2000; Francis et al., 2001a).

O mecanismo de ação do inibidor de protease inicia-se na digestão de proteínas, onde este 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 &

Silva, 2000). Por este motivo que ocorre redução da taxa de crescimento nos animais, pois há a redução na digestibilidade das proteínas da dieta.

Considerada espécie sensível a esse fator antinutricional, a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) não apresentou alteração com o nível de até 3 mg/g de inibidor de tripsina presente na dieta contendo farelo de soja (Kaushik et al., 1995). Porém, o salmão do Atlântico (*Salmo salar*) 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., 1998). Os autores afirmaram dificuldade de identificar os fatores que afetaram negativamente o desempenho do salmão, porém sugeriram haver uma substância termorresistente presente no farelo de soja capaz de alterar o processo digestório desses peixes.

López et al. (1999) estudaram a sensibilidade de espécies de dourada (*Sparus aurata*), tilápia e linguado africano (*Solea senegalensis*) aos inibidores de protease presentes em três ingredientes. Nos ensaios “*in vitro*”, a tilápia foi o peixe que demonstrou maior sensibilidade a esse fator em concentrações crescentes de extrato de soja e de glúten de milho. Segundo esses autores, o efeito negativo do uso de dietas contendo inibidor de proteases é apresentado pela presença de diferentes fatores como: tipo de farelo; nível do farelo na dieta; período em que se estende a alimentação e a sensibilidade de algumas espécies de peixes aos fatores antinutricionais.

Refstie et al. (2000) observaram que a truta arco-íris e o salmão do Atlântico apresentaram desempenho oposto às diferentes dietas contendo farelo de soja. O salmão apresentou-se mais sensível à nova dieta provavelmente pela presença de fatores antinutricionais. Porém, as duas espécies apresentaram alterações teciduais na porção distal do intestino ao se alimentarem de dietas contendo farelo de soja.

Alarcón et al. (2001) compararam o efeito dos inibidores sobre as proteases digestivas em duas espécies de peixe. Quando os inibidores presente nas sementes foram tratados com enzimas gástricas, estes perderam parte da sua habilidade de inibir as proteases intestinais, principalmente no peixe “dog snapper” (*Lutjanus novemfasciatus*). Por este motivo, este peixe apresentou menor sensibilidade aos inibidores de protease presentes em extratos de sementes do que o “yellow snapper” (*Lutjanus argentiventris*).

Mesmo a digestão da carpa comum sendo triptica-quimiotriptica, os inibidores de tripsina do farelo de pinhão manso não afetaram seu crescimento. Os autores especulam que a carpa, em estágio de crescimento antecipado, pode ter alguns mecanismos que neutralizam altos níveis de inibidores de tripsina comparados a estágios mais tardios do desenvolvimento (Makkar & Becker, 1999).

---

### 1.6 Lectinas

---

A lectina é uma proteína ligada ao açúcar ou glicoproteína de origem não imune a qual aglutina células e/ou precipita glicoconjugados (Goldstein et al., 1980). Está presente em quase todos os seres vivos, pois é encontrada no reino vegetal, animal e em microrganismos. Nas plantas, é frequentemente denominada de hemaglutinina, devido a sua capacidade de provocar aglutinação de eritrócitos em várias espécies de animais. Possuem alta capacidade de ligação aos carboidratos específicos, principalmente nas células do duodeno e jejuno, causando sérios danos à parede intestinal (Francis et al., 2001a). Sinais clínicos como inflamação intensa com destruição das células do epitélio, edema, hiperemia, hemorragia em tecidos linfáticos, degeneração gordurosa e necrose do fígado e lesões do miocárdio e sistema vascular são encontrados quando essa substância é ingerida (Silva & Silva, 2000). Entretanto, deve-se enfatizar que nem todas as lectinas são necessariamente tóxicas ou possuem efeito inibitório sobre o crescimento de animais (Liener, 1974).

Atualmente, nada se sabe sobre os efeitos de hemaglutininas nos peixes. Desde que o tratamento térmico e a pepsina do estômago as inative, é reconhecido que estas proteínas não afetam o crescimento do peixe (Hendricks, 2002). Entretanto, Nakata & Kimura (1985) apresentaram ensaios *in vitro*, onde a lectina da soja foi rapidamente inativada pela pepsina do estômago. Porém, isto não ocorreu com a lectina do feijão e, por isso, ainda é cedo para afirmar que o tratamento térmico e enzimas na digestão são capazes de inativar as lectinas.

Aregheore et al. (1998) observaram inativação total de lectinas em farinha extraída de sementes de pinhão manso, quando submetida a tratamento térmico com aquecimento úmido (66% de umidade, 121°C/ 30 minutos) e, manutenção da atividade

de lectinas com aquecimento seco (130 e 160°C por 20, 40 e 60 minutos) em variedades tóxicas e não tóxicas de pinhão manso.

A diferença de peso de ratos alimentados com dietas contendo farelo de pinhão manso tratado ou não com três diferentes tipos de aquecimento foi de 7 e 23% mais baixo do que o tratamento controle, respectivamente. O consumo de ração foi estatisticamente igual para as dietas controle e a com tratamento térmico, porém o consumo da dieta sem tratamento térmico foi 21% menor (Makkar & Becker, 1999). Isso demonstra que a maior parte dessas substâncias é inativada ou inibida quando utilizado tratamento térmico adequado (Makkar & Becker, 1999; Silva & Silva, 2000). Embora Liener (1974) afirme que os efeitos tóxicos das lectinas de leguminosas possam geralmente ser eliminados por tratamento térmico apropriado, algumas condições, como calor seco, são pouco efetivas para inativação de lectinas.

A inclusão de soja crua na dieta de ratos causou a diminuição do peso, da eficiência na conversão alimentar e da taxa de utilização protéica. Esses animais apresentaram o pâncreas e o intestino delgado com peso consideravelmente aumentado. Essas alterações foram causadas pelos inibidores de protease e lectinas, respectivamente (Armour et al., 1998).

---

## 1.7 Saponinas

---

As saponinas são glicosídeos ou esteróides presentes em grande parte dos ingredientes alternativos para dietas de peixes. Caracterizam-se pelo sabor amargo, capacidade de formar espuma em soluções aquosas, provocar hemólise e, ainda, de se complexarem em esteróides. Quando adicionado à água, eles são altamente tóxicos para os peixes devido danos causados ao epitélio respiratório das brânquias pela ação detergente das saponinas (Francis et al., 2001a).

Seus efeitos antinutricionais também estão relacionados às modificações na permeabilidade da mucosa intestinal, inibindo o transporte de alguns nutrientes, facilitando a absorção de outros compostos. Elas ainda podem retardar o crescimento 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 de uma planta chamada *Quillaja* (*Quillaja saponaria* Molina), provocaram efeitos diversos em tilápias do Nilo. 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). Recentemente Francis et al., (2005) relataram que este tipo de saponina age como um 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.

Extratos purificados de farelo de soja e de proteína isolada de soja suplementados com a saponina *Quillaja* foram testados. 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 (Bureau et al., 1998).

Juvenis de camarão (*Penaeus japonicus*) foram previamente expostos a concentrações de 20 mg de saponina por litro durante 24 horas. Os animais apresentaram aumento tanto na taxa respiratória quanto no metabolismo (medido com o aumento da ventilação de O<sub>2</sub> e excreção de NH<sub>4</sub>) durante seis horas após o processo de detoxificação (Chen & Chen, 1997), indicando quadro de estresse provocado pela saponina. O aumento da ventilação é um sinal característico devido a privação de oxigênio que ocorre quando há diminuição da tensão superficial pela água nas brânquias por causa da saponina.

---

## 1.8 Fitatos

---

O fitato ou ácido fítico é constituinte de todos os cereais e farelos de oleaginosas como a soja, o algodão e a colza. Eles agem formando um complexo com elementos em transição como o zinco, ferro e manganês no trato gastrointestinal impedindo sua absorção. O cálcio promove, ainda, um complexo do zinco com o fitato (NRC, 1993; Hendricks, 2002).

Quando as dietas possuem altas taxas de fitato, pode haver diminuição do consumo pelo peixe e isso pode ser atribuído a diversos fatores. Por exemplo, a redução da disponibilidade dos minerais prejudica a digestibilidade da proteína causada pela formação do complexo proteína-ácido fítico e diminui a absorção dos nutrientes, onde causa danos à região do ceco pilórico (Francis et al., 2001a).

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.

Zinco e fitato adicionados juntos em dietas para ratos proporcionaram menor ganho de peso em consequência do menor consumo de ração (Davies & Nightingale, 1975). Likuski & Forbes, (1965) observaram que o cálcio na ração causou a diminuição da absorção de zinco nas dietas que continham ácido fítico, mas não foi significativamente mais baixo do que a quantidade de zinco absorvida pela dieta sem ácido fítico. A absorção do magnésio e do fósforo foi reduzida também pelo cálcio extra na presença ou não do ácido fítico. O ácido fítico da dieta também diminuiu a absorção do zinco.

A suplementação da enzima fitase em dietas contendo fitatos neutralizou os efeitos negativos do mesmo. Riche & Brown (1996) constataram que ao suplementar fitase na ração que continha fontes protéicas vegetais, aumentou de 46,2 a 75,6% os valores da disponibilidade de fósforo para trutas arco-íris. Porém, a adição dessa enzima pode elevar o custo de produção da ração, podendo tornar-se inviável para a indústria.

O tratamento térmico proveniente da autoclave pode minimizar esses danos reduzindo a concentração de ácido fítico no alimento. A fermentação da torta também se mostra eficiente, pois minimiza o efeito do ácido fítico proveniente dos grãos, devido a ação de fitases produzidas pelo ácido lático das bactérias (Francis et al., 2001a).

### 1.9 Éster de Forbol

O Éster de forbol é uma substância tóxica encontrada no pinhão manso e age como co-carcinogênico causando efeito celular e bioquímico adverso aos animais. Segundo Goel et al. (2007), o éster de forbol imita a ação do diacilglicerol (DAG), inativador da proteína quinase C, a qual regula diferentes sinais de vias de tradução e outras atividades metabólicas (Figura 2). Eles ocorrem naturalmente em muitas plantas da família Euforbiaceae e Timelaeaceae (Gandhi et al., 1995).

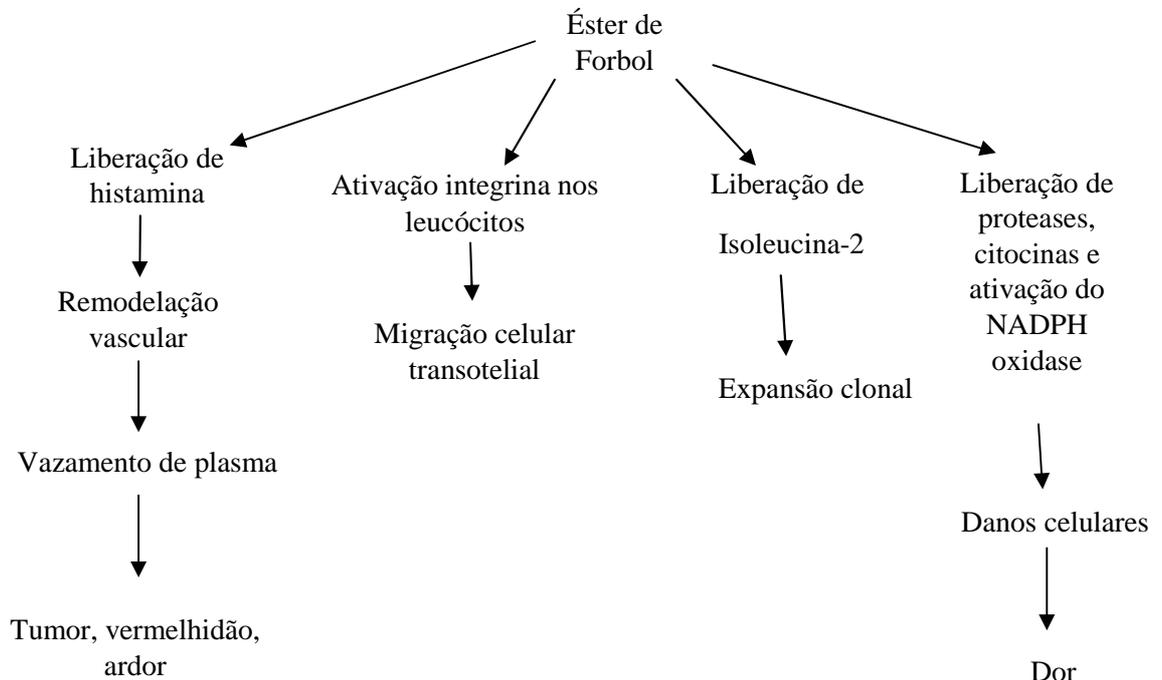


Figura 2 - Respostas inflamatórias induzidas pelo éster de forbol

A atividade biológica do éster de forbol é altamente específico-estrutural. Este é encontrado em baixíssimas concentrações, porém, animais que receberam essa substância na dieta, manifestaram sinais de intoxicação (Goel et al., 2007).

A carpa comum é altamente sensível a esse componente. Níveis acima de 31 ppm na dieta, induziram rejeição do alimento, diminuição do crescimento e produção de muco fecal, sem provocar mortalidade nos animais (Becker & Makkar, 1998). Efeitos purgativos, irritação da pele e promoção de tumores, são as principais causas relatadas pela ingestão dessa substância (Makkar et al., 1997). Esta toxicidade limita o uso de muitas plantas nutritivas e seus subprodutos que contém éster de forbol para a alimentação animal. Entretanto, vários tratamentos físicos e químicos têm sido estudados para a extração ou inativação dessas substâncias (Goel et al., 2007).

Ghandi et al. (2005) testaram a toxicidade do óleo de pinhão manso em ratos, camundongos e coelhos tanto pela aplicação oral quanto tópica. Ao ingerirem 6,0 ml/kg do óleo foi suficiente para estes animais apresentarem a DL<sub>50</sub>. Com a ingestão de doses de 9 e 13,5ml/kg, houve 100% de mortalidade. Estes animais apresentaram diarreia, hemorragia ocular e inflamação do trato gastrintestinal. A aplicação tópica produziu eritema e edema na pele de coelhos. Camundongos apresentaram inchaço da face, olhos hemorrágicos, diarreia e eritema de pele e, posteriormente, morte de 100% dos animais. Os ratos apresentaram edema e eritema e, após quatro horas, escamação e inchaço da pele. Os autores sugeriram que os efeitos tóxicos do óleo estão relacionados com a presença de éster de forbol.

Mesmo aplicando diferentes tratamentos para a detoxicação do farelo de pinhão manso, Rakshit et al. (2008) comprovaram que só a presença do éster de forbol na dieta para ratos é capaz de induzir perda de peso. A concentração de 2,08mg% de éster de forbol na dieta, resultou em efeitos adversos significativos no consumo e na taxa de crescimento de ratos.

A dose letal mínima de semente de pinhão manso é diferente para cada espécie (Gübitz et al., 1999). O conteúdo de éster de forbol depende do resíduo de óleo presente na torta ou no farelo depois do processamento (Rakshit et al., 2008). Isso também o transforma num fator altamente tóxico (Panigrahi et al., 1984; Makkar et al., 1997; Aderibigbe, 1997). No entanto, segundo Becker & Makkar (1998) os efeitos adversos

do éster de forbol são reversíveis aproximadamente nove dias após sua remoção da dieta.

Desse modo, com base nas informações expostas, o presente estudo teve por objetivo avaliar os efeitos da inclusão do farelo de pinhão manso sobre o desempenho da tilápia do Nilo e ação dos fatores antinutricionais presente nos órgãos-alvo: fígado e intestino.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

ADAM, S. E. I. & MAGZOUN, M. Toxicity of *Jatropha curcas* for goats. **Toxicology**, Jul; v.4, n.3, p.347-54, 1975.

ADERIBIGBE, A. O.; JOHNSON, C. O. L. E.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. & FOIDL, N. Chemical composition and effect of heat on organic matter- and nitrogen-degradability and some antinutritional components of *Jatropha* meal. **Animal Feed Science Technology**, v.67, p.223-243, 1997.

AHMED, O. M. M. & ADAM, S. E. I. Effects of *Jatropha curcas* on calves. **Veterinary Pathology**, v.16, p.476-482, 1979a.

AHMED, O. M. M. & ADAM, S. E. I. Toxicity of *Jatropha curcas* in sheep and goats. **Research in veterinary science**, v.27, p.89-96, 1979b.

ALARCÓN F. J.; GARCÍA-CARREÑO, F. L. & NAVARRETE DEL TORO M. A. Effect of plant protease inhibitors on digestive proteases in two fish species, *Lutjanus argentiventris* and *L. novemfasciatus*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.24, p.179–189, 2001.

AREGHEORE, E. M.; BECKER, K. & MAKKAR, H. P. S. Detoxification of a toxic variety of *Jatropha curcas* using heat and chemical treatments, and preliminary nutritional evaluation with rats. **S. Pac. J. Nat. Sci.**, v.21, p.50-56, 2003.

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. **J Sci Food Agric.**, v.77, p.349-352, 1998.

ARMOUR, J. C.; PERERA, R. L. C.; BUCHAN, W. C. & GRANT, G. Protease inhibitors and lectins in soya beans and effects of aqueous heat-treatment. **J Sci Food Agric**, v.78, p.225-231, 1998.

BECKER, K. & MAKKAR, H. P. S. Effect of phorbol esters in carp *Cyprinus carpio* L. **Vet. Hum. Toxicol.** v.40, p.82-86, 1998.

BORGESON, T. L. **Effect of replacing fish meal with simple or complex mixtures of vegetable ingredients in diets fed to Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)**. Saskatoon, Saskatchewan: University of Saskatchewan. 140p. 2005 (Thesis).

BUREAU, D. P; HARRIS, A. M; & YOUNG CHO, C. 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.

CHEN, JIANN-CHU & CHEN, KOU-WEI. Oxygen uptake and ammonia-N excretion of juvenile *Penaeus japonicus* during depuration following one-day exposure to different concentrations of saponin at different salinity levels. **Aquaculture**, v.156, p.77-83, 1997.

CHIVANDI, E.; ERLWANGER, K. H.; MAKUZA, S. M.; READ, J. S. & MTIMUNI, J. P. Effects of dietary *Jatropha curcas* meal on percent packed cell volume, serum glucose, cholesterol and triglyceride concentration and alpha-amylase activity of weaned fattening pigs. **Research Journal of Animal and Veterinary Sciences**, v.1, n.1, p.18-24, 2006.

CHUBB, L. G. Anti-nutritive factors in animal feedstuffs. In: HARESTING, W. Studies in agricultural and food science Butterworth's. **Recent Advances in Animal Nutrition**. p.21-37, 1982.

CLEEF, E.H.C.B; JÚNIOR, A.P.N; PARDO, R.M.P.; FILHO, J.C.S.; NETO, P.C. e FRAGA, A.C. Composição Química e Limitações da Utilização da Torta de Pinhão Manso (*Jatropha curcas*) na Alimentação Animal. In: IV CONGRESSO BRASILEIRO DE PLANTAS OLEAGINOSAS, ÓLEOS, GORDURAS E BIODIESEL. 2007, Varginha. **Anais...** Varginha, 2007. p.1271-1275.

DAVIES, N. T. & NIGHTINGALE, R. The effects of phytate on intestinal absorption and secretion of zinc, and whole-body retention of Zn, copper, iron and manganese in rats. **Br. J. Nutr.** v.34, p.243, 1975.

EL BADWI, S. M. A. & ADAM, S. E. I. Toxic effects of low levels of dietary *Jatropha curcas* seed on Brown Hisex chicks. **Vet. Human. Toxicol**, Apr., v.34, n.2, p.112-115, 1992.

EL-SAYED, ABDEL-FATTAH M. Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, *Oreochromis* spp. **Aquaculture**, v.179, p.149-168, 1999.

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.

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.

FROESE, R. & PAULY, D. Editors. FishBase. World Wide Web electronic publication. <www.fishbase.org>, version (07/2007).

GANDHI, V. M.; CHERIAN, K. M. & MULKY, M. J. Toxicological Studies on Ratanjot Oil. **Fd Chem. Toxic.**, v.33, n.I, p.39-2, 1995.

GOEL, G.; MAKKAR, H. P. S.; FRANCIS, G. & BECKER, K. Phorbol Esters: structure, biological activity, and toxicity in animals. **International Journal of Toxicology**, v.26, n.4, p.279-288, 2007.

GOLDSTEIN, I. J.; HUGHES, R. C.; MONSIGNY, M.; OSAWA, T. & SHARON, N. *What should be called a lectin?* **Nature**, v.285. 8 may, 1980.

GÜBITZ, G. M.; Mittelbach, M.; Trabi, M. Exploitation of the tropical oil seed plant *Jatropha curcas* L. **Bioresource Technology**, v.67, p.73-82, 1999.

HELLER, J. Physic nut. *Jatropha curcas* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. **International Plant Genetic Resources Institute**, 66pp., 1996.

HENDRICKS, J. D. **Adventitious Toxins**. In: Fish nutrition. HALVER, E. J. & HARDY, D.M. Academic Press, Inc. San Diego, US. 2002.

KAUSHIK, S.J.; CRAVEDI, J.P.; LALLES, J.P; SUMPTER, J.; FAUCONNEAU B. & LAROCHE, M. Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on

growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**, v.133, p.257-274, 1995.

LIENER, I. E. Phytohemagglutinins: Their nutritional significance. **J. Agr. Food Chem.**, v.22, n.1, p.17-22, 1974.

LIKUSKI, H. J. A. & FORBES, R. M. Mineral utilization in the rat: effects of calcium and phytic acid on the utilization of dietary zinc. **J. Nutrition**, 85, 1965.

LÓPEZ, F. J. M.; DÍAZ, I. M.; LÓPEZ, M. D. & LÓPEZ, F. J. A. Inhibition of digestive proteases by vegetable meals in three fish species; seabream (*Sparus aurata*), tilapia (*Oreochromis niloticus*) and African sole (*Solea senegalensis*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, v.122, p.327-332, 1999.

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 for Human Nutrition**, v.53, p.183-192, 1999.

MAKKAR, H. P. S.; ADERIBIGBE, A. O & BECKER, K. Comparative evaluation of a non-toxic and toxic varieties of *Jatropha curcas* for chemical composition, digestibility, protein degradability and toxic factors. **Food Chem.**, v.62, p.207-215, 1998.

MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K.; SPORER, F. & WINK, M. Studies on nutritive potential and toxic constituents of different provenances of *Jatropha curcas*. **J. Agric. Food Chem.**, v.45, p.3152-3157, 1997.

MARTÍNEZ-HERRERA, J.; SIDDHURAJU, P.; FRANCIS, G.; DÁVILA-ORTÍZ, G. & BECKER, K. Chemical composition, toxic/antimetabolic constituents, and effects of different treatments on their levels, in four provenances of *Jatropha curcas* L. from Mexico. **Food Chemistry**, v.96, p.80-89, 2006.

NAKATA, S. & KIMURA, T. Effect of ingested toxic bean lectins on the gastrointestinal tract in the rat. **J. Nutr.**, v.115, p.1621-1629, 1985.

NEIVA JÚNIOR, A.P.; CLEEF, E.H.C.B.V.; PARDO, R.M.P.; SILVA FILHO, José Cleto ; CASTRO NETO, P.; FRAGA, A.C. Subprodutos Agroindustriais do Biodiesel na Alimentação de Ruminantes. In: II CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DO BIODIESEL. **Anais...** Brasília, Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel. 2007.

NRC (National Research Council). **Nutrient Requirements of Fish**. National Academy Press, Washington, DC, 114 pp., 1993.

NUNES, C. F. **Caracterização de frutos, sementes e plântulas e cultivo de embriões de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.)**. Mestrado em fitotecnia – Universidade Federal de Lavras. Lavras, MG. 78pp., 2007.

OPENSHAW, K. A. Review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise. **Biomass and Bioenergy**, v.19, p.1-15, 2000.

PANIGRAHI, S.; FRANCIS, B. J.; CANO, L. A.; BURBAGE, M. B. Toxicity of *Jatropha curcas* seeds from Mexico to rats and mice. **Nutrition-Reports-International**, v.29, n.5, p.1089-1099, 1984.

PEZZATO, L. E. Alimentos convencionais e não-convencionais disponíveis para indústria da nutrição de peixes no Brasil. In: **Simpósio Internacional Sobre Nutrição de Peixes e Crustáceos**. Campos do Jordão. *Proceedings...* Campos do Jordão, Brasil: CBNA, p.33-52, 1995.

PEZZATO, L. E.; MIRANDA, E. C.; BARROS, M. M.; PINTO, L. G. Q.; FURUYA, W. M. e PEZZATO, A. C. Digestibilidade de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Rev. Bras. de Zootec.**, v.31, n.4, p.1595-1604, 2002.

RAKSHIT, K. D.; DARUKESHWARA, J.; RATHINA RAJ, K.; NARASIMHAMURTHY, K.; SAIABABA, P. & BHAGYA, S. Toxicity studies of detoxified *Jatropha* meal (*Jatropha curcas*) in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, p.3621-3625, 2008.

REFSTIE, S.; KORSOEN, O. J.; STOREBAKKEN, T.; BAEVERFJORD, G.; LEIN, I. & ROEM, A. J. Differing nutritional responses to dietary soybean meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture**, v.190, n.49-63, 2000.

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.

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.; IZQUIERDO, M. S.; MOYANO, F. J.; SOCORRO, J.; VERGARA, J. M.; MONTERO, D. & FERNANDEZ-PALACIOS, H. 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.

SBRT – **Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas**. Ministério da Ciência e Tecnologia. Disponível em: <http://sbrt.ibict.br>. 2006. Acesso em Agosto de 2007.

SBRT – **Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas**. Ministério da Ciência e Tecnologia. Disponível em: <http://sbrt.ibict.br>. 2005. Acesso em Agosto de 2007.

SILVA, M. R. & SILVA, M. A. A. P. Fatores antinutricionais: inibidores de proteases e lectinas – Revisão. **Rev. Nutr.**, Campinas, jan./abr., v.13, n.1, p.3-9, 2000.

---

## **CAPÍTULO – II**

---

**Farelo de pinhão manso (*Jatropha curcas*) sobre o desempenho de alevinos de tilápia do Nilo**

Artigo adaptado às normas da revista **Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB)**

\* Autor para correspondência

Rosângela do Nascimento Fernandes

Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP - Botucatu

Caixa Postal 560, 18618-000, Botucatu – SP, Brasil.

fone: +5514 3811 7237

fax: +5514 3811 7197

e-mail: [rosangelazootecnista@gmail.com](mailto:rosangelazootecnista@gmail.com)

**Resumo** - O farelo de pinhão manso (*Jatropha curcas*) é um ingrediente protéico que se apresenta como possível substituto alternativo do farelo de soja nas rações. Entretanto, faltam informações a respeito de seu valor nutritivo e da ação dos fatores antinutricionais presentes, para peixes. Por 90 dias foi realizado experimento para avaliar o efeito da inclusão do farelo de pinhão manso (FPM) em dietas para tilápia do Nilo. Foram utilizados 240 peixes com  $13,82 \pm 0,39$  g de peso médio inicial e foram distribuídos em 30 aquários de 250L num delineamento inteiramente casualizado. Os peixes foram alimentados com dietas (isoprotéicas = 32,00% PB, isoenergéticas = 4000 kcal ED/kg e isofibrosas = 8,7% de FB), contendo níveis crescentes de inclusão de FPM (0,0; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 e 16,0%). A composição química do FPM, o consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA), porcentagem de mortalidade (MORT%) e índice hepatossomático (IHS) foram avaliados. Aos 45 e 90 dias todos os peixes foram anestesiados e pesados. Um peixe por aquário foi sacrificado para determinar a proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), umidade (UM) e cinzas das carcaças. Os valores de UM, cinzas e EE diminuíram com a inclusão de FPM na ração ( $P < 0,05$ ). Peixes alimentados com 2, 4 e 8% de FPM apresentaram maior teor de PB. Esta diferença foi provavelmente devido ao menor teor de EE desses peixes. Observou-se efeito quadrático negativo para as variáveis GP e CR e efeito quadrático positivo para a CA. A equação de regressão demonstrou que valores acima de 5,55% de inclusão de farelo de pinhão manso são significativamente prejudiciais para o desenvolvimento dos peixes. O IHS apresentou efeito linear negativo de acordo com o aumento do nível de FPM na dieta. Os peixes do tratamento 16%FPM apresentaram menor tempo de vida e 100% de mortalidade, indicando a alta toxicidade do FPM. As tilápias que consumiram FPM apresentaram sinais de anorexia, natação errática, apatia, boca e opérculos hemorrágicos, olhos escuros, escoliose e inanição. Por causa da ação dos fatores antinutricionais sobre o desempenho de tilápia do Nilo e na saúde, o FPM não é recomendado para ser usado em dietas para tilápia do Nilo.

**Termos para indexação:** Fatores antinutricionais, inclusão, intoxicação, oleaginosa, *Oreochromis niloticus*.

### **Jatropha curcas meal (*Jatropha curcas*) on performance of Nile tilapia fingerlings**

**Abstract** - *Jatropha curcas* meal is a vegetable protein-rich ingredient which could be used in animal diets as a soybean meal substitute. Otherwise, information is lacking regarding to its nutritional value and the effect of antinutritional factors for fish. A 90-day feeding trial was performed to evaluate the effect of *Jatropha* meal (JM) inclusion in diets for Nile tilapia. Two hundred and forty fish with  $13.82 \pm 0.39$ g mean initial weight were randomly assigned to 30 250l-aquaria in a completely randomized design. Fish were fed diets (isonitrogenous = 32.00% DP, isoenergetic = 4000 kcal GE/kg diet and same fiber level = 8.7% CF) containing graded JM levels (0.0, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 and 16.0%). *Jatropha* meal chemical composition, feed intake (FI), weight gain (WG), feed conversion ratio (FCR), mortality and hepatosomatic index (HSI) were evaluated. At 45 and 90 days all fish were anesthetized and weighed. One fish per aquarium was killed to determine dry matter (DM), ash, crude protein (CP) and ether extract (EE) content of fish carcass. Ash, DM and EE content reduced according to JM inclusion levels ( $P < 0.05$ ). Fish fed 2, 4 and 8% JM had higher CP content. This difference was probably due to the lower EE content of these fish. A negative quadratic effect was observed for WG and FI while positive quadratic effect was observed for FCR. The regression equation demonstrated that inclusion JM levels above 5.55% depressed fish growth. HSI showed negative linear effect according to increasing JM level in the diet. Fish fed 16% JM showed the lowest life span and completely died before the end of the experiment, indicating the high toxicity of JM. Tilapia fed JM showed anorexia signs, erratic swimming,

hemorrhagic mouth and operculum, dark eyes and scoliosis. Due to antinutritional factor on Nile tilapia performance and health, JM is not recommended to be used in Nile tilapia diets.

**Index terms:** Antinutritional factors, intoxication, oleaginous, *Oreochromis niloticus*, replacing.

## Introdução

A maior parte do custo total da produção industrial de peixes em sistemas intensivos provém da alimentação. Em função dessa alta participação, pesquisas estão sendo direcionadas para o uso de alimentos alternativos em substituição aos tradicionais, com objetivo de se reduzir os custos de produção.

Diversos alimentos como subprodutos da agroindústria brasileira já foram usados com sucesso como alternativa protéica em rações comerciais como, por exemplo, os farelos de soja, de algodão e, de girassol, as farinhas de vísceras, de penas e a silagem de peixe, entre outros (El-Sayed, 1999). Para que esses alimentos fossem aceitos comercialmente, previamente foram realizadas análises químicas e testes alimentares, onde determinou-se o valor nutritivo destes ingredientes. Entretanto, a assimilação de nutrientes, depende da capacitação e adaptação do organismo animal. Deste modo, Higuera (1987) afirmou que o resultado desta absorção pode variar em função da espécie, das condições ambientais, da quantidade e da qualidade dos alimentos, da proporção relativa entre os nutrientes e, dos processos tecnológicos que o alimento foi submetido.

O farelo de pinhão manso (*Jatropha curcas*) é proveniente da extração de óleo da semente do pinhão manso. Essa oleaginosa possui grande enfoque atual devido ao programa brasileiro de biocombustível. Por possuir alto teor protéico (Makkar et al., 1997; Francis et al., 2001; Martinez-Herrera, 2006) e ser rico em fósforo e potássio (Heller, 1996; Nunes, 2007), o farelo de pinhão manso (FPM) é considerado um alimento alternativo importante na dieta animal.

Para que um alimento seja utilizado na formulação de rações para peixes, deve-se considerar, além do seu valor nutritivo determinado por análises laboratoriais, os efeitos dos

fatores antinutricionais, que pode mudar as qualidades do alimento e torná-los potencialmente tóxico aos animais (Pezzato et al., 2002).

A torta ou farelo de pinhão manso apresenta saponina, fitato, inibidor de protease, lectina e éster de forbol como fatores antinutricionais. Porém, a maioria desses fatores são termolábeis (Aderibigbe et al., 1997) e, o éster de forbol é auto-oxidável quando estocado em condições adversas (Chivandi et al., 2006).

Com a utilização de diferentes plantas oleaginosas como opção para produção de biodiesel, novos subprodutos se apresentam com potencial de uso na nutrição animal. Por isso, há grande expectativa de crescimento do cultivo do pinhão manso. Entretanto, são poucas as informações sobre o seu valor nutritivo e dos limites de utilização da torta e/ou farelo resultante do processo da extração de óleo da semente. Nesse sentido, essa pesquisa teve por objetivo, avaliar o farelo de pinhão manso em dietas práticas para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) com base no desempenho e composição corporal.

## Material e Métodos

Essa pesquisa foi realizada na UNESP - Universidade Estadual Paulista, na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos (*AquaNutri*), Campus de Botucatu, unidade integrada ao Caunesp, São Paulo, Brasil.

### Confecção das dietas

Foram formuladas seis rações contendo diferentes níveis de inclusão do farelo de pinhão manso. A dieta controle (0%FPM) foi formulada com base nas exigências nutricionais da tilápia e confeccionada à base de farelo de soja como fonte protéica principal. Cinco níveis de inclusão 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 e 16,0% do farelo de soja pelo farelo de pinhão manso constituindo os tratamentos 1%FPM, 2%FPM, 4%FPM, 8%FPM e 16%FPM respectivamente (Tabela 1). As rações experimentais foram formuladas com base nas exigências em nutrientes e energia bruta para a tilápia do Nilo, e se apresentaram isoenergéticas (4000 kcal/kg EB), isofibrosas (8,7% de FB) e isoprotéicas (32,0% de PB).

Todos os ingredientes das rações foram moídos e homogeneizados. Logo após, adicionou-se água a 55,0°C e a mistura foi peletizada e seca em estufa de circulação forçada de ar a 55,0°C/24 horas. Em seguida, os grânulos foram fracionados em diferentes diâmetros médios, ajustando-se ao tamanho da boca dos animais, e posteriormente armazenados a -18,0°C até a utilização.

### Sistema experimental e peixes

Foram selecionados 240 alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) invertidos sexualmente com peso médio inicial de  $13,82\text{g}\pm 0,39\text{g}$  provenientes da mesma desova, os quais foram aleatoriamente estocados em 30 aquários de 250 L, na densidade de oito peixes/aquário. Os tratamentos experimentais foram aleatoriamente distribuídos nos aquários, os quais dotados de sistema de recirculação de água, com um biofiltro de 1000 L para cada conjunto de aquários, mantendo a qualidade físico-química da água adaptada para a tilápia. Por meio de termostato digital, pode-se manter a temperatura por volta de  $26^{\circ}\text{C}\pm 0,34$ , dentro da faixa de conforto para a espécie.

### Procedimento experimental

Os peixes foram alimentados até saciedade aparente quatro vezes ao dia: às 8h30, 11h30, 14h30 e às 17h30 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 por meio de equipamento medidor YSI 556 MPS® apresentando  $6,10 \pm 0,33$  mg/L de oxigênio dissolvido e pH de  $7,01 \pm 0,05$ . Os aquários foram sifonados semanalmente para a limpeza e retirada das fezes dos aquários, resultando na renovação de aproximadamente 20,0% do volume total da água do sistema.

Os peixes foram pesados (no início, aos 45 e 90 dias) e o consumo da ração (CR) quantificado para a avaliação do ganho de peso (GP) e taxa de conversão alimentar (CA). Ao final do período experimental foi quantificada a taxa de mortalidade (%MORT) e o índice hepatossomático (IHS). Estes índices foram obtidos de acordo com as seguintes fórmulas:

$$\%GP = \frac{Pf - Pi}{Pi} \times 100$$

Onde:

GP = ganho de peso;

Pf = peso final (g);

Pi = peso inicial (g).

$$CA = \frac{CR}{GP}$$

Onde:

CA = conversão alimentar;

CR = consumo de ração;

GP = ganho de peso.

$$IHS = 100 \times \frac{\text{peso do fígado}}{\text{peso vivo total}}$$

### 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 UNESP – Câmpus de Botucatu. As análises de matéria seca (MS) umidade (UM), cinzas, proteína bruta (PB), fibra bruta (FB) e extrato etéreo (EE) 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, eutanasiados e determinados os valores químicos da composição corporal (AOAC, 2000). Desses peixes foram retiradas as escamas antes de serem totalmente moídos e, logo em seguida, guardados em frascos e armazenados a  $-18,0^{\circ}\text{C}$  até posterior análise.

### Delineamento experimental e análises estatísticas

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com seis tratamentos e cinco repetições. Para a avaliação dos resultados utilizou-se a técnica da análise de variância e quando constatada diferença significativa entre os tratamentos, aplicou-se análise de regressão para determinar o comportamento dos dados. Aplicou-se, ainda, o teste Kruskal-Wallis, complementado com as comparações múltiplas de Dunn e o teste de Tukey quando a regressão não foi significativa. Todas as análises foram realizadas utilizando-se o pacote computacional SisVar, ao nível de 5,0% de significância (Jar, 1999).

## **Resultados e Discussão**

A análise química do FPM apresentou 91,44% de matéria seca (MS), 3063 kcal/kg de energia, 28,94% de proteína bruta (PB), 40,84% de fibra bruta (FB), 6,72% de extrato etéreo (EE) e 4,93% de cinzas. Os valores encontrados, exceto o EE, corroboram os encontrados por Neiva Júnior et al. (2007) e Cleef et al. (2007) quando avaliaram a torta de pinhão manso. O valor do EE foi menor, provavelmente pela diferença no processo de extração do óleo. O alto conteúdo em fibra bruta deve-se à variedade da planta, podendo ser possível fator limitante do consumo desse alimento.

Os valores médios de ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA), consumo de ração (CR) e o índice hepatossomático (IHS) dos peixes alimentado com rações contendo níveis crescentes de inclusão de FPM estão apresentados na Tabela 2.

A composição química da carcaça dos peixes que consumiram as rações contendo níveis crescentes de FPM está apresentada na Tabela 3. O valor da umidade (UM) da carcaça diminuiu significativamente assim como os valores de extrato etéreo ( $P < 0,05$ ), conforme o aumento da inclusão de FPM na ração, assim como os valores de cinzas. A maior composição química da carcaça em proteína bruta (PB) foi apresentada pelos peixes do tratamento com 2%FPM, 4%FPM e 8%FPM de inclusão de FPM. Provavelmente em resposta à baixa quantidade de extrato etéreo (EE) apresentada nestes mesmos tratamentos.

Observou-se efeito quadrático negativo para as variáveis de GP (45 e 90 dias) e CR e, efeito quadrático positivo para a variável CA (45 e 90 dias), em resposta aos níveis de inclusão de FPM na ração. Os níveis de inclusão de FPM que resultaram no menor GP aos 45 dias e 90 dias foram de 12,20 e 5,55%, respectivamente. Isso indica que com o tempo, o nível de inclusão de FPM tolerável para o GP, foi reduzido. Para o CR, estimou-se o ponto de mínima de 12,31% de inclusão de FPM e, aos 45 e 90 dias, a pior CA foi de 5,57 e 6,54%, respectivamente. O IHS apresentou efeito linear negativo (Figura 1) conforme o aumento de inclusão de FPM na ração.

Na Tabela 4 estão apresentados os resultados da porcentagem de mortalidade (MORT%) e tempo de vida em dias dos peixes. Os peixes do tratamento com 16%FPM apresentaram menor tempo de vida e 100% de mortalidade, indicando a alta toxicidade presente no FPM.

As tilápias que consumiram níveis acima de 2% de FPM apresentaram, neste estudo, sinais de anorexia, natação errática, apatia, boca e opérculos hemorrágicos, olhos escuros, escoliose e inanição (Figura 2).

Houve boa aceitabilidade das dietas pelos peixes em todos os tratamentos no início do experimento, porém, após uma semana, os peixes do tratamento 16%FPM diminuíram drasticamente o consumo de ração. Conseqüentemente a esse sinal, duas a três semanas após, os peixes do tratamento 8%FPM também apresentaram o mesmo comportamento. Este comportamento se estendeu até o fim do período experimental abrangendo também os peixes do tratamento 2%FPM. Este tipo de comportamento também foi descrito por outros autores (Robaina et al., 1995) e, segundo estes, isso pode estar associado à alta sensibilidade do peixe às propriedades organolépticas presente nessas dietas.

Os resultados deste estudo demonstraram que o desenvolvimento do animal foi prejudicado pela inclusão do FPM na dieta. Makkar et al. (1997) descreveram diversas substâncias antinutricionais presentes nas sementes de algumas variedades da planta do pinhão manso. Sendo assim, Francis et al. (2001) destacaram os principais: inibidores de tripsina, lectina, saponina, fitato e o éster de forbol. Dentre estes, exceto o éster de forbol, também estão presentes no farelo de soja e, são desativados pelo processamento térmico. Dessa forma, alguns sinais clínicos em animais apresentados na literatura sobre o farelo de soja, também foram observados nos peixes do presente estudo. Porém, é difícil descrever qual desses fatores antinutricionais proporcionaram tais sinais de intoxicação nestes peixes.

Refstie et al. (1998) descreveram a piora da conversão alimentar e do crescimento do salmão do Atlântico (*Salmo salar*) resultado do baixo consumo de ração. Ratos apresentaram perda de peso, diminuição do crescimento, da conversão alimentar e da taxa de utilização protéica ao consumirem rações que continham inibidores de protease e lectina (Armour et al., 1998). Extratos purificados de farelo de soja e de proteína isolada de soja contendo saponina *Quillaja* foram fornecidos para o salmão “chinook” (*Oncorhynchus tshawytscha*) e truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*). Essas dietas provocaram danos na mucosa intestinal, grande redução de consumo e do crescimento desses peixes (Bureau et al., 1998). Robaina et al.

(1995) sugeriram que os baixos valores de digestibilidade e alterações histológicas no fígado de juvenis de dourada (*Sparus aurata*) foram causadas pelo fitato. Isso ocorreu devido a ação do fitato na redução da disponibilidade dos minerais e prejudicando a digestibilidade da proteína, pela formação do complexo proteína-ácido fítico, diminuindo a absorção dos nutrientes e causando danos na região do ceco pilórico do intestino (Francis et al., 2001). Becker & Makkar (1998) relataram a rejeição do alimento, diminuição do crescimento e produção de muco fecal em carpa comum (*Cyprinus carpio*) ao consumirem níveis acima de 31 ppm de éster de forbol na dieta.

Tanto o fitato quanto o éster de forbol podem estar relacionado aos demais sinais clínicos apresentados pelos peixes deste estudo como anorexia, escoliose, crescimento reduzido, piora na conversão alimentar e comportamento apático entre outros. Entretanto, alguns desses sinais estão relacionados à deficiência em diversas vitaminas e minerais (Tacon, 1992; Kubitza, 1999). Fator este aumentado com o baixo consumo de alimento.

A diminuição do consumo ou simplesmente o não consumo da ração, proporciona uma série de transtornos relacionados ao metabolismo, entre eles a quantidade de alimento ingerida e a qualidade deste (Schmidt-Nielsen, 1996). Sem o consumo de ração o animal está utilizando de maneira menos eficiente o aporte energético proveniente do alimento que é direcionado à atividade externa e manutenção interna do organismo e, ainda, suprimindo substâncias específicas para sua conservação e crescimento. Entre as substâncias específicas estão os aminoácidos, vitaminas e outros nutrientes essenciais, além de vários minerais e outros elementos. A escassez ou falta desses nutrientes, causam o estresse metabólico, podendo aumentar todos os sinais relatados por fatores antinutricionais.

Outra causa independente à privação do consumo está relacionada a fatores como processamento da dieta ou estocagem, lixiviação de vitaminas na água, deficiências devido à

presença de antivitaminas, presença de antibiótico na ração e estado de estresse e imunocompetência do animal (Tacon, 1992).

Os resultados da análise química das carcaças demonstraram que a porcentagem de umidade diminuiu conforme o aumento do nível de FPM nas rações. Isso pode estar relacionado ao crescimento reduzido desses peixes, apresentando menor musculatura e, conseqüentemente menos compostos químicos. Efeito semelhante apresentou as carcaças de juvenis de tilápia do Nilo que consumiram níveis crescentes de folha de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) que contém saponinas, ácido fítico e taninos (Richter et al., 2003).

Na composição corporal das carcaças, os valores de cinzas demonstraram diferenças significativas ( $P < 0,05$ ). Porém, o melhor resultado foi representado pelo tratamento controle (0%FPM), se assemelhando à média de cinzas das carcaças de tilápias no estudo de Richter et al. (2003) (3,95%).

O alto valor de proteína bruta (PB) apresentado pelos peixes dos tratamentos 2%FPM, 4%FPM e 8%FPM, assemelha-se aos obtidos em carcaças de tilápias (68,6% de PB) que consumiram *spirulina*, alga rica em proteína (Takeuchi et al., 2002). Esses valores são similares ao da carcaça inicial, indicando que a dieta não influenciou na composição final da carcaça. Os menores valores de PB apresentados pela carcaça dos peixes que consumiram os níveis 0%FPM e 1%FPM podem estar relacionados à digestibilidade da proteína e à maior quantidade de gordura presente na carcaça. Estes valores são semelhantes ao apresentado no tratamento controle do trabalho de Richter et al. (2003) (53,2% de PB, valor calculado) onde tilápias do Nilo consumiram níveis crescentes de folhas de moringa. Outras diferenças podem estar relacionadas à composição química entre os estudos e ao consumo de ração pelos peixes.

Os resultados de EE nos tratamentos 0%FPM e 1%FPM estão elevados quando comparado com outros estudos (Takeuchi et al., 2002; El-Saidy & Gaber, 2005; Ochang et al., 2007) que se situam por volta de 4 a 20% de gordura bruta. Entretanto, os valores de EE das

carcaças dos peixes dos demais tratamentos apresentam-se de forma decrescente, semelhantemente ao apresentado por Richter et al. (2003). Esses valores decrescentes corroboram o consumo de ração do presente estudo, indicando que o depósito de gordura foi prejudicado conforme houve a diminuição da ingestão de alimento.

O índice hepatossomático (IHS) apresentou queda linear conforme o aumento da inclusão de FPM na dieta, revelando a diminuição da quantidade de gordura armazenada no fígado dos peixes que receberam os tratamentos com maior inclusão de FPM. Efeito semelhante obteve Richter et al. (2003) ao substituírem gradativamente folhas de moringa na dieta de tilápias. Entretanto, o IHS se relacionou com a deposição de gordura apresentada pelas carcaças dos peixes.

A alta mortalidade e o menor tempo de vida apresentados pelos peixes do tratamento com 16%FPM demonstraram a alta toxicidade deste farelo. Outro fator relevante para a elevada taxa de mortalidade foi o baixo consumo apresentado pelos peixes deste tratamento, o que causou inanição e, conseqüentemente, morte dos mesmos. A literatura apresenta casos semelhantes em bezerros que consumiram níveis crescentes da semente de pinhão manso, resultando na morte destes animais (Ahmed & Adam, 1979). Segundo Rakshit et al. (2008) só a presença de éster de forbol na dieta para ratos foi capaz de induzir perda de peso, por causar efeitos significativos no consumo e na taxa de crescimento dos mesmos.

Conforme observado, sugere-se que o FPM, apesar de conter elevado conteúdo protéico, não deve ser utilizado na alimentação de alevinos de tilápia do Nilo sem ser detoxicado. Recomenda-se que novos estudos sejam realizados avaliando sua digestibilidade e posteriormente seu potencial nutritivo na forma detoxicada, no sentido de se conhecer melhor essa fonte alternativa de proteína para os animais.

### **Conclusões**

A inclusão de farelo de pinhão manso ração provoca efeitos deletérios fatais em alevinos de tilápia do Nilo devido a presença de fatores antinutricionais em sua composição, logo, não deve ser utilizado na alimentação destes peixes.

### **Agradecimentos**

À Gisele Setznagl, funcionária do Laboratório de Bromatologia do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal da UNESP pelo auxílio nas análises químicas.

## Referências

AHMED, O.M.M. & ADAM, S.E.I. Effects of *Jatropha curcas* on calves. **Veterinary Pathology**, v.16, p.476-482. 1979.

ADERIBIGBE, A.O.; JOHNSON, C.O.L.E.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. & FOIDL, N. Chemical composition and effect of heat on organic matter- and nitrogen-degradability and some antinutritional components of *Jatropha* meal. **Animal Feed Science Technology** v.67, p.223-243, 1997.

AOAC. Official Methods of Analysis. **Association of Official Analytical Chemist**, EUA. 2000.

ARMOUR, J.C.; PERERA, R.L.C.; BUCHAN, W.C. & GRANT, G. Protease Inhibitors and Lectins in Soya Beans and Effects of Aqueous Heat-Treatment. **J. Sci. Food Agric.** v.78, p.225-231, 1998.

BECKER, K. & MAKKAR, H.P.S. Effect of phorbol esters in carp *Cyprinus carpio* L. **Vet. Hum. Toxicol.** v. 40, p.82–86, 1998.

BUREAU, D.P; HARRIS, A.M; & YOUNG CHO, C. 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.

CHIVANDI, E.; ERLWANGER, K.H.; MAKUZA, S.M.; READ, J.S. & MTIMUNI, J.P. Effects Of Dietary *Jatropha curcas* Meal on Percent Packed Cell Volume, Serum Glucose, Cholesterol and Triglyceride Concentration and Alpha-Amylase Activity of Weaned Fattening Pigs. **Research Journal of Animal and Veterinary Sciences** v.1, n.1, p.18-24, 2006.

CLEEF, E.H.C.B; JÚNIOR, A.P.N; PARDO, R.M.P.; FILHO, J.C.S.; NETO, P.C. e FRAGA, A.C. Composição Química e Limitações da Utilização da Torta de Pinhão Manso (*Jatropha curcas*) na Alimentação Animal. In: IV CONGRESSO BRASILEIRO DE PLANTAS OLEAGINOSAS, ÓLEOS, GORDURAS E BIODIESEL. 2007, Varginha. **Anais...** Varginha, 2007. p.1271-1275.

EL-SAIDY, D.M.S.D. & GABER, M.M.A. Effect of dietary protein levels and feeding rates on growth performance, production traits and body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) cultured in concrete tanks. **Aquaculture Research**, v.36, p. 163-171, 2005.

EL-SAYED, ABDEL-FATTAH M. Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, *Oreochromis spp.* **Aquaculture**, v.179, p. 149–168, 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, 2001.

HELLER, J. **Physic nut. *Jatropha curcas* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops.** International Plant Genetic Resources Institute. pp 66, 1996.

HIGUERA, M. DE L.A. Diseños e métodos experimentales de evaluación de dietas. In: MONTEROS, J.A.E. DE LOS, LABARTA, M. (ed.). Nutrición en Acuicultura II. Madrid: **Comis Asesora de Investigación Científica y Técnica**, p. 291-318, 1987.

JAR, J.U. **Biostatistical Analysis**, 4<sup>th</sup> ed. Prentice-Hall, New Jersey, 663p, 1999.

KUBITZA, F. **Nutrição e alimentação dos peixes cultivados.** 3<sup>a</sup> Ed., Jundiaí. 126p., 1999.

MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K.; SPORER, F. & WINK, M. Studies on Nutritive Potential and Toxic Constituents of Different Provenances of *Jatropha curcas*. **J. Agric. Food Chem.**, v.45, p.3152-3157, 1997.

MARTÍNEZ-HERRERA, J.; SIDDHURAJU, P.; FRANCIS, G.; DÁVILA-ORTÍZ, G. & BECKER, K. Chemical composition, toxic/antimetabolic constituents, and effects of different treatments on their levels, in four provenances of *Jatropha curcas* L. from Mexico. **Food Chemistry**, v. 96, p. 80–89, 2006.

NEIVA JÚNIOR, A.P.; CLEEF, E.H.C.B.V.; PARDO, R.M.P.; SILVA FILHO, José Cleto ; CASTRO NETO, P.; FRAGA, A.C. Subprodutos Agroindustriais do Biodiesel na Alimentação de Ruminantes. In: II CONGRESSO DA REDE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DO BIODIESEL. **Anais...** Brasília, Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel. 2007.

NUNES, C.F. Caracterização de frutos, sementes e plântulas e cultivo de embriões de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.). **Dissertação** - Mestrado em fitotecnia – Universidade Federal de Lavras. Lavras, MG. 78p., 2007.

OCHANG, S.N.; FAGBENRO, O.A. & ADEBAYO, O.T. Influence of Dietary Palm Oil on Growth Response, Carcass Composition, Haematology and Organoleptic Properties of Juvenile Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Pakistan Journal of Nutrition**, v.6, n.5, p. 424-429, 2007.

PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C.; BARROS, M.M.; PINTO, L.G.Q.; FURUYA, W.M. e PEZZATO, A.C. Digestibilidade de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Rev. Bras. de Zootec.** v.31, n.4, p.1595-1604, 2002.

RAKSHIT, K.D.; DARUKESHWARA, J.; RATHINA RAJ, K.; NARASIMHAMURTHY, K.; SAIABABA, P. & BHAGYA, S. Toxicity studies of detoxified *Jatropha* meal (*Jatropha curcas*) in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p.3621–3625, 2008.

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.

RICHTER, N.; SIDDHURAJU, P.; BECKER, K. Evaluation of nutritional quality of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves as an alternative protein source for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **Aquaculture**, v.217, p.599– 611, 2003.

ROBAINA, L.; IZQUIERDO, M.S.; MOYANO, F.J.; SOCORRO, J.; VERGARA, J.M.; MONTERO, D. & FERNANDEZ-PALACIOS, H. 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.

SCHIMIDT-NIELSEN, K. **Fisiologia Animal - Adaptação e Meio Ambiente**. 5ª Edição; Livraria Santos Editora Ltda. 600pp., 1996.

TACON, A.G.J. Nutritional fish pathology. Morphological signs of nutrient deficiency and toxicity in farmed fish. **FAO Fish Technical Paper**. No. 330. Rome, FAO. 75 p., 1992.

TAKEUCHI, T.; LU, J.; YOSHIZAKI, G. & SATOH, S. Effect on the growth and body composition of juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* fed raw *Spirulina*. **Fisheries Science**; v.68, p.34–40, 2002.

## Tabelas

Tabela 1 – Formulação das dietas e composição calculada (%)

Ingrediente	Tratamento					
	Nível de inclusão de farelo de pinhão manso (%)					
	0%FPM	1%FPM	2%FPM	4%FPM	8%FPM	16%FPM
Farelo de trigo	11,00	11,50	7,68	9,00	0,00	1,00
Farelo de algodão 38	1,50	0,50	1,00	2,00	0,00	0,00
Quirera de arroz	2,50	0,00	7,99	9,00	8,00	8,00
Farelo de soja	47,50	46,50	45,50	43,50	39,50	31,50
Farinha de peixe	6,00	7,00	7,56	7,49	12,44	15,50
Milho	16,42	18,40	13,95	12,00	18,00	17,47
Celulose	5,80	5,55	5,25	4,00	3,70	0,00
L – Lisina	0,27	0,27	0,30	0,37	0,39	0,52
DL – Metionina	0,62	0,62	0,62	0,62	0,60	0,60
Triptofano	0,04	0,05	0,06	0,06	0,09	0,12
Treonina	0,60	0,60	0,62	0,65	0,66	0,72
Óleo de soja	3,75	4,16	3,70	3,50	4,80	4,75
Fosfato bicálcico	3,18	3,04	2,95	3,00	3,00	3,00
Vitamina C	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Sal comum	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Suplemento vitamínico <sup>a</sup>	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Suplemento mineral <sup>b</sup>	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
BHT <sup>c</sup>	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Farelo de pinhão manso	0,00	1,00	2,00	4,00	8,00	16,00
Óxido de crômio III	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
<b>TOTAL</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>
<b>Nutriente</b>						
Energia bruta (cal/g)	4037	4051	4037	4044	4043	4054
Proteína bruta(%)	32,06	32,05	32,00	32,04	32,00	32,03
Fibra bruta (%)	8,75	8,77	8,70	8,74	8,80	8,87
Extrato Etéreo (%)	5,94	6,31	6,35	6,39	7,86	8,54
Cálcio (%)	1,37	1,40	1,39	1,40	1,63	1,80
Fósforo (%)	0,75	0,75	0,75	0,76	0,85	0,91

<sup>a</sup>Suplemento vitamínico, níveis de garantia por kg da dieta: vitamina A, 16060 UI; vitamina D<sub>3</sub>, 4510 UI; vitamina E, 250 UI; vitamina K, 30 mg; vitamina B<sub>1</sub>, 32 mg; vitamina B<sub>2</sub>, 32 mg; pantotenato de cálcio, 80 mg; niacina, 170 mg; biotina, 10 mg; ácido fólico, 10 mg; vitamina B<sub>12</sub>, 32 µg; vitamina B<sub>6</sub>, 32 mg.

<sup>b</sup>Suplemento mineral, níveis de garantia por kg da dieta: Na<sup>2</sup>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

Tabela 2 – Valores médios de ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA), consumo de ração (CR) e índice hepatossomático (IHS) de tilápias do Nilo alimentadas com níveis crescentes de inclusão de farelo de pinhão manso na dieta (n=5).

Variáveis	Dias	Tratamento						Regressão	Sig**
		Nível de inclusão de farelo de pinhão manso (%)							
		0% FPM	1% FPM	2% FPM	4% FPM	8% FPM	16% FPM*		
GP(g)	45	39,56 ±1,21	28,21 ±3,78	16,52 ±2,33	9,64 ±0,85	5,78 ±0,70	-	Y= 34,21 - 6,28311x + 0,257519x <sup>2</sup> R <sup>2</sup> =0,91	P<0,05
	90	121,78 ±9,19	57,88 ±3,56	19,44 ±5,78	9,89 ±1,54	5,44 ±0,53	-	Y= 109,196 - 45,1707x + 4,07078x <sup>2</sup> R <sup>2</sup> =0,92	P<0,05
CA	45	1,38 ±0,05	1,70 ±0,19	1,74 ±0,16	1,91 ±0,16	1,88 ±0,17	-	Y= 1,435+0,195x-0,0175x <sup>2</sup> ; R <sup>2</sup> =0,616	P<0,01
	90	1,79 ±0,12	2,66 ±0,45	3,59 ±0,38	4,11 ±1,01	4,60 ±0,55	-	Y= 1,870 + 0,871x - 0,0666x <sup>2</sup> ; R <sup>2</sup> =0,775	P<0,01
CR (g)		1684,9 ±54,01	1204,66 ±78,06	763,98 ±65,38	564,44 ±55,25	515,06 ±17,85	188,82 ±43,12	Y= 1430,97 - 213,70x + 8,68267x <sup>2</sup> R <sup>2</sup> =0,85	P<0,05
IHS		2,49 ±0,33	2,53 ±0,71	1,78 ±0,49	1,32 ±0,28	0,72 ±0,27	-	Y= 2,472 - 0,234x R <sup>2</sup> =0,687	P<0,01

\* Morte de 100% dos peixes; \*\* Nível de significância;

Tabela 3 – Valores médios da composição química da carcaça da tilápia do Nilo alimentadas com níveis crescentes de inclusão do farelo de pinhão manso na dieta (n=5).

%	Carcaça (inicial)	Tratamento				
		0%FPM	1%FPM	2%FPM	4%FPM	8%FPM
<b>Umidade</b>	18,39	28,94a ± 0,70	25,37b ± 0,73	19,18c ± 1,36	17,26c ± 1,45	12,94d ± 1,59
<b>Proteína bruta</b>	66,21	50,90c ± 1,67	55,46c ± 3,96	65,16b ± 4,5	72,67a ± 4,70	67,75ab ± 2,09
<b>Extrato Etéreo</b>	16,85	31,03a ± 2,34	26,62a ± 4,59	14,09b ± 3,99	10,13bc ± 3,39	7,05c ± 1,50
<b>Cinzas</b>	2,06	3,82a ± 0,27	2,98ab ± 0,50	3,25ab ± 0,41	2,79b ± 0,49	2,84b ± 0,67

Médias na mesma linha com a mesma letra não são estatisticamente diferentes ( $P < 0,05$ ); Resultados expressos em 100% de Matéria Seca.

Tabela 4 – Valores medianos da porcentagem de mortalidade (Mort %) e tempo de vida (TV) de tilápias do Nilo alimentadas com dietas contendo níveis de inclusão de farelo de pinhão manso na dieta (n=5)

Variáveis	Dias	Tratamento						Sig*
		Nível de inclusão de farelo de pinhão manso (%)						
		0%FPM	1%FPM	2%FPM	4%FPM	8%FPM	16%FPM	
<b>Mort. (%)</b>		0a	0a	12,5ab	12,5ab	12,5ab	100b	P<0,01
<b>TV (dias)</b>		90 <sup>a</sup>	90 <sup>a</sup>	88,4ab	88,9ab	87,5ab	61,3b	P<0,05

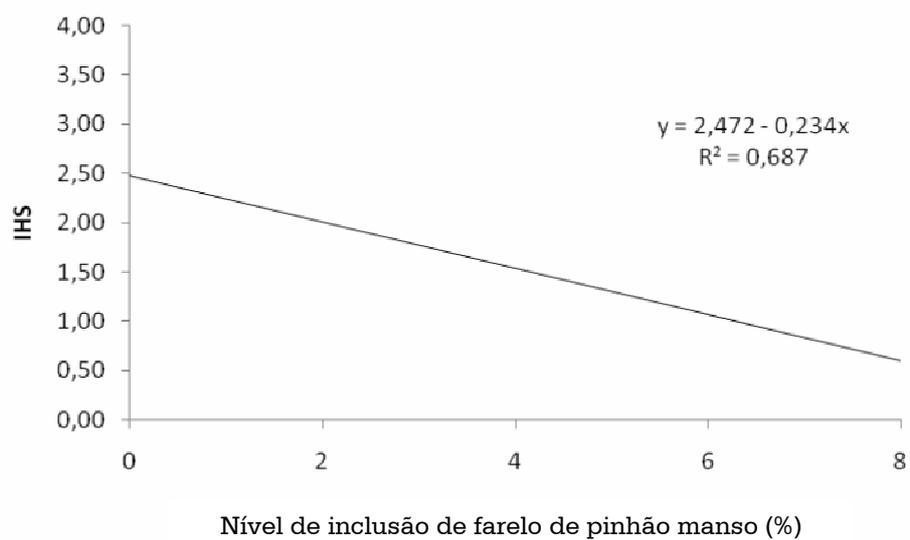
Valores medianos na mesma linha com a mesma letra não são estatisticamente diferentes, Letras maiúsculas

são para comparação entre níveis de inclusão de farelo de pinhão manso e letras minúsculas entre os dias. \*

Nível de significância.

## Figuras

Figura 1 - Efeito dos níveis crescentes de inclusão de farelo de pinhão manso na dieta sobre o índice hepatossomático (IHS) da tilápia do Nilo.



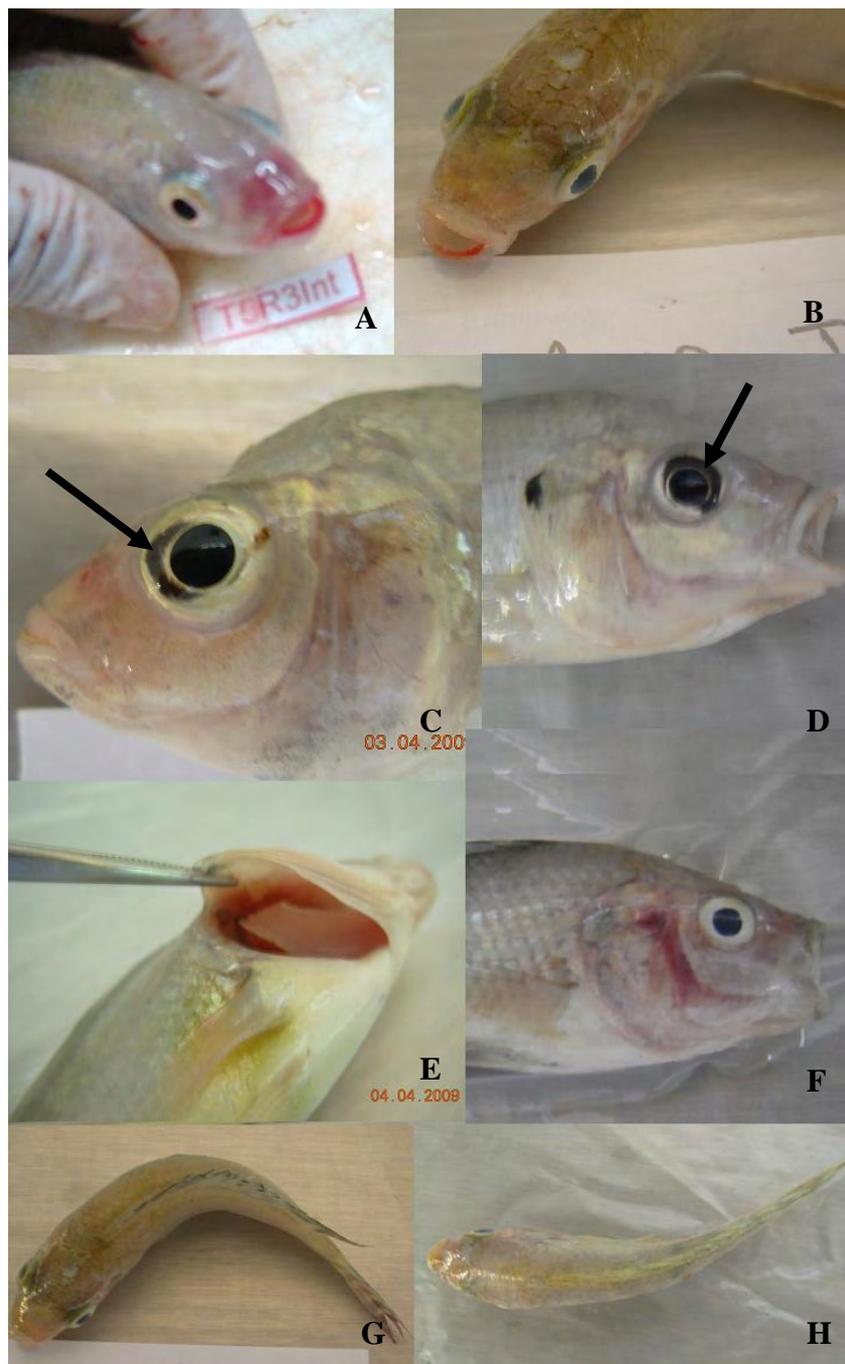


Figura 2 – Sinais clínicos observados nos alevinos de tilápia do Nilo alimentados com ração contendo níveis crescentes de FPM: A e B – boca hemorrágica; C e D – olhos escuros e opérculo hemorrágico (setas); E – brânquias pálidas; F – opérculo hemorrágico; G e H – escoliose.

---

## CAPÍTULO – III

---

**Alterações teciduais em intestino, fígado e pâncreas intra-hepático de alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de farelo de pinhão manso**

Artigo adaptado às normas da revista **Ciência Rural**

\* Autor para correspondência

Rosangela do Nascimento Fernandes

Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal – Faculdade de Medicina Veterinária e

Zootecnia – UNESP - Botucatu

Caixa Postal 560, 18618-000, Botucatu – SP, Brasil.

fone: +5514 3811 7237

fax: +5514 3811 7197

e-mail: [rosangelazootecnista@gmail.com](mailto:rosangelazootecnista@gmail.com)

## RESUMO

O farelo de pinhão manso é subproduto da extração do óleo de suas sementes e contém diversos fatores antinutricionais, além do éster de forbol, substância co-carcinogênica, que pode provocar problemas aos animais. No entanto, há falta de informação da ação dos antinutricionais presentes no farelo de pinhão manso (FPM) quando consumido pelos peixes. Neste estudo avaliou-se o efeito da administração do FPM em dietas para alevinos de tilápia do Nilo sobre parâmetros da morfometria intestinal e histopatologia de fígado e pâncreas intra-hepático. Utilizou-se 240 alevinos com peso médio inicial de  $13,82 \pm 0,39$ g distribuídos em 30 aquários (250 L/cada), num delineamento inteiramente casualizado. Os peixes foram alimentados com dietas isoprotéicas (32,0% PD) e isoenergéticas (4000 kcal EB/kg), contendo níveis crescentes de inclusão (0,0; 1,0; 2,0; 4,0, 8,0 e 16,0%) de FPM. Aos 45 e 90 dias, todos os peixes foram anestesiados e pesados. Um peixe por aquário foi eutanasiado para a retirada do fígado e intestino para análise histológica. Intestino, fígado e pâncreas intra-hepático foram avaliados. Após 45 dias houve diminuição da altura das vilosidades do intestino e aos 90 dias das vilosidades e profundidade de cripta ( $P < 0,05$ ), conforme aumento da inclusão de FPM na dieta. Aos 45 dias, os fígados dos peixes dos tratamentos 0,0; 1,0; 2,0 e 4%FPM apresentaram diversos graus de esteatose, diminuindo com o aumento da inclusão de FPM na dieta. Sinais de infiltrado inflamatório, congestão, presença de melanomacrófagos e focos de necrose aumentaram com o aumento da inclusão de FPM na dieta. O pâncreas intra-hepático se apresentou de estado normal a totalmente degenerado conforme aumento da inclusão de FPM na dieta, indicando alta atividade de inibidores de proteases na digestão de proteínas. Conclui-se que o FPM tem poderosas substâncias antinutricionais prejudiciais para a tilápia do Nilo

Palavras chave: Fatores antinutricionais, intoxicação, *Jatropha curcas*, morfometria, Oleaginosa, *Oreochromis niloticus*, patologia.

**Alterations in intestinal tissue, liver and pancreas intrahepatic of Nile tilapia fingerlings fed diets containing increasing levels of jatropha meal**

**ABSTRACT**

*Jatropha curcas* meal is a byproduct of oil extraction from its seed and contains several antinutritional factors, in addition to phorbol ester, co-carcinogenic substance that can cause problems for animals. However, there is lack of information about the action of anti-nutritional factors present in jatropha meal (JM), when fish fed. This study was undertaken to evaluate the effect of JM in diets for Nile tilapia fingerlings on intestine morphometry parameters, liver and pancreas histopathology. Two hundred and forty fish with  $13.82 \pm 0.39$ g mean initial weight were randomly assigned to 30 (250l) aquaria in a completely randomized design. Fish were fed diets to isonitrogenous (32.0% DP) and isoenergetic (4000 kcal GE/kg), containing graded JM levels (0.0, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 and 16.0%). At 45 and 90 days, all fish were anesthetized and weighed. One fish per aquarium was euthanized to liver and intestine removal for histological analysis. Intestine, liver and intrahepatic pancreas aspects were evaluated. After 45-day decrease in the height of the villi of the intestine and at 90 days of the villi and crypt depth ( $p < 0.05$ ) increase as the inclusion of JM in the diet. At 45 days, the livers of fish treatments 0.0, 1.0, 2.0 and 4%JM showed varying degrees of steatosis, decreasing as increasing the inclusion of JM in the diet. Signs of inflammatory infiltration, congestion, presence melanomacrophage and foci of necrosis increased with increasing inclusion of JM in the diet. The pancreas intrahepatic showed a normal state as fully degenerate increased inclusion of JM in the diet, indicating high activity of protease inhibitors

in digestion of proteins. In sum, the JM has powerful antinutritional substances harmful to Nile tilapia.

Key words: Antinutritional factors, intoxication, *Jatropha curcas*, morphology, oleaginous, *Oreochromis niloticus*, pathology.

## Introdução

Muitos ingredientes utilizados em rações para peixes procedem da agroindústria, como farelo de soja, de algodão e, de girassol, as farinhas de vísceras, de penas e a silagem de peixe (EL-SAYED, 1999). O farelo de pinhão manso (*Jatropha curcas*), proveniente da extração de óleo da semente do pinhão manso, possui grande enfoque atual devido ao programa brasileiro de biocombustível (PLÁ, 2008). Por possuir propriedades nutritivas atrativas para sua utilização em rações de animais, o farelo de pinhão manso é considerado um alimento alternativo importante para compor a fração protéica da dieta animal (MAKKAR et al., 1998). Entretanto, nem todo subproduto da agroindústria pode ser aproveitado na alimentação animal, pois, dependendo de sua composição química, pode causar efeitos prejudiciais ao animal.

As substâncias químicas presentes em alguns ingredientes de origem vegetal podem ser chamados de antinutricionais, que podem causar a diminuição do aproveitamento do nutriente contido nos alimentos. No farelo de pinhão manso estão presentes: inibidor de tripsina, saponina, lectina, fitato e o éster de forbol como fatores antinutricionais. Embora sejam numerosos os trabalhos sobre a ação desses fatores antinutricionais na alimentação de peixes, são raros os estudos sobre sua atividade nos órgãos-alvo utilizando o farelo de pinhão manso como alimento.

O intestino de peixes é um tubo relativamente simples, iniciando na válvula pilórica e terminando no reto, não sendo separado em delgado e grosso, como nos mamíferos. Este órgão, nos peixes, pode desempenhar outras funções além da de digestão e absorção, como auxiliar na osmorregulação ou na respiração. O fígado de teleósteos possui um considerável volume em relação ao corpo 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 é um órgão compacto que se combina com o pâncreas formando o hepatopâncreas, sendo que em outras se encontram totalmente separados (ROTTA, 2003). Esses órgãos apresentam respostas morfológicas, onde o seu conhecimento histológico tem extrema importância para a elaboração de dietas que atendam as exigências nutricionais dos peixes, pois as modificações no sistema digestório estão relacionadas com o hábito alimentar e saúde dos mesmos.

Refstie et al. (2000) observaram que a truta arco-íris e o salmão do Atlântico apresentaram desempenho oposto às diferentes dietas contendo farelo de soja. O salmão apresentou-se mais sensível à nova dieta provavelmente pela presença de fatores antinutricionais. Porém, as duas espécies apresentaram alterações teciduais na porção distal do intestino ao se alimentarem de dietas contendo farelo de soja.

Segundo Silva & Silva (2000), as lectinas são responsáveis pela inflamação intensa com destruição das células do epitélio intestinal, edema, hiperemia, hemorragia em tecidos linfáticos, degeneração gordurosa e necrose do fígado e lesões do miocárdio e sistema vascular de animais que ingeriram esta substância.

Os efeitos antinutricionais das saponinas estão relacionados às modificações na permeabilidade da mucosa intestinal, inibindo o transporte de alguns nutrientes e facilitando a absorção de outros compostos. Bureau et al. (1998) testaram extratos purificados de farelo de soja e de proteína isolada de soja suplementados com a saponina *Quillaja* em salmão “chinook” (*Oncorhynchus tshawytscha*) e em truta arco-íris. Foi observado que as dietas provocaram completa supressão no desempenho do salmão devido à drástica redução do consumo de ração. As trutas também apresentaram decréscimo significativo no crescimento. Em ambas as espécies foram observados danos à mucosa intestinal.

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.

Becker & Makkar (1998) observaram que a carpa comum é altamente sensível ao éster de forbol. Níveis acima de 31 ppm na dieta, induziram rejeição do alimento, diminuição do crescimento e produção de muco fecal, sem provocar mortalidade nos animais.

A fim de se avaliar os efeitos dos antinutricionais desse produto, avaliou-se a morfometria intestinal e as alterações teciduais no fígado e pâncreas intra-hepático de peixes arraçados com rações contendo níveis crescentes de farelo de pinhão manso.

### **Material e Métodos**

Essa pesquisa foi realizada na UNESP - Universidade Estadual Paulista, na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos (*AquaNutri*), Campus de Botucatu, unidade integrada ao Caunesp, São Paulo, Brasil.

A semente do pinhão manso foi esmagada pelo processo de prensa “tipo expeller”. Esta semente sofreu aquecimento durante o processo de prensagem, o qual visa melhorar o rendimento da extração. O óleo foi extraído por pressão e por esmagamento, após rompimento das células para a liberação do óleo. O material residual foi transformado em torta. Esta foi moída em triturador, obtendo-se então o farelo de pinhão manso (FPM).

Foram formuladas seis rações contendo diferentes níveis de inclusão do FPM. A dieta controle (0%FPM) foi formulada com base nas exigências nutricionais da tilápia e confeccionada à base de farelo de soja como fonte protéica principal. Cinco níveis de inclusão

1,0; 2,0; 4,0; 8,0 e 16,0% de FPM constituindo os tratamentos 1%FPM, 2%FPM, 4%FPM, 8%FPM e 16%FPM, respectivamente (Tabela 1). As rações experimentais foram formuladas com base nas exigências em nutrientes e energia bruta para a tilápia do Nilo, e se apresentaram isoenergéticas (4000 kcal/kg de EB), isofibrosas (8,7% de FB) e isoprotéicas (32,0% de PB).

Tabela 1 – Formulação das dietas e composição calculada (%)

Ingrediente	Tratamento					
	Níveis de inclusão de farelo de pinhão manso (%)					
	0%FPM	1%FPM	2%FPM	4%FPM	8%FPM	16%FPM
Farelo de trigo	11,00	11,50	7,68	9,00	0,00	1,00
Farelo de algodão	1,50	0,50	1,00	2,00	0,00	0,00
Quirera de arroz	2,50	0,00	7,99	9,00	8,00	8,00
Farelo de soja	47,50	46,50	45,50	43,50	39,50	31,50
Farinha de peixe	6,00	7,00	7,56	7,49	12,44	15,50
Milho	16,42	18,40	13,95	12,00	18,00	17,47
$\alpha$ – Celulose	5,80	5,55	5,25	4,00	3,70	0,00
L – Lisina	0,27	0,27	0,30	0,37	0,39	0,52
DL – Metionina	0,62	0,62	0,62	0,62	0,60	0,60
L – Triptofano	0,04	0,05	0,06	0,06	0,09	0,12
L – Treonina	0,60	0,60	0,62	0,65	0,66	0,72
Óleo de soja	3,75	4,16	3,70	3,50	4,80	4,75
Fosfato bicálcico	3,18	3,04	2,95	3,00	3,00	3,00
Vitamina C	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Sal comum	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Suplemento vitamínico <sup>a</sup>	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Suplemento mineral <sup>b</sup>	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
BHT <sup>c</sup>	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Farelo de pinhão manso	0,00	1,00	2,00	4,00	8,00	16,00
Óxido de crômio-III	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
<b>TOTAL</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>
<b>Nutriente</b>						
Energia bruta (cal/g)	4037	4051	4037	4044	4043	4054
Proteína bruta (%)	32,06	32,05	32,00	32,04	32,00	32,03
Fibra bruta (%)	8,75	8,77	8,70	8,74	8,80	8,87
Extrato etéreo (%)	5,94	6,31	6,35	6,39	7,86	8,54
Cálcio (%)	1,37	1,40	1,39	1,40	1,63	1,80
Fósforo disponível (%)	0,75	0,75	0,75	0,76	0,85	0,91

<sup>a</sup>Suplemento vitamínico, níveis de garantia por kg da dieta: vitamina A, 16060 UI; vitamina D<sub>3</sub>, 4510 UI; vitamina E, 250 UI; vitamina K, 30 mg; vitamina B<sub>1</sub>, 32 mg; vitamina B<sub>2</sub>, 32 mg; pantotenato de cálcio, 80 mg; niacina, 170 mg; biotina, 10 mg; ácido fólico, 10 mg; vitamina B<sub>12</sub>, 32 µg; vitamina B<sub>6</sub>, 32 mg.

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

<sup>c</sup>Antioxidante Butil hidroxitolueno

Todos os ingredientes das rações foram moídos e homogeneizados. Logo após, adicionou-se água a 55,0°C e a mistura foi peletizada e seca em estufa de circulação forçada de ar a 55,0°C/24 horas. Em seguida, os grânulos foram fracionados em diferentes diâmetros médios, ajustando-se ao tamanho da boca dos animais, e posteriormente armazenados a 18,0°C até a utilização.

Foram selecionados 240 alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), invertidos sexualmente, com peso médio inicial de 13,82g±0,39g. Estes provenientes da mesma desova, foram aleatoriamente estocados em 30 aquários de 250 L, na densidade de oito peixes/aquário. Os tratamentos experimentais foram aleatoriamente distribuídos nos aquários, dotados de sistema de recirculação de água, com um biofiltro de 1000 L para cada conjunto de aquários, mantendo a qualidade físico-química da água. Por meio de termostato digital, manteve-se a temperatura em 26°C±0,34, dentro da faixa de conforto para a espécie.

Os peixes foram alimentados até a saciedade aparente quatro vezes ao dia: às 8h30, 11h30, 14h30 e às 17h30 e manteve-se o fotoperíodo de 10L:14E durante os 90 dias experimentais. Os resultados das análises físico-químicas da água, obtidas quinzenalmente foram de 6,10 ± 0,33 mg/L de oxigênio dissolvido e pH de 7,01 ± 0,05. Os aquários foram sifonados semanalmente para a limpeza e retirada das fezes, resultando na renovação de aproximadamente 20,0% do volume total da água do sistema.

Um lote de alevinos aos 45 e 90 dias foi anestesiado com solução alcoólica de benzocaína, numa concentração de 1,5g de anestésico para 15L de água, pesados e eutanasiados, por profundamento do plano anestésico, para a remoção do fígado e intestino para análises histológicas. Aos 45 e 90 dias de experimento foi recolhido de cinco peixes por tratamento o fígado e a parte do terço inicial do intestino, o qual foi cortado no sentido longitudinal, alfinetado em placas de isopor e mergulhado em Formol. Após 24 horas de permanência no Formol a 10%, o material foi lavado por 24 horas em água corrente para a retirada do mesmo e em seguida adicionado em álcool 70,0%. 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 Histosec®. Os cortes, com cinco micrômetros de espessura, foram corados com Hematoxilina e Eosina (HE).

Realizou-se a leitura morfométrica das vilosidades e cripta do intestino. Foram efetuadas trinta mensurações para cada parâmetro medido. No fígado e pâncreas foram avaliados a disposição dos hepatócitos e aspectos patológicos.

As leituras das lâminas histológicas foram realizadas com auxílio de microscópio ótico acoplado ao sistema analisador de imagens Leica (Image-Pro Plus versão 4.5.0.27) pertencente ao Departamento de Morfologia do Instituto de Biociências (IBB), UNESP - Botucatu.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com seis tratamentos e cinco repetições. Para a avaliação dos resultados utilizou-se a análise de variância e teste de Tukey quando constatada diferença significativa entre os tratamentos. Os dados foram processados utilizando-se o pacote computacional SAEG, ao nível de 5,0% de significância.

## Resultados e discussão

Foi observado aos 45 dias decréscimo significativo da altura da vilosidade do intestino e aos 90 dias da vilosidade e da profundidade de cripta ( $p < 0,05$ ) conforme aumento da inclusão de FPM na dieta (Tabela 2). A relação vilosidade:cripta do intestino de peixes que consumiram a dieta controle apresentou diminuição significativa ( $P < 0,05$ ) aos 90 dias em comparação aos 45 dias. Aparentemente houve um mecanismo de compensação, onde conforme a redução da altura da vilosidade, a cripta aumenta de tamanho suprimindo a absorção de nutrientes.

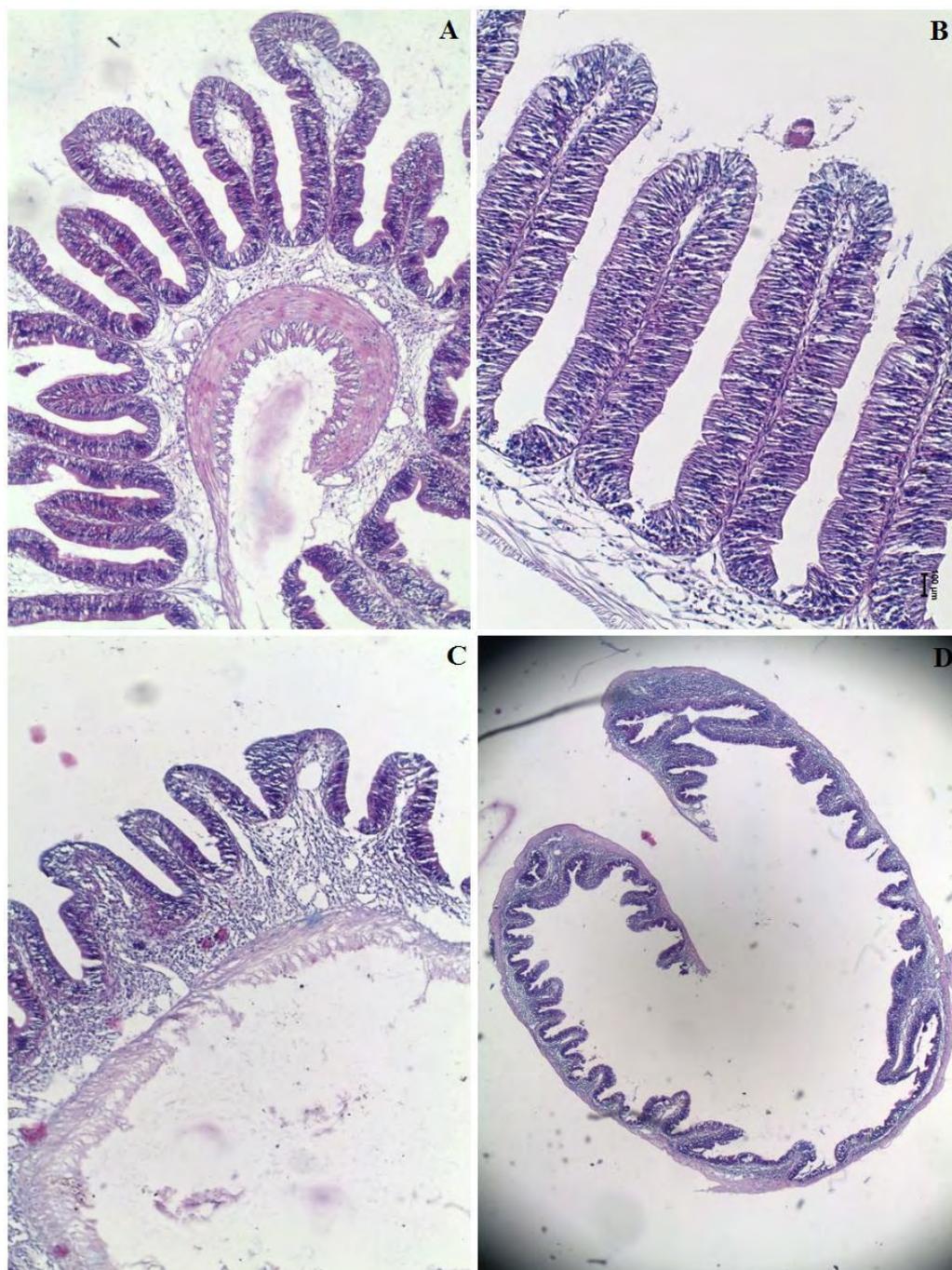
Tabela 2 – Valores médios da morfometria da vilosidade e de cripta e relação vilosidade:cripta da tilápia do Nilo alimentada com níveis crescentes de inclusão de farelo de pinhão manso na dieta ( $n=5$ ).

Dias	Parâmetro ( $\mu\text{m}$ )	Tratamento				
		Nível de inclusão de farelo de pinhão manso (%)				
		0%FPM	1%FPM	2%FPM	4%FPM	8%FPM
45	Altura de Vilo	349,56a	329,47ab	334,35ab	263,50ab	222,49b
	Profundidade de Cripta	56	55,27	49	44,96	46,12
	Relação V:C	6,23aA	6,00aA	6,86aA	5,86aA	4,83aA
90	Altura de Vilo	427,72 <sup>a</sup>	420,89a	237,56b	236,55b	188,08b
	Profundidade de Cripta	133,04 <sup>a</sup>	90,34a	45,66b	42,40b	39,19b
	Relação V:C	4,09aB	4,71aA	5,37aA	5,62aA	4,80aA

Médias na mesma linha com a mesma letra não são estatisticamente diferentes ( $P < 0,05$ ); Letras minúsculas são para comparação entre níveis de inclusão de farelo de pinhão manso e letras maiúsculas entre os dias.

As alterações morfológicas no intestino da tilápia do Nilo alimentada até os 45 dias com níveis crescentes de inclusão de farelo de pinhão manso na dieta estão apresentadas na Fotomicrografia 1. As lâminas de intestino dos peixes do tratamento 16%FPM aos 45 não

apresentaram leitura (fotomicrografia 1 - D) e aos 90 dias não há lâminas, pois houve mortalidade de todos os peixes. Foi observado diminuição do tamanho e alterações teciduais das vilosidades do intestino conforme aumento da inclusão do FPM na ração.



Fotomicrografia 1 – Alterações morfométricas no intestino da tilápia do Nilo alimentada até os 45 dias com níveis crescentes de inclusão de farelo de pinhão manso na dieta. A –

Tratamento controle (HE, 100X); **B** – Tratamento 1%FPM (HE, 200X); **C** – Tratamento 8%FPM (HE, 100X); **D** – Tratamento 16%FPM (HE, 40X).

As alterações morfométricas no intestino da tilápia do Nilo alimentada até os 90 dias com níveis crescentes de inclusão de farelo de pinhão manso na dieta estão apresentadas na Fotomicrografia 2. Foi observado diminuição do tamanho e alterações teciduais das vilosidades do intestino conforme aumento da inclusão do FPM na ração.



Fotomicrografia 2 – Alterações morfométricas no intestino da tilápia do Nilo alimentada até os 90 dias com níveis crescentes de inclusão de farelo de pinhão manso na dieta. **A** - Tratamento controle (HE, 100X); **B** - Tratamento 2%FPM (HE, 100X); **C** - Tratamento 4%FPM (HE, 40X); **D** - Tratamento 8%FPM (HE, 40X).

A Tabela 3 apresenta os valores médios de ganho de peso (GP), conversão alimentar (CA) e consumo de ração (CR) da tilápia do Nilo alimentada com níveis crescentes de inclusão de FPM na dieta. O nível de inclusão de FPM que resultou no menor GP final foi de 5,55%. Para o CR, estimou-se o ponto de mínima de 12,31% de inclusão de FPM e, ao final do período experimental a pior CA foi de 6,54%.

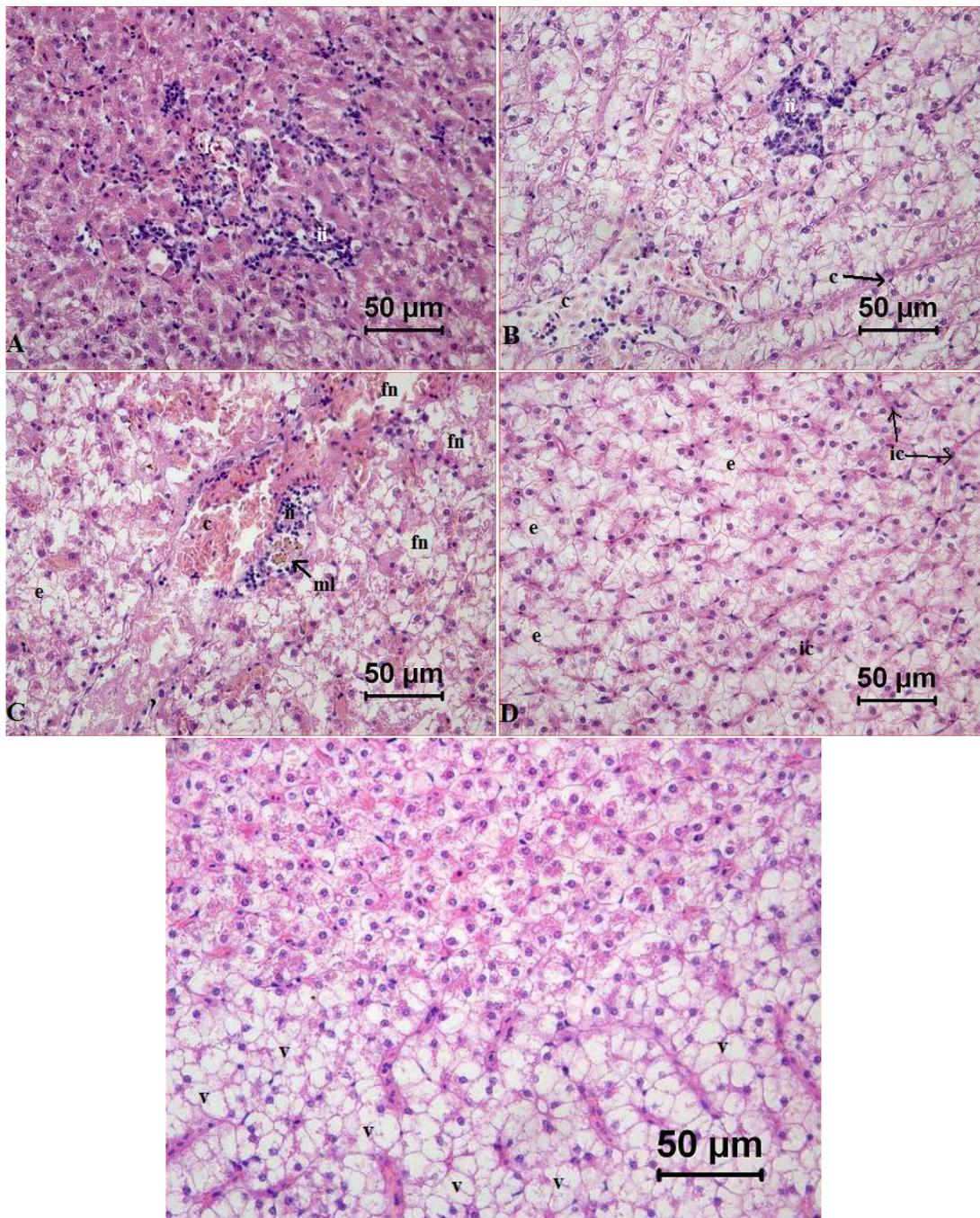
Tabela 3 – Valores médios de Ganho de Peso (GP), conversão alimentar (CA) e consumo de ração (CR) da tilápia do Nilo alimentada com níveis crescentes de inclusão de farelo de pinhão manso na dieta (n=5).

Variável	Tratamento					Regressão	Sig*
	Nível de inclusão de farelo de pinhão manso (%)						
	0%FPM	1%FPM	2%FPM	4%FPM	8%FPM		
<b>GP (g)</b>	121,78 ± 9,19	57,88 ± 3,56	19,44 ± 5,78	9,89 ± 1,54	5,44 ± 0,53	Y= 109,196-45,1707x+4,07078x <sup>2</sup> R <sup>2</sup> =0,92	P<0,05
<b>CA</b>	1,79 ± 0,12	2,66 ± 0,45	3,59 ± 0,38	4,11 ± 1,01	4,60 ± 0,55	Y= 1,870+0,871x-0,0666x <sup>2</sup> R <sup>2</sup> =0,775	P<0,01
<b>CR (g)</b>	1684,9 ± 54,01	1204,66 ± 78,06	763,98 ± 65,38	564,44 ± 55,25	515,06 ± 17,85	Y= 1430,97-213,70x+8,68267x <sup>2</sup> R <sup>2</sup> =0,85	P<0,05

\* Nível de significância;

As alterações histológicas no fígado dos peixes que consumiram dietas contendo FPM aos 45 dias estão apresentadas na Fotomicrografia 3. Os peixes que consumiram as dietas com 0%FPM até 4%FPM apresentaram aos 45 dias diversos graus de esteatose no fígado, diminuindo conforme aumento da inclusão de FPM na dieta. A partir do tratamento 4%FPM os sinais de esteatose diminuíram conforme o consumo de ração e ganho de peso foram reduzidos, indicando provável consumo energético provindo da gordura hepática.

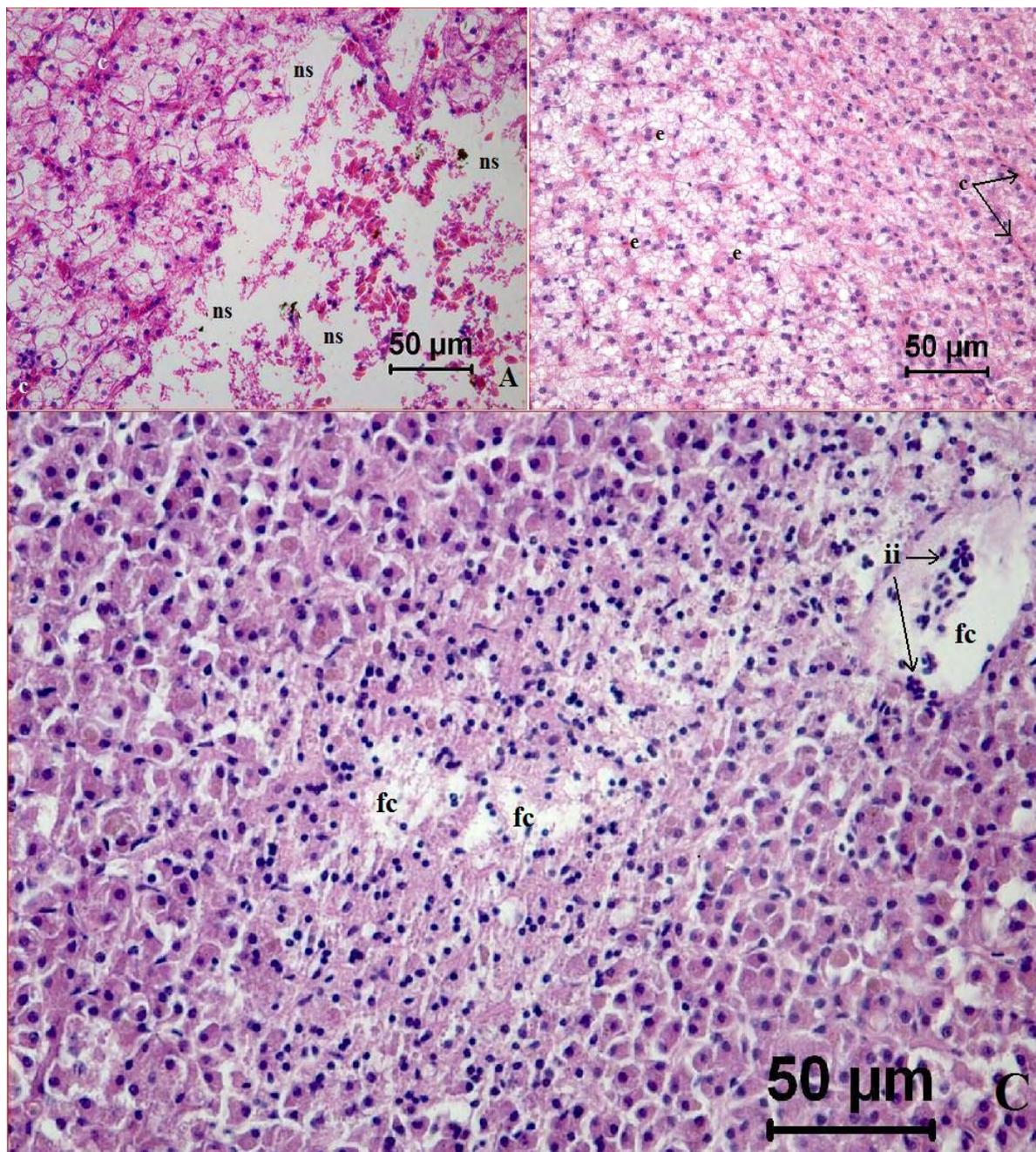
Porém, sinais de infiltrado inflamatório, congestão, desarranjo cordonal, presença de melanomacrófagos e focos de necrose aumentaram conforme o aumento de inclusão de FPM.



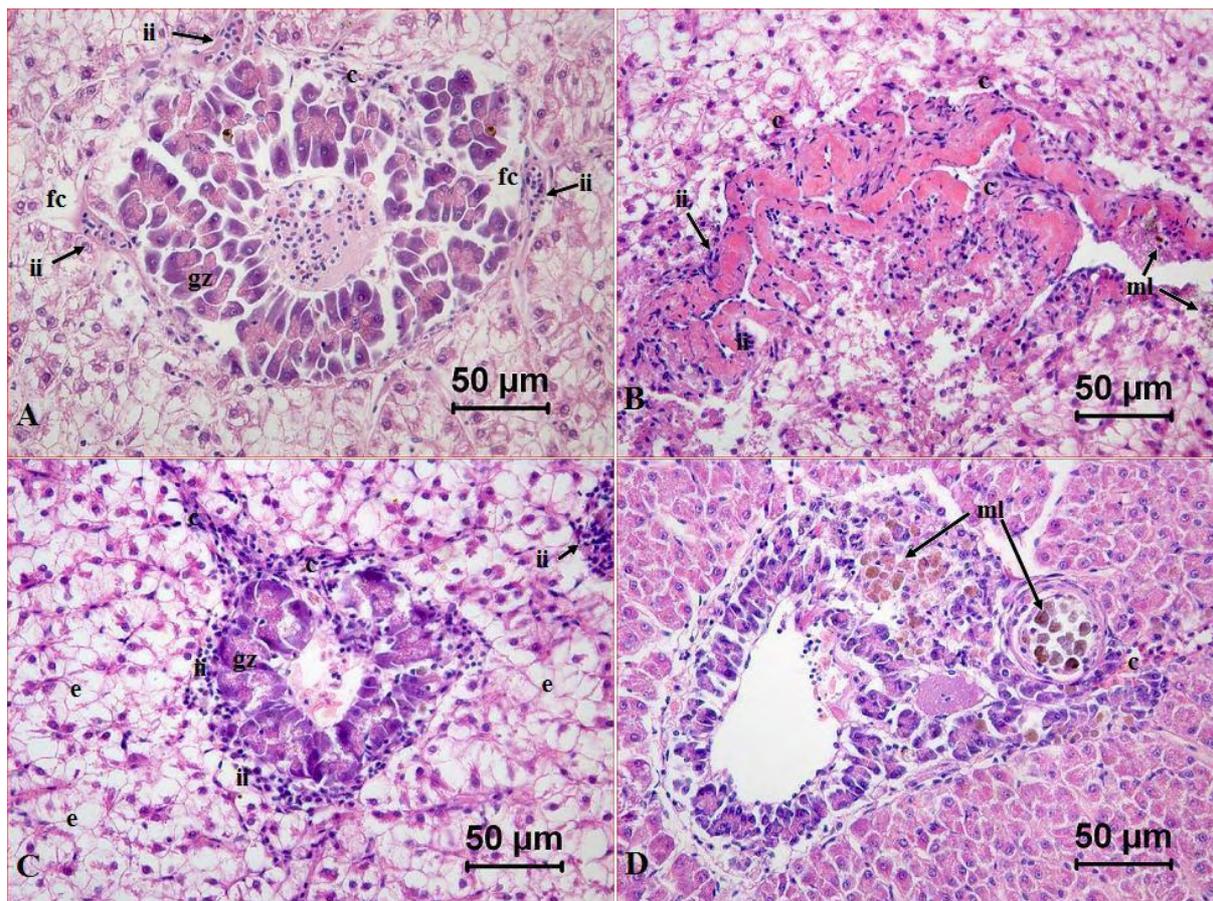
Fotomicrografia 3 – Alterações teciduais em fígado da tilápia do Nilo alimentada até os 45 dias com níveis crescentes de inclusão de farelo de pinhão manso na dieta (HE, 400X). **A** – Início de congestão (ic) e infiltrado inflamatório (ii), Tratamento controle; **B** – Congestão (c), infiltrado inflamatório (ii), desarranjo cordonal (dc), Tratamento 1%FPM; **C** – Congestão (c),

esteatose (e), infiltrado inflamatório (ii), melanomacrófagos (ml), focos necróticos (fn), Tratamento 2%FPM; **D** – Início de congestão (ic) e esteatose (e), Tratamento 4%FPM; **E** – Vacuolização (v) e congestão (c), Tratamento 8%FPM.

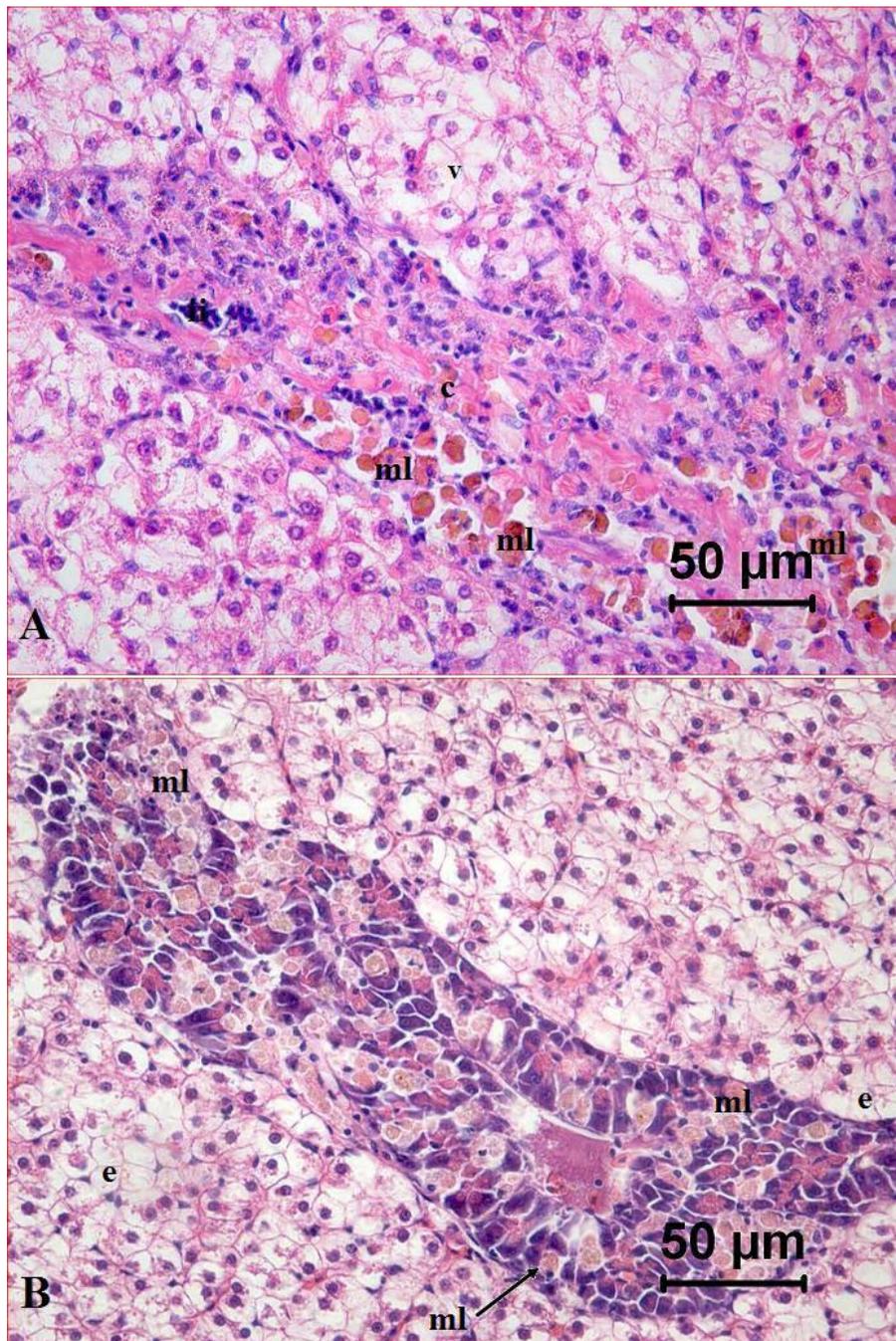
Aos 90 dias, os fígados dos peixes do tratamento controle apresentaram graus elevados de esteatose (vacúolos citoplasmáticos de limites bem definidos caracterizando esteatose) e necrose severa, indicando que houve degeneração pelo excesso de gordura (Fotomicrografia 4). O acúmulo de gordura hepática ocorre pelo excesso de energia contida na dieta, deficiência causada pela vitamina E, colina e aminoácido metionina (SILVA & GONÇALVES, 2008). Não foi observado esteatose nos fígados com maior inclusão de FPM na dieta (4%FPM e 8%FPM), provavelmente os peixes destes tratamentos compensaram o baixo consumo de alimento, utilizando a reserva lipídica do fígado. Entretanto o pâncreas intra-hepático, tanto aos 45 quanto aos 90 dias, se apresentou de estado normal a totalmente degenerado conforme aumento da inclusão de FPM na dieta, indicando alta atividade de inibidores de proteases na digestão de proteínas (Fotomicrografias 5 e 6).



Fotomicrografia 4 – Alterações teciduais em fígado da tilápia do Nilo alimentada até os 90 dias com níveis crescentes de inclusão de farelo de pinhão manso na dieta (HE, 400X). **A** – Necrose severa (ns) e congestão (c), Tratamento controle; **B** – Esteatose (e) e congestão (c), Tratamento 2%FPM; **C** – Foco necrótico (fn) e infiltrado inflamatório (ii), Tratamento 8%FPM.



Fotomicrografia 5 – Alterações teciduais no pâncreas intra-hepático da tilápia do Nilo alimentada até os 45 dias com níveis crescentes de inclusão de farelo de pinhão manso na dieta (HE, 400X). **A** – Infiltrado inflamatório (ii) com predomínio de células mononucleares, congestão (c), focos de necrose (fn), grânulos de zimogênio (gz), Tratamento 1%FPM; **B** – Pâncreas degenerado, congestão (c), infiltrado inflamatório (ii), melanomacróforo (ml), Tratamento 4%FPM; **C** – Congestão (c) e infiltrado inflamatório (ii), esteatose (e), grânulos de zimogênio (gz), Tratamento 4%FPM; **D** – Pâncreas degenerado, melanomacróforos (ml), congestão (c), Tratamento 8%FPM.



Fotomicrografia 6 – Alterações teciduais no pâncreas intra-hepático da tilápia do Nilo alimentada até os 90 dias com níveis crescentes de inclusão de farelo de pinhão manso na dieta (HE, 400X). **A** – Pâncreas degenerado, infiltrado inflamatório (ii), congestão (c), melanomacrófagos (ml), vacuolização (v), Tratamento 1%FPM; **B** – Pâncreas em degeneração, esteatose (e), melanomacrófagos (ml), Tratamento 4%FPM;

O papel principal do epitélio intestinal é atuar como barreira física a macromoléculas e apresentar superfície absorptiva e secretória. Porém é sensível à diversos fatores no lúmen e na mucosa. Observou-se que as vilosidades e algumas criptas de alguns peixes foram prejudicadas com a inclusão do FPM na dieta. Porém, muitos mecanismos em potencial podem implicar na aceleração das taxas de morte dessas células. Destes inclui-se a exposição às células-T, metabólitos reativos de oxigênio, citocinas, hipóxia e proteases (GIBSON et al., 1996). Entretanto, dentre estes fatores, as proteases seriam a mais provável causa para a redução do tamanho da vilosidade do intestino dos peixes. Porém, há ação de inibidores de proteases provenientes da dieta bloqueando a atividade da protease da dieta (KOBAYASHI et al., 2004).

No entanto, o epitélio intestinal consome grande quantidade de energia e outros nutrientes devido a manutenção de altas taxas de renovação, proliferação celular, síntese e secreção, entre outros processos (GIBSON et al., 1996). Para isso, dentre outras substâncias, o maior substrato energético para o intestino delgado provém da glutamina. Este aminoácido têm sido utilizado em diversos estudos para diminuir a atrofia da mucosa em dietas para leitões recém desmamados (WU et al., 1996) e como fonte de energia para o desenvolvimento da mucosa intestinal (MAIORKA et al., 2000).

Assim, de acordo com os dados apresentados na Tabela 3, o GP, a CA e o CR, foram prejudicados com a inclusão do FPM na ração, ocasionando assim um estado de desnutrição severo nos peixes. Contudo, há uma série de transtornos relacionados ao metabolismo, onde só o fato de não consumir o alimento, o peixe despreza involuntariamente o aporte energético e outros nutrientes como, no caso do intestino, a glutamina.

Entre outras causas prejudiciais ao intestino delgado, deve-se considerar a presença de fatores antinutricionais existentes no FPM como as lectinas, as saponinas e o éster de forbol que também estão relacionados com danos à mucosa intestinal.

Ao trabalharem com a administração de leucena (*Leucaena leucocephala* e *Leucaena cunningham*) e feijão guandu (*Cajanus cajan*) para frangos de corte e avaliarem o epitélio intestinal, OLIVEIRA et al. (2000) observaram a ação dos fatores antinutricionais sobre a diminuição do peso, aumento da conversão alimentar e aumento na relação vilo:cripta. A alta capacidade de ligação a carboidratos específicos, principalmente nas células do duodeno e jejuno, faz com que a lectina prejudique a parede intestinal, além da intensa inflamação com destruição das células do epitélio.

Os efeitos antinutricionais da saponina estão relacionados às modificações na permeabilidade da mucosa intestinal, inibindo o transporte de alguns nutrientes e facilitando a absorção de outros compostos (FRANCIS et al., 2001).

Segundo BECKER & MAKKAR (1998) houve produção de muco fecal em carpas que consumiram níveis acima de 31µg de éster de forbol/g na dieta, sugerindo forte efeito irritante. O éster de forbol é a principal substância no FPM causadora de anormalidades aos animais. AHMED & ADAM (1979a) observaram sinais como diarreia em bezerros que consumiram sementes de pinhão manso ocorreu devido severos danos no intestino incluindo enterite e hemorragia catarral.

As alterações histopatológicas encontradas nos fígados das tilápias foram similares ao apresentado por outras espécies animal. ADAM & MAGZOUB (1975) e AHMED & ADAM (1979b) observaram sinais de congestão e vários níveis de degeneração gordurosa e necrose dos hepatócitos e, considerável redução no conteúdo em glicogênio no fígado de caprinos e ovinos alimentados com diferentes quantidades de semente de pinhão manso. Frangos que consumiram sementes de pinhão manso, durante quatro semanas, apresentaram intoxicação severa indicada pela diminuição do crescimento, hepato-nefropatias e congestões no fígado (EL BADWI & ADAM, 1992).

Alguns sinais são diagnosticados pela presença de fatores antinutricionais como a lectina que causa degeneração gordurosa e necrose do fígado (SILVA & SILVA, 2000). A esteatose ou degeneração gordurosa observadas na análise tecidual dos fígados da tilápia alimentada com menores níveis de FPM na dieta pode estar relacionada com a composição energética da dieta. A esteatose ou fígado gorduroso em mamíferos pode ser causado também por distúrbios metabólicos decorrentes da deficiência ou excesso de minerais e vitaminas da dieta, peroxidação dos ácidos graxos, intoxicações, infecções, neoplasias, produtos tóxicos e adição de altas doses de hormônio durante a reversão e, em vários processos antecede a necrose (GAYÃO, 2009).

Degeneração gordurosa similar foi encontrada no início do experimento em fígados de peixes “red porgy” (*Pagrus pagrus*) que consumiram dieta comercial contendo relação proteína/lípido de 400g/kg e 210g/kg e dieta experimental com P:L de 450/150g por kg (SCHUCHARDT et al., 2008).

O pâncreas intra-hepático sofreu muitas alterações com os níveis mais elevados de inclusão do FPM na dieta. Acredita-se que houve maior concentração de inibidores de proteases proveniente da dieta, aumentando dessa forma a ação antitriptica no pâncreas. Este é estimulado a produzir e liberar mais enzimas proteolíticas no intestino delgado, pois o inibidor de protease desativa as enzimas já presentes na digestão. Porém, o inibidor de tripsina continua bloqueando a ação desta enzima, estimulando o pâncreas a liberar mais enzimas, causando sua hiperatividade (SILVA & SILVA, 2000).

BOONYARATPALIN et al. (1998) observaram atrofia, perda da estrutura normal das células e pouca definição dos grânulos de zimogênios nos pâncreas de “Asian seabass” (*Lates calcarifer*) alimentados com farelo de soja integral, resultado este também atribuído ao inibidor de protease.

### **Conclusão**

Conclui-se que o farelo de pinhão manso possui substâncias antinutricionais que prejudicam o desenvolvimento do intestino delgado assim como na degeneração do pâncreas intra-hepático. A energia proveniente da dieta foi armazenada no fígado causando anomalias como esteatose hepática nos tratamentos com menor inclusão de farelo de pinhão manso.

### **Agradecimentos**

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Fabiana Pilarski, pelo auxílio nas análises histológicas dos fígados e ao Prof. Dr. Sérgio Fonseca Zaiden, pelas fotos das lâminas histológicas dos fígados e explicações.

### **Câmara de Ética Animal**

Esta pesquisa foi aprovada pela Câmara de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ, em 09 de dezembro de 2008, sob o protocolo n<sup>o</sup> 227/2008-CEEA. O estudo foi conduzido de acordo com as normas éticas de experimentação animal.

### Referências

- ADAM, S. E. I. & MAGZOUB, M. Toxicity of *Jatropha curcas* for goats. **Toxicology**, Jul; v.4, n.3, p.347-54, 1975.
- AHMED, O. M. M. & ADAM, S. E. I. Effects of *Jatropha curcas* on calves. **Veterinary Pathology**, v.16, p.476-482, 1979a.
- AHMED, O. M. M. & ADAM, S. E. I. Toxicity of *Jatropha curcas* in sheep and goats. **Research in veterinary science**, v.27, p.89-96, 1979b.
- BECKER, K. & MAKKAR, H. P. S. Effect of phorbol esters in carp *Cyprinus carpio* L. **Vet. Hum. Toxicol.** v.40, p.82-86, 1998.
- BOONYARATPALIN, M.; SURANEIRANAT, P.; TUNPIBAL, T. Replacement of fish meal with various types of soybean products in diets for the Asian seabass, *Lates calcarifer*. **Aquaculture**, v.161, p.67-78, 1998.
- BUREAU, D.P; HARRIS, A.M; & YOUNG CHO, C. 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.
- EL BADWI, S. M. A. & ADAM, S. E. I. Toxic effects of low levels of dietary *Jatropha curcas* seed on Brown Hisex chicks. **Vet. Human. Toxicol**, Apr., v.34, n.2, p.112-115, 1992.
- EL-SAYED, ABDEL-FATTAH M. Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, *Oreochromis* spp. **Aquaculture**, v.179, p.149-168, 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, 2001.

GAYÃO, A.L.B.A. **Nutrição e reversão sexual de tilápia do Nilo: parâmetros produtivos e estrutura do fígado**. 2009. 112f. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Curso de pós-graduação em Aquicultura, Caunesp – UNESP Jaboticabal.

GIBSON, P. R.; ANDERSON, R. P.; MARIADASON, J. M.; WILSON, A. J. Protective Role of the Epithelium of the Small Intestine and Colon. **Inflammatory Bowel Diseases**, v.2, p. 279-302, 1996.

KOBAYASHI, H.; SUZUKI, M.; KANAYAMA, N.; TERAOKA, T. A soybean Kunitz trypsin inhibitor suppresses ovarian cancer cell invasion by blocking urokinase upregulation. **Clinical and Experimental Metastasis**, v.21, n. 2, p. 159-166, 2004.

MAIORKA, A.; SILVA, A.V.F.; SANTIN, E.; BORGES, S.A.; BOLELI, I.C.; MACARI, M. Influência da suplementação de glutamina sobre o desempenho e o desenvolvimento de vilos e criptas do intestino delgado de frangos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. [online]** v.52, n.5, p. 487-490, 2000. ISSN 0102-0935. doi: 10.1590/S0102-09352000000500014.

MAKKAR, H.P.S.; ADERIBIGBE, A.O. & BECKER, K. Comparative evaluation of a non-toxic and toxic varieties of *Jatropha curcas* for chemical composition, digestibility, protein degradability and toxic factors. **Food Chem.**, v.62, p.207-215, 1998.

OLIVEIRA, P.B.; MURAKAMI, A. E.; GARCIA, E.R.M; MACARI, M.; SCAPINELLO, C. Influência de Fatores Antinutricionais da Leucena (*Leucaena leucocephala* e *Leucaena*

*cunningan*) e do Feijão Guandu (*Cajanus cajan*) Sobre o Epitélio Intestinal e o Desempenho de Frangos de Corte. **Rev. bras. zootec.**, v.29, n6, p.1759-1769, 2000.

PLÁ, J.A. (2008) **Aspectos agronômicos da produção de biodiesel no Brasil**. Disponível em: <<http://www.rbb.ba.gov.br>>. Acessado em: 20 fevereiro 2009.

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.

ROBAINA, L.; IZQUIERDO, M.S.; MOYANO, F.J.; SOCORRO, J.; VERGARA, J.M.; MONTERO, D. & FERNANDEZ-PALACIOS, H. 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.

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

SCHUCHARDT, D.; VERGARA, J.M.; FERNÁNDEZ-PALACIOS, H; KALINOWSKI, C.T.; HERNÁNDEZ-CRUZ, C.M.; IZQUIERDO, M.S; ROBAINA, L. Effects of different dietary protein and lipid levels on growth, feed utilization and body composition of red porgy (*Pagrus pagrus*) fingerlings. **Aquaculture Nutrition**, v:14, p.1–9, 2008. doi: 10.1111/j.1365-2095.2007.00484.x

SILVA, L. B.; GONÇALVES, P. Degeneração gordurosa (lipidose hepática). **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**. Ano VI, n. 10, jan. 2008. ISSN: 1679-7353.

SILVA, M. R. & SILVA, M. A. A. P. Fatores antinutricionais: inibidores de proteases e lectinas – Revisão. **Rev. Nutr.**, Campinas, jan./abr., v.13, n.1, p.3-9, 2000.

WU, G., MEIER, S.A., KNABE, A. Dietary glutamine supplementation prevents jejunal atrophy in weaned pigs. **J. Nutr.**, v.126, p.2578-2584, 1996.

## CAPÍTULO IV

---

---

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

---

- a) O farelo de pinhão manso, apesar de conter elevado conteúdo protéico, não deve ser utilizado na alimentação de alevinos de tilápia do Nilo sem ser detoxicado;
- b) O não consumo de ração pelos peixes impossibilitou os testes de digestibilidade para a avaliação nutricional do farelo de pinhão. Por esse motivo recomendamos que novos estudos sejam realizados avaliando sua digestibilidade e posteriormente seu potencial nutritivo na forma detoxicada, no sentido de se conhecer melhor essa fonte alternativa de proteína para os animais.
- c) Acreditamos que este trabalho sirva de referência aos demais que possivelmente virão testando farelo de pinhão manso na forma detoxicada na alimentação de peixes e outros animais.