



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

ANTÔNIO MARCOS JAQUES RAMOS

**AVALIAÇÃO DA DIGESTIBILIDADE DE INGREDIENTES ENERGÉTICOS EM
DIETAS PARA JUVENIS DE PIRARUCU *Arapaima gigas* (Cuvier 1829)**

FLORIANÓPOLIS

2019

Antônio Marcos Jaques Ramos

**AVALIAÇÃO DA DIGESTIBILIDADE DE INGREDIENTES ENERGÉTICOS EM
DIETAS PARA JUVENIS DE PIRARUCU *Arapaima gigas* (Cuvier 1829)**

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do grau de Mestre em Aquicultura.

Orientadora: Dr^a Débora Machado Fracalossi

Florianópolis

2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Ramos, Antônio Marcos Jaques

Avaliação da digestibilidade de ingredientes energéticos em dietas para juvenis de pirarucu *Arapaima gigas* (Cuvier 1829) / Antônio Marcos Jaques Ramos ; orientadora, Débora Machado Fracalossi, 2019.

62 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós Graduação em Aquicultura, Florianópolis, 2019.

Inclui referências.

1. Aquicultura. 2. Digestibilidade. 3. Ingredientes energéticos vegetais. 4. Nutrição de peixes. 5. Pirarucu. I. Fracalossi, Débora Machado. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. III. Título.

Antônio Marcos Jaques Ramos

Avaliação da digestibilidade de ingredientes energéticos em dietas para juvenis de pirarucu *Arapaima gigas* (Cuvier 1829)

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profª. Débora Machado Fracalossi, Dra.
Universidade Federal de Santa Catarina

Profª. Ligia Uribe Gonçalves, Dra.
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

Profª. Anita Rademaker Valença, Dra.
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Aquicultura.

Profª. Dra. Leila Hayashi
Coordenadora do Programa

Profª. Dra. Débora Machado Fracalossi
Orientadora

Florianópolis, 31 de julho de 2019

Dedico este trabalho a todos os profissionais que diariamente dedicam seus esforços à aquicultura, especialmente àqueles que, por meio da pesquisa, mesmo em condições adversas, desenvolvem tecnologias fundamentais para o fortalecimento do setor aquícola brasileiro.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela graça da vida e por te me sustentado ao longo da jornada percorrida no mestrado.

À minha querida orientadora, Dr.^a Débora Machado Fracalossi, pela confiança em me aceitar como orientado, pelo acolhimento e suporte durante o mestrado, mas principalmente pelo exemplo de profissional e ser humano, com qualidades ímpares que se tornaram referências que busco em minha vida pessoal e profissional.

Aos membros da banca examinadora: Dr.^a Lúgia Uribe Gonçalves, Dr. Filipe dos Santos Cipriano, Dr.^a Lucélia Hauptli e Dr.^a Anita Rademaker Valença, pela disponibilidade em avaliar este trabalho e por compartilhar seus conhecimentos com valiosas contribuições à esta dissertação.

À equipe de nutrição da Embrapa Pesca e Aquicultura, em Palmas, TO, por quem desenvolvi uma grande admiração pela competência com que desenvolvem seus trabalhos. Em especial, à pesquisadora Msc. Ana Paula Oeda Rodrigues, a quem sou profundamente grato por todo o suporte na realização deste trabalho, pelos ensinamentos que foram fundamentais para a durante os experimentos na Embrapa e, apesar da distância, pelo valioso auxílio na interpretação, análises laboratoriais e redação da dissertação, além de conversas e conselhos valiosos para a vida pessoal e profissional. À pesquisadora Dr.^a Viviane Verdolin dos Santos pelo apoio logístico que foi fundamental para meu deslocamento diário para o Centro de Aquicultura CEAq. Ao pesquisador Dr. Luiz Eduardo Lima de Freitas pelo apoio e ensinamentos na execução dos experimentos.

Às pesquisadoras da Embrapa Pesca e Aquicultura Dr.^a Patrícia Maciel e Msc. Adriana Ferreira Lima pelo auxílio no tratamento dos peixes, ensinamentos sobre o manejo do pirarucu e apoio logístico com empréstimo de materiais e equipamentos durante os experimentos. Aos estagiários da Embrapa Pesca e Aquicultura que, de forma direta ou indiretamente contribuíram durante a execução dos experimentos, especialmente às queridas Rafaella Medeiros e Watilla Mirele pela valiosa ajuda no manejo dos peixes. Aos queridos, Chickin, Naislan, Poliana, Silvério, Letícia, Ramon e João Paulo, pelo companheirismo e convivência diária no Centro de Aquicultura da EMBRAPA. Aos amigos Léo Carneiro, Luiz Fernando e Emanuel Muniz, que foram companhias importantes em Palmas.

À equipe do Laboratório de Nutrição de Espécies Aquícolas (LABNUTRI/UFSC), que foram fundamentais, apoiaram das mais diversas maneiras e sempre estiveram dispostos a ajudar. Cada um tem uma parcela de contribuição em cada parte deste trabalho: Sônia Rejane

Silva, Renata Oselame Nóbrega, Rosana Oliveira Batista, Fernando Brignol, Bruno da Silva Pierri, Allan David, Marieta Fitipaldi, Michelle Oliveira, Vinicius Padovani. Um agradecimento especial aos queridos Vitória Daitx de Oliveira, Jhonis Ernzen Pessini e Douglas Ismael Cadorin pela amizade ao longo desses anos e pelo incentivo, principalmente na reta final do mestrado. Ao Jhonis também pela ajuda nas análises estatísticas e confecção dos gráficos.

À Dra. Bruna Mattioni pela prestatividade durante a realização deste trabalho, especialmente pela ajuda nas análises de Microscopia Eletrônica de Varredura e análises de Amido. À Msc. Maria Fernanda Oliveira da Silva pela prestatividade, paciência e orientação na execução das análises laboratoriais no LABNUTRI, além de inúmeras caronas nas idas ao laboratório.

Ao Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME/UFSC) pelas análises de Microscopia Eletrônica de Varredura e ao Laboratório de Análise de Cereais (LABCERES/UFSC) pela ajuda nas análises de amido.

Aos professores do Departamento de Aquicultura pelos ensinamentos ao longo do curso. Ao Carlito Klunk pela prestatividade com que sempre me recebeu e por toda a ajuda em minhas demandas acadêmicas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo suporte financeiro durante o curso por meio da concessão da bolsa de estudo.

Aos queridos amigos da pós-graduação em aquicultura: Jeanderson da Silva Viana, Cleize Sales da Silva, Bianca Viana Serra, Greyce Silva Aparício e João Vitor Manhães, que foram parceiros de estudos e momentos de diversão, grandes amigos que tornaram a jornada mais agradável.

E, por fim, agradeço à minha família por todo o amor, incentivo e suporte dedicados a mim durante toda a vida e, principalmente, por me incentivar a buscar a realização dos meus sonhos de maneira íntegra e honesta, tendo a educação como fator preponderante para o crescimento pessoal e profissional.

RESUMO

O uso de carboidratos em dietas para peixes é uma alternativa com potencial para reduzir o custo das dietas comerciais, além de melhorar o aproveitamento de outros nutrientes da dieta. Neste sentido, o presente estudo avaliou a utilização de ingredientes vegetais, ricos em carboidratos, em dietas para juvenis de pirarucu (*Arapaima gigas*), uma espécie carnívora amazônica que tem despertado crescente interesse para aquicultura. As fontes vegetais testadas foram milho, sorgo baixo tanino, quirera de arroz, farelo de arroz desengordurado e farelo de trigo, incluídas na proporção de 20%, em uma dieta referência com 549,6 g kg⁻¹ de proteína bruta. Foi avaliada a digestibilidade *in vivo* da energia e nutrientes, incluindo o amido, bem como analisada a microestrutura das dietas e fezes por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os coeficientes de digestibilidade aparente (CDAs) dos nutrientes e energia variaram significativamente em função das fontes vegetais, exceto para a proteína bruta, cujos CDAs foram semelhantes. Quirera de arroz e milho foram os ingredientes mais digestíveis, considerando-se a matéria seca e energia, enquanto que o farelo de trigo apresentou o maior CDA para o amido. A digestibilidade do amido apresentou relação inversa com o teor de amido dos ingredientes, mas relação direta com seu teor de fibra. Portanto, o farelo de trigo apresentou a maior digestibilidade do amido e, o sorgo baixo tanino, a menor. Imagens de MEV corroboraram os dados de digestibilidade do amido, mostrando indícios de ação enzimática nos grânulos de amido. Nas amostras fecais de peixes alimentados com milho foram detectadas estruturas semelhantes a esferulitos, as quais estão relacionadas à baixa digestibilidade do amido verificada neste ingrediente. De forma geral, o pirarucu apresentou boa capacidade de digestão dos ingredientes testados, revelando bom potencial para sua inclusão na produção de dietas comerciais para a espécie.

Palavras-chave: Aquicultura. Digestibilidade. Ingredientes energéticos vegetais. Nutrição de peixes, Pirarucu.

ABSTRACT

Using carbohydrates in fish diets is a potential alternative to reducing the cost of commercial diets, as well as improving the utilization of other dietary nutrients. This study evaluated the use of carbohydrate rich vegetable ingredients in diets for juveniles of *Arapaima gigas*, an Amazonian carnivore fish with growing interest in aquaculture. The tested plant sources were corn, low tannin sorghum, broken rice, defatted rice bran and wheat bran, which were included at 20% in a reference diet containing 549.6 g kg⁻¹ crude protein. The digestibility of energy and nutrients, including starch, was evaluated as well as the microstructure of the diets and feces by scanning electron microscopy (SEM). The apparent digestibility coefficients (CDAs) of nutrients and energy varied significantly as a function of plant sources, except for crude protein, whose CDAs were similar. Broken rice and maize were the most digestible ingredients, considering dry matter and energy, while wheat bran presented the highest CDA for starch. The digestibility of the starch presented an inverse relationship with the starch content of the ingredients, but a direct relation with their fiber content. MEV images corroborated the starch digestibility data showing evidence of enzymatic attack on starch granules, as well as the occurrence of spherulite-like structures in maize fecal samples, which are related to the low starch digestibility observed in this ingredient. In general, the pirarucu showed good digestion capacity of the tested ingredients, revealing a good potential for their inclusion in commercial diets for the species.

Keywords: Aquaculture. Digestibility. Plant energy sources. Fish nutrition. Pirarucu.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	10
1.1	AQUICULTURA NO BRASIL E NO MUNDO: DESAFIOS E PERSPECTIVAS	10
1.2	A CRIAÇÃO DE PIRARUCU NO BRASIL	11
1.3	BIOENERGÉTICA EM PEIXES	13
1.4	ENSAIOS DE DIGESTIBILIDADE EM PEIXES.....	14
1.5	CARBOIDRATOS: CARACTERIZAÇÃO E USO EM DIETAS PARA PEIXES .	17
1.6	FONTES DE CARBOIDRATOS EM DIETAS PARA PEIXES.....	21
1.7	AVALIAÇÃO DE CARBOIDRATOS NA NUTRIÇÃO DE PEIXES	22
1.7	OBJETIVOS	24
1.7.1	Objetivo Geral.....	24
1.7.2	Objetivos Específicos.....	24
2	ARTIGO CIENTÍFICO.....	25
2.1	INTRODUÇÃO	26
2.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	28
2.3	RESULTADOS.....	32
2.4	DISCUSSÃO	38
2.5	AGRADECIMENTOS	42
2.6	REFERÊNCIAS.....	43
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS	50
	REFERENCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL	54

1 INTRODUÇÃO GERAL

1.1 AQUICULTURA NO BRASIL E NO MUNDO: DESAFIOS E PERSPECTIVAS

Com o quadro de estagnação da produção de pescado pela captura que vem ocorrendo nas últimas décadas, a produção oriunda da aquicultura se apresenta como uma alternativa para suprir a demanda por peixados e a ainda reduzir a pressão das capturas sobre os estoques naturais. Esse foi setor da produção animal que mais cresceu nos últimos anos no mundo, respondendo por 80 milhões de toneladas, equivalente a 46,88% da produção mundial de -pescado, no ano de 2016 (FAO, 2018). Estima-se que a produção de pescado oriundo deste setor alcance 102 milhões de toneladas até o ano de 2025, sendo, os países em desenvolvimento, os maiores responsáveis por esse aumento de produção (FAO, 2016). O Brasil acompanhou esse crescimento com 580.070 t produzidas no ano de 2016, com perspectivas animadoras de aumento de 104% até o ano de 2025 (IBGE, 2016; FAO, 2016).

O Brasil apresenta grande potencial para a produção aquícola, seja pela disponibilidade de recursos hídricos e clima tropical, o que permite a prática de diversos sistemas de produção aquícola, ou pela riqueza de sua biodiversidade, principalmente na região amazônica, a qual possui diversas espécies com potencial para a produção em confinamento. No entanto, o desenvolvimento de tecnologias para o crescimento da produção de espécies nativas no Brasil ainda é incipiente e a maioria das espécies de interesse ainda não possuem tecnologias que viabilizem sua produção. Isto colabora para que o maior volume de produção piscícola brasileira seja de espécies exóticas, principalmente a tilápia-do-nilo (47,1 %) (IBGE, 2016).

O desenvolvimento de alimento inerte (ração) para peixes nativos brasileiros é um dos principais entraves na piscicultura nacional, já que pouco se conhece sobre as exigências nutricionais das espécies, o que dificulta a produção de rações eficientes (FRACALOSSO & CYRINO, 2013). Além disso, a viabilidade econômica dos empreendimentos aquícolas é comprometida, considerando que os gastos com alimentação representam cerca de 60% a 80 % dos custos totais da produção. Esses custos são potencializados quando se trata de espécies carnívoras, pois suas dietas exigem maiores quantidades de fontes proteicas de origem animal, que são os ingredientes mais caros (BARONE, 2017; FRACALOSSO & CYRINO, 2013). Então, um dos desafios atuais da piscicultura brasileira é produzir conhecimento acerca das espécies nativas de interesse, que possibilite a produção de rações eficientes, para o máximo

desempenho destas espécies, bem como a busca por fontes alternativas de ingredientes, com intuito de produzir rações com menor custo.

1.2 A CRIAÇÃO DE PIRARUCU NO BRASIL

O pirarucu (*Arapaima gigas*) é um peixe endêmico da região amazônica, pertencente à ordem Osteoglossiformes, família Arapaimidae. É um dos maiores peixes de águas continentais do mundo, podendo atingir até 3 m de comprimento e 200 kg, em ambiente natural (NELSON, 1994; NELSON, 2006). É considerado predador, posicionado no topo da cadeia alimentar, consumindo prioritariamente outros peixes menores, mas também insetos, crustáceos e moluscos (QUEIROZ, 2000).

Figura 1: Exemplar adulto de *Arapaima gigas*.



Foto: Donald J. Stewart

O pirarucu é considerado historicamente como um importante recurso pesqueiro para a região amazônica, sendo amplamente valorizado no consumo local e especialmente no comércio, onde atinge altos preços de comercialização e apresenta grande demanda pelos mercados tanto no Brasil quanto no exterior (AMARAL, 2009; MARMONTEL, 2006). Porém, o longo processo de exploração pesqueira levou a uma drástica redução dos seus estoques naturais, colocando esta espécie em risco de extinção (BARTHEM & GOULDING, 2007; CITES, 2013). A aquicultura surge, portanto, como uma alternativa para suprir a demanda pela carne de pirarucu e reduzir a pressão pesqueira sobre esta espécie.

A produção de pirarucu em cativeiro começou a ser estudada em 1939, em Belém (PA), tendo como marco a primeira desova fora do ambiente natural realizada em lagos do museu Emílio Goeldi. Alguns indivíduos oriundos dessa desova foram transferidos para a estação de piscicultura do Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS), no estado do

Ceará, onde se deu continuidade aos estudos com reprodução, anatomia e morfologia (IMBIRIBA, 2001). Diversos estudos foram realizados a partir da observação de fatores-chaves para o desenvolvimento da aquicultura do pirarucu. Vários autores relataram as notáveis características zootécnicas da espécie, tais como: rusticidade às práticas de manejo, alto rendimento de carcaça e alta taxa de crescimento, podendo atingir de 10 a 15 kg no primeiro ano de criação (SANCHES, 1973; IMBIRIBA, 1991; IMBIRIBA, 1996; PEREIRA-FILHO & ROUBACH, 2013). Além disso, a espécie pode ser criada em ambientes pobres em oxigênio dissolvido, devido a sua respiração aérea obrigatória, o que permite sua sobrevivência em tais ambientes (SOARES et al., 2006).

A criação de pirarucu encontra-se bastante difundida pelo Brasil. Segundo o Censo Aquícola do Brasil do ano de 2013, foram registradas 233 unidades produtivas de pirarucu, distribuídas em todas as regiões do país. A região norte tem maior representatividade no percentual de produtores, com 62% do total do país, seguida pela região Centro-Oeste, Nordeste, Sudeste e Sul, com 15%, 11%, 10% e 2% da produção, respectivamente (MPA, 2013). Porém, segundo dados do IBGE (2016), a produção ainda é baixa quando comparada à produção de outras espécies no Brasil: pirarucu (8.637.473 kg), tambaqui (136.991.478 kg) e tilápia (239.090.927 kg).

Apesar do reconhecimento do potencial que o pirarucu apresenta para a produção aquícola, ainda existem entraves que limitam sua produção em larga escala. Um dos problemas na produção de pirarucu está relacionado às dificuldades no domínio da técnica de reprodução, o que dificulta o fornecimento regular de formas jovens para abastecer as estações de piscicultura que fazem a engorda (BALDISSEROTO & GOMES, 2013). Devido ao seu hábito alimentar carnívoro, o pirarucu não aceita prontamente o alimento inerte, sendo necessário um treinamento para adaptar os peixes a ingerir ração (SEBRAE, 2013). Além disso, as rações para a espécie precisam conter alto teor de proteína de origem animal, em torno de 40 a 55% da dieta, o que torna difícil viabilizar economicamente sua produção (IMBIRIBA, 2001; SEBRAE, 2010).

O conhecimento sobre a nutrição do pirarucu apresenta várias lacunas, principalmente no que se refere às exigências nutricionais da espécie. As rações comerciais são formuladas apenas considerando o hábito alimentar e fase de desenvolvimento, o que resulta em produção de rações que nem sempre atendem as exigências nutricionais da espécie, nas diferentes fases de desenvolvimento. Ainda, há registro de rações comerciais destinadas à alimentação de

pirarucu com deficiência em aminoácidos essenciais como lisina, metionina e triptofano (RODRIGUES et al., 2015; 2017).

Estudos recentes buscaram responder questões em diversas áreas da nutrição e alimentação do pirarucu, tais como: exigência em proteína bruta para juvenis (ITUASSÚ et al., 2005; ONO et al., 2005; CASTILLO, 2012; DEL RISCO et al., 2008; MEDEIROS, 2014), frequência alimentar (GANDRA, 2002; CRESCÊNCIO et al., 2005; MATTOS *et al.*, 2017) e substituição da farinha de peixe por proteína de origem vegetal na dieta, com o intuito de produzir rações mais econômicas (FONSECA, 2004; CONCEIÇÃO et al., 2013). Apesar destes estudos, o volume de informações geradas ainda é baixo frente à crescente demanda pela produção desta espécie (FRACALOSSO & CYRINO, 2012). Sendo assim, diversas questões precisam ser estudadas para que a produção de pirarucu acompanhe as perspectivas de crescimento projetado para os próximos anos no cenário aquícola brasileiro. Uma delas é a produção de rações espécie-específica utilizando ingredientes facilmente encontrados na indústria, a qual só é possível a partir do conhecimento prévio da digestibilidade da energia e dos nutrientes essenciais nestes ingredientes o que determina seu potencial de uso nas rações comerciais.

1.3 BIOENERGÉTICA EM PEIXES

A energia é o calor produzido a partir da oxidação da matéria orgânica, que é utilizado como combustível pelos animais em seus processos metabólicos (SAKOMURA & ROSTAGNO, 2007). A energia utilizada pelos peixes é oriunda do alimento ingerido ou de suas reservas corporais na forma de lipídios, proteínas e glicogênio, sendo os lipídios os mais importantes no suprimento de energia para os peixes, seguidos dos aminoácidos e, com menor importância, os carboidratos (TOCHER, 2003).

Entretanto, nem toda energia produzida a partir dos nutrientes alimentares é utilizada pelos peixes, pois ocorrem perdas de energia ao longo dos processos metabólicos. A energia total ingerida é denominada Energia Bruta (EB). Durante o processo de digestão, parte da energia ingerida é perdida nas fezes, originando a Energia Digestível (ED), sendo a diferença entre a EB e a energia perdida nas fezes. Em estudos nutricionais para peixes, a ED é comumente utilizada; entretanto, ela não reflete uma estimativa precisa da energia disponível, porque não considera as perdas energéticas na urina e brânquias. Neste caso, a Energia Metabolizável (EM), é a forma que contabiliza mais fielmente as perdas de energia, uma vez

que considera as perdas na urina e brânquias. Entretanto, estudos que determinem esta fração energética são difíceis de desenvolver em meio aquático. Parte da energia produzida ainda é perdida na forma de calor como 1) incremento calórico (IC), conjunto de pequenas perdas na digestão e absorção de nutrientes e 2) manutenção (M), que inclui as perdas no metabolismo basal, atividade voluntária e regulação térmica. Uma vez descontadas as perdas energéticas citadas, a energia resultante é chamada Energia Recuperada (EL), a qual é destinada ao ganho de peso e reprodução (NRC 2011).

Peixes não apresentam alta exigência em energia. Isso ocorre, porque, diferente dos animais homeotérmicos, os peixes não precisam regular sua temperatura corporal de acordo com a temperatura do ambiente (NRC, 2011). Entretanto a energia das dietas é importante, principalmente em relação a ingestão dos nutrientes da dieta. A saciedade dos peixes é influenciada pela quantidade de energia das dietas. A ingestão de rações com energia em excesso leva à saciedade precoce, fazendo com que os peixes cessem a alimentação sem que tenham ingerido a quantidade necessária dos outros nutrientes. Por outro lado, quando as rações têm baixo conteúdo energético, é necessária alta ingestão dos outros nutrientes, principalmente proteína, que não é completamente utilizada pela insuficiência de energia para metabolizá-los. Portanto, o balanceamento correto de energia na dieta permite o uso mais eficiente dos nutrientes destinados ao crescimento e manutenção (GONÇALVES et al., 2009). Além disso, a ingestão de proteína em excesso pode aumentar o custo com rações, já que a proteína é o nutriente de maior custo das dietas, e ainda aumentar a descarga de compostos nitrogenados no ambiente de criação (HEMRE & DENG, 2015; KAMALAM et al., 2017).

1.4 ENSAIOS DE DIGESTIBILIDADE EM PEIXES

A digestão é o processo pelo qual os organismos vivos processam o alimento para a obtenção da energia, a qual é utilizada em suas funções vitais como crescimento, reprodução, dentre outros (ROTTA, 2003). Em peixes, o processo digestório é influenciado por fatores como hábito alimentar, estágio de desenvolvimento e características genéticas (BALDISSEROTTO, 2013). Além disso, a composição da dieta tem importância fundamental na digestão dos alimentos. Isso é bem observado em peixes, que não digerem alimentos ricos em celulose e lignina, enquanto que alimentos ricos em proteínas e lipídios de origem animal são facilmente metabolizados pelos peixes (STONE, 2003, NRC, 2011).

Ensaio de digestibilidade de ingredientes são utilizados para determinar seus coeficientes de digestibilidade aparente (CDA %), os quais refletem a quantidade de nutrientes e energia que serão aproveitados pelos peixes, após descontadas as perdas nas fezes. Este conhecimento é fundamental para a formulação de rações que tenham bom aproveitamento dos nutrientes e energia, preços competitivos e responsabilidade ambiental (NRC, 2011; IRVIN & TABRETT, 2005).

A digestibilidade aparente pode ser é mensurada *in vivo* pela coleta de fezes, utilizando dois principais métodos. O “método direto” implica a coleta total de fezes. O CDA é calculado pelo balanço de massas entre a quantidade do nutriente ou energia ingerida e a quantidade do nutriente ou energia excretada, utilizando a seguinte equação:

$$CDA\% = \frac{(I - F)}{I} \times 100$$

Onde:

CDA%: coeficiente de digestibilidade aparente

I: quantidade de nutriente ou energia ingerida

F: quantidade de nutriente ou energia defecada

N: nutriente (%) ou energia (kcal kg⁻¹) nas fezes, dieta teste, dieta referência ou ingrediente teste.

No “método indireto”, não é necessária a coleta total das fezes produzidas ou o conhecimento exato do consumo de ração. Por exemplo, no método indireto com utilização de marcador inerte, ocorre a coleta parcial das fezes e a digestibilidade é determinada pela concentração de um nutriente ou energia em relação a um indicador inerte presente no alimento e nas fezes. Este método é o mais empregado na determinação da digestibilidade em peixes. Alguns marcadores usuais em ensaios de digestibilidade são: óxido de cromo, bário, ítrio, titânio, dentre outros. Vale ressaltar que o marcador não pode interferir na digestibilidade e na palatabilidade da dieta (BELAL, 2005, KITAGIMA & FRACALOSSO, 2010). Para o método indireto, utilizam-se as equações a seguir no cálculo do CDA.

Para os nutrientes (CHO & SLINGER, 1979):

$$CDA\% = 100 - \left[100 \times \left(\frac{\% \text{indicador na Dieta}}{\% \text{indicador nas Fezes}} \times \frac{N \text{ Fezes}}{N \text{ Dieta}} \right) \right]$$

Para os ingredientes, utilizando-se uma proporção de 70% da dieta referência e 30% do ingrediente teste, baseado em CHO & SLINGER (1979) e BUREAU et al., (1999):

$$CDA_{ing}(\%) = CDA\%Dt + (CDA(\%)Dt - CDA(\%)Ref) \times \frac{0.7 \times NRef}{0.3 \times NIng}$$

Onde:

CDA%: coeficiente de digestibilidade aparente

I: quantidade de nutriente ou energia ingerida

F: quantidade de nutriente ou energia defecada

N: nutriente (%) ou energia (kcal kg⁻¹) nas fezes, dieta teste, dieta referência ou ingrediente teste

Dt: dieta teste

Ref: dieta referência

Ing: ingrediente

O método direto é menos usual, pois envolve práticas complexas como alimentação forçada e imobilização para extração das fezes, o que causa um estresse que pode interferir na digestão dos alimentos alterando os coeficientes de digestibilidade (NRC, 2011). No método indireto, por outro lado, a coleta pode ser feita após sedimentação das fezes em tubos coletores acoplados ao fundo de tanques cilíndricos onde as fezes decantam rapidamente (KITAGIMA & FRACALOSSI, 2010).

Diversos fatores podem interferir nos coeficientes de digestibilidade da energia e dos nutrientes dos ingredientes, dentre eles: a composição da matéria prima ou ingrediente, formas de armazenamento, tamanho do pélete da ração e granulometria dos ingredientes (PEZZATO et al., 2002; NRC 2011). O processamento das dietas também influencia sobremaneira na sua digestibilidade. O uso de rações peletizadas é o mais popular na alimentação animal. No entanto, atualmente é consensual que este não é o processamento mais adequado para rações destinadas à alimentação de peixes, sendo a extrusão o processo mais adequado (PASTORE et al., 2012). As dietas extrusadas apresentam vantagens principalmente porque seu processamento envolve cozimento em altas temperaturas, o que aumenta a digestibilidade do amido e destrói fatores antinutricionais, promovendo melhor digestibilidade das dietas (JOBLIN et al., 2001; ZHANG, 2011). A possibilidade de obter dietas com baixa densidade,

que flutuem na água, também é uma vantagem importante do processo de extrusão, já que facilitam muito o manejo alimentar nas pisciculturas.

Além disso, estudos de digestibilidade relatam que aspectos metodológicos, tais como: tempo de aclimação às dietas experimentais, temperatura da água, metodologias de coletas de fezes, número de repetições, densidade de estocagem nos tanques experimentais e práticas de manejo durante o ensaio, podem influenciar o consumo de alimento e, conseqüentemente, os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes (BISWAS et al., 2007; KITAGIMA & FRACALOSSI, 2010; BLYTH et al., 2015). No entanto, estudos sobre essas abordagens metodológicas são escassos para espécies nativas brasileiras.

Alguns ensaios de digestibilidade de ingredientes em rações para pirarucu foram realizados recentemente. CIPRIANO et al. (2016) analisaram a digestibilidade de ingredientes proteicos de diferentes fontes. Neste estudo, foi observado o melhor aproveitamento de ingredientes de origem animal em relação aos de origem vegetal. Do mesmo modo, CIPRIANO et al. (2015) analisaram a digestibilidade de ingredientes energéticos (amido de milho, milho, farelo de arroz e farelo de trigo) e relataram maiores coeficientes de digestibilidade da matéria seca e proteína bruta para o milho (CDA= 76,37% e 93,44%, respectivamente) e amido de milho (CDA= 70,66% e 90,94%, respectivamente), seguidos por farelo de arroz (CDA= 46,23% e 68,23%, respectivamente) e farelo de trigo (CDA= 45,13% e 68,58%, respectivamente). Em relação à digestibilidade da energia bruta, não houve diferenças significativas entre os ingredientes (amido de milho= 47,87; farelo de arroz = 42,23; milho=40,10; farelo de trigo= 47,37). Nesses estudos, os coeficientes de digestibilidade aparente obtidos foram baixos, o que pode ser explicado pelo hábito alimentar carnívoro da espécie, mas também pelo fato das dietas experimentais terem sido peletizadas, processamento que não promove o devido cozimento e disponibilização do amido (STONE, 2003), diferentemente do processo de extrusão, empregado industrialmente.

1.5 CARBOIDRATOS: CARACTERIZAÇÃO E USO EM DIETAS PARA PEIXES

Carboidratos são macromoléculas compostas de carbono e água. São formados por arranjos moleculares de sacarídeos (açúcares), o que lhes confere classificações genéricas como monossacarídeos, oligossacarídeos ou polissacarídeos, de acordo com a quantidade de açúcares em suas estruturas. Os polissacarídeos, além de serem a forma de carboidratos mais abundante na natureza, estão intimamente relacionados a diversas funções nos seres vivos, seja atuando

como reservas energéticas para animais (glicogênio) e plantas (amido) ou como constituintes de parede celular, como é o caso da celulose nas plantas e da quitina em crustáceos e insetos (NELSON & COX, 2014).

Os carboidratos vegetais são classificados em polissacarídeos de reserva (amido) e polissacarídeos não amiláceos (PNAs). Os PNAs são os principais componentes da parede celular de plantas, dentre os quais estão a celulose, hemicelulose e pectinas. Essas moléculas são compostas por inúmeros tipos de monômeros, arranjados por ligações β -glicosídicas, que não são quebradas pelos peixes, devido à ausência ou insuficiência na ação das enzimas β -glucanase e β -xilanasas, que são necessárias para sua digestão (KUZ'MINA, 1996). Essa fração do carboidrato não digestível é comumente conhecida como fibra alimentar, importante componente de cereais e leguminosas, sendo um dos principais fatores limitantes no uso de fontes vegetais em dietas para peixes (KAMALAN et al., 2017).

O amido, polímero de armazenamento energético dos vegetais, é o carboidrato mais abundante na alimentação humana (MARZZOCO & TORRES, 2011). É constituído de duas macromoléculas: a amilose, constituída de moléculas de glicose ligadas em arranjo linear por ligações glicosídicas α -1-4, e a amilopectina, formada por cadeias ramificadas de açúcares, unidos por ligações dos tipos α -1-4 e α -1-6 (DIMANTOW et al., 2004). Há ainda estudos que revelam a existência de um terceiro componente do amido que é chamado de material intermediário, composto de moléculas cujas estruturas e propriedades estão entre as da amilose e amilopectina e que influenciam nas propriedades físico-químicas do amido (JANE, 2009; DENARDIN & SILVA, 2009).

O amido é sintetizado em duas estruturas celulares, seja nos plastídios quando são destinados à produção de energia que será utilizada de forma rápida para manutenção da planta, ou em amiloplastos contidos no endosperma dos grãos quando seu destino é o armazenamento por longos períodos com a função de reserva energética (PERES & BENTORF, 2010). O amido de reserva é estocado na forma de grânulos, sua composição tem proporções de amilose e amilopectina variando entre 20 a 30% e 70 a 80%, respectivamente (WANG et al., 2015; WANG & COPELAND, 2015). Os grânulos de amido possuem tamanhos e formas que variam de acordo com a fonte vegetal e seu estágio de desenvolvimento. Quanto ao tamanho, podem variar entre <1 a 100μ de diâmetro e os formatos conhecidos são ovais, esféricos, poligonais, alongados ou em forma de disco, dentre outros (LEONEL, 2007; JANE, 2009).

As proporções de amilose e amilopectina variam de acordo com a fonte vegetal e estão relacionadas às propriedades físico-químicas dos grãos de amido como absorção de água,

gelatinização, retrogradação e resistência à ação enzimática no processo de digestão (COPELAND et al., 2009; WANG et al., 2011). Além disso, o tipo de açúcar, as ligações entre eles e o grau de polimerização determinam a eficiência com que as enzimas digestivas serão capazes de hidrolisar os carboidratos e disponibilizá-los ao metabolismo (ENGLYST & ENGLYST, 2005). Em relação à digestão, o amido é classificado em amido de digestão rápida (*rapidly digestible starch*, RDS), amido de digestão lenta (*slowly digestible starch*, SDS) e amido resistente ou não digestível (*resistant starch*, RS) (ENGLYST & ENGLYST, 2005).

Os peixes não têm exigência nutricional em carboidratos. Isso porque evoluíram no ambiente aquático, onde reservas de carboidratos são escassas. Desta forma, não desenvolveram especialidades em digerir e absorver de maneira eficiente os alimentos ricos em carboidratos. Portanto, os peixes são mais eficientes em utilizar lipídios e proteínas como fonte de energia (NRC, 2011; KAMALAM, 2017).

Entretanto, a adição de carboidratos em dietas para peixes é uma prática o comum, visto que são abundantes nos sub-produtos dos grãos, sendo amplamente disponíveis e têm baixo custo. Portanto, carboidratos são incluídos nas rações com o intuito de evitar o uso de proteínas, que é um nutriente de alto custo, no metabolismo energético. O chamado efeito poupador de proteína já foi demonstrado em espécies de peixes como o *Rhamdia quelen*, *Pagrus major*, *Cyprinus carpio*, *Carassius auratus gibelio* e *Scophthalmus maximus* (MORO et al., 2010; GARCÍA-MEILÁN et al., 2014; FAN et al., 2016; LI et al., 2014; WANG et al., 2016, ZENG et al., 2015). O efeito poupador de proteína promovido pela adição de carboidratos à dieta ajuda a reduzir a liberação de compostos nitrogenados no sistema de produção e diminuir o custo das rações. Além disso, os carboidratos, dependendo de seu conteúdo fibroso, podem influenciar no trânsito gastrointestinal e ajudar a promover estabilidade do bolo fecal (HEMRE & DENG, 2015; KAMALAM et al., 2017; NRC, 2011). A adição de carboidratos em proporções adequadas pode melhorar o desempenho e a eficiência alimentar dos peixes; no entanto, se adicionados em excesso, promovem o mau aproveitamento das outras fontes nutricionais pois os peixes atingem a saciedade rapidamente e não ingerem as quantidades necessárias dos outros nutrientes, além do acúmulo excessivo de gordura corporal ocasionado pela excesso de energia oriunda da dieta, que é depositada no corpo na forma de gordura (ZHANG et al., 2009; MORO et al., 2010; NRC, 2011). Do ponto de vista prático da confecção de dietas, o uso fontes ricas em amido é essencial porque elas atuam como agentes aglutinantes, ajudando na extrusão das rações. Durante o processo de extrusão, as condições de alta temperatura, umidade e pressão causam a expansão e gelatinização do amido contido nos

ingredientes, o que confere ao pélete maior estabilidade e flutuabilidade na água (MORO & RODRIGUES, 2015; KAMALAN, 2017).

Em se tratando do aproveitamento dos carboidratos pelos peixes, diversos fatores podem influenciar, promovendo ou prejudicando seu uso pelo organismo. Os alimentos de origem vegetal utilizados em dietas para peixes são predominantemente constituídos de amido e polissacarídeos não amiláceos, sendo que a eficiência de sua digestão e absorção depende dos percentuais desses componentes na composição dos alimentos. No caso dos alimentos ricos em amido, a utilização é possível, já que os peixes produzem enzimas responsáveis pela digestão do amido (BRITO et al., 2008; KROGDAHL et al., 2005; ENES et al., 2009; NRC, 2011). No entanto, fatores antinutricionais presentes nos PNAs dificultam seu aproveitamento, como é o caso da fibra alimentar, que não é metabolizada pelos peixes, uma vez que esses não sintetizam as enzimas necessárias para a digestão destes compostos. Portanto, a inclusão de carboidratos nas dietas para aquicultura deve ser rigorosamente avaliada (FRACALOSSO & CYRINO, 2013, KAMALAN et al., 2017; LI et al., 2014). Além disso, a composição alimentar tem a capacidade de modular a produção de enzimas digestivas. Juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*), alimentados com dietas ricas em carboidratos, apresentaram maior atividade da enzima maltase quando alimentados com fonte contendo maior teor de PNA (farelo de trigo) em relação a fontes ricas em amido (resíduo de mandioca, milho e quirera de arroz) (GOMINHO-ROSA et al., 2015).

O hábito alimentar das espécies é outro fator que interfere na utilização de carboidratos. Espécies carnívoras têm menor capacidade de aproveitar carboidratos, enquanto que espécies herbívoras e onívoras se adaptam melhor à adição desses componentes em suas dietas (KROGDAHL et al., 2005). No entanto, mesmo entre espécies de mesmo hábito alimentar, pode haver diferenciação na digestão e absorção de carboidratos, o que já foi demonstrado na comparação entre tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) e jundiá, duas espécies onívoras que apresentam diferenças quanto à digestibilidade do amido e atividade das enzimas amilase e maltase quando alimentadas com fontes ricas em amido (GOMINHO-ROSA et al., 2015). Na espécie carnívora *Solea senegalensis* foi relatada uma rápida diminuição da glicose plasmática, o que sugere que esta espécie possui maior adaptação ao carboidrato na dieta e relação a outros carnívoros (CONDE-SIEIRA et al., 2015).

Peixes carnívoros apresentam diversas restrições quanto ao aproveitamento dos carboidratos da dieta. Comparação entre onívoro carpa comum, *Cyprinus carpio*, e o carnívoro truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss*, mostrou que a espécie carnívora apresenta menor

atividade das enzimas digestivas, o que torna o processo de digestão dos alimentos menos eficiente (HIDALGO et al., 1999). Além disso, peixes carnívoros possuem menor capacidade de metabolizar a glicose resultante do processo de digestão. Isso se dá devido à baixa densidade de receptores de insulina nos tecidos desses peixes (PARRIZAS et al., 1994) o que faz com que estes tenham um quadro de hiperglicemia plasmática prolongada após uma alimentação rica em carboidratos (PANSERAT et al., 2000).

1.6 FONTES DE CARBOIDRATOS EM DIETAS PARA PEIXES

Considerando a notável produção agropecuária brasileira, observa-se uma grande variedade de produtos ou subprodutos vegetais com potencial de uso como ingredientes em rações para peixes, podendo substituir a farinha de peixe, principal ingrediente tradicionalmente utilizado na formulação de dietas na aquicultura (BARONE, 2017, PASTORE et al., 2012; PEZZATO et al., 2002). O uso de ingredientes de fonte vegetal, em especial, apresenta vantagens pela alta disponibilidade e, conseqüentemente, baixo custo (FRACALOSSO & CYRINO, 2013; KAMALAM et al., 2017). A produção mundial de cereais em 2018 foi estimada em 2.608,6 milhões de toneladas, sendo a maior parcela dessa produção vindo dos países asiáticos que somam 1.154,6 milhões de toneladas, seguida pelos europeus (524 milhões de toneladas), América do Norte (494,2 milhões de toneladas), América do Sul (215,4 milhões de toneladas) e África (189,8 milhões de toneladas). Na América do Sul, o Brasil desponta como o maior produtor de grãos com 101,8 mil milhões de toneladas, em 2018 (FAO, 2019). Segue abaixo uma breve descrição ingredientes vegetais testados no presente estudo: milho, sorgo, arroz e trigo.

O milho é o principal alimento energético utilizado na fabricação de dietas para animais, incluindo peixes. É constituído basicamente de amido, sendo uma importante fonte de energia, rica também em betacarotenos e vitamina A. Apresenta alta palatabilidade e alta digestibilidade para peixes carnívoros e onívoros (PEZZATO et al., 2002, PASTORE et al., 2012; SANTOS-CIPRIANO et al., 2015). A disponibilidade de milho no cenário agrícola brasileiro é alta, com uma produção em torno de 85 mil toneladas na safra 2017/2018 (CONAB, 2018). Além disso, pode ser encontrado tanto como milho em grão e farelo de milho, como na forma de subprodutos, como “glúten” de milho, fubá de milho, dentre outros (PASTORE et al., 2012).

O arroz é tradicionalmente um dos cereais mais produzidos no mundo. É principalmente utilizado na alimentação humana, mas seus subprodutos são destinados à alimentação animal.

É constituído predominantemente de amido, o que lhe caracteriza como uma excelente fonte de energia, além de ser fonte de vitaminas e minerais (WALTER et al., 2008). O processamento do arroz origina 70% de endosperma, que é utilizado na alimentação humana, além de subprodutos como casca (20%), farelo (8%) e gérmen (2%), que podem ser usados em dietas animais (HOED et al., 2006; CARVALHO et al., 2018). O total de endosperma produzido passa ainda por uma triagem que origina em torno de 14% de grãos quebrados originando o subproduto conhecido como quirera de arroz, um subproduto o qual possui a composição do grão de arroz, e que tem sido amplamente utilizado na alimentação animal (LIMBERGER et al., 2008, CARVALHO et al., 2018). O trigo, utilizado principalmente em forma de farinha, é um dos cereais de maior importância econômica e nutricional na alimentação humana (ROSSI & NEVES, 2004). Dos subprodutos do trigo, o farelo é o mais utilizado na alimentação animal. Devido a sua composição com alta concentração de fibras resistentes à digestão enzimática, seu uso apresenta restrições. No entanto, os processos aplicados na indústria de rações como moagem e extrusão melhoram a funcionalidade dessas fibras (PASTORE et al., 2012; DHINGRA et al., 2012). O farelo de trigo representa em torno de 13 a 19 % do peso total do grão de trigo. É rico em minerais, fibras, vitaminas do complexo B e compostos bioativos que possuem propriedades promotoras da saúde em humanos (REISINGER et al., 2013).

Outro cereal de importância para a alimentação animal é o sorgo. Esse é quinto cereal mais produzido no mundo e bastante consumido pelas populações, mas no Brasil seu uso é em sua maioria restrito à alimentação animal (QUEIROZ et al., 2015). Apresenta perfil de composição semelhante ao milho, com média em torno de 70% de amido, 11% de proteína, 3% lipídios e 2% de fibra, o que o torna um ingrediente energético com potencial uso para a alimentação animal, principalmente as variedades de baixo teor de tanino, as quais apresentam redução em fatores antinutricionais que são comuns em diversas variedades desse cereal (ANTUNES et al., 2007, MARQUES et al., 2007). A Tabela 1 apresenta a composição nutricional e características do amido de cereais e seus derivados normalmente usados como ingredientes energéticos em dietas para a alimentação animal.

1.7 AVALIAÇÃO DE CARBOIDRATOS NA NUTRIÇÃO DE PEIXES

A avaliação dos alimentos é um procedimento fundamental a ser realizado antes da escolha de um ingrediente para compor dietas para peixes. Fatores como composição química, qualidade, digestibilidade, palatabilidade, níveis de inclusão nas dietas e facilidade de

processamento são exemplos de alguns aspectos relacionados aos ingredientes que devem ser avaliados para que se assegure que sejam adequados à formulação de ração para uma determinada espécie, atendendo suas exigências nutricionais, promovendo o adequado crescimento, possibilitando uma extrusão adequada e boa condição sanitária (GLENCROSS et al., 2007). A capacidade de aproveitar os carboidratos da dieta pode ser determinada por meio da avaliação da digestibilidade, a qual informa sobre a biodisponibilidade dos nutrientes e energia dos potenciais ingredientes, sendo, portanto, fundamental no processo de escolha.

Tabela 1. Composição nutricional e características do amido dos cereais e seus derivados, usados como ingredientes energéticos em dietas para a alimentação animal.

Fração (%) e características do amido	Milho	Sorgo	Arroz	Trigo
Matéria seca	89,08 ^{A1}	88,93 ^{C1}	89,60 ^{H1}	88,39 ^{J1}
		85,88 ^{E10}	96,06 ^{I1}	89,66 ^{L1}
Proteína bruta	7,27 ^{A1}	12,20 ^{D4}	15,24 ^{H1}	14,62 ^{J1}
		16,34 ^{C1}	17,43 ^{I1}	18,95 ^{L1}
			8,86 ^{G1}	
Extrato etéreo	4,97 ^{A1}	5,50 ^{C1}	21,29 ^{H1}	2,36 ^{J1}
		2,35 ^{E10}	8,77 ^{I1}	6,09 ^{L1}
			4,15 ^{G1}	
Cinzas	1,23 ^{A1}	1,95 ^{C1}	9,14 ^{H1}	0,72 ^{J1}
		1,86 ^{E10}	11,40 ^{I1}	4,50 ^{L1}
			1,80 ^{G1}	
Fibra detergente neutro	15,87 ^{A6}	9,80 ^{E10}	21,53 ^{H10}	45,39 ^{L6}
		10,03 ^{C1}	24,30 ^{I10}	2,65 ^{J10}
			4,70 ^{G10}	40,10 ^{L10}
Amilose	27,8 ²	16 a 23 ⁸	1 a 25 ^{M11}	26 A 28 ⁵
Amido	65 a 70 ^{B7}	49 a 78 ^{F8}	22,70 ^{H10}	76,50 ^{J10}
		56,80 ^{E10}	26,00 ^{I10}	31,35 ^{L10}
			74,45 ^{G10}	54,93 ^{M10}
Tamanho grânulos	2 a 30 μm ³	2 a 30 μm ⁸	3 a 8 μm ³	<10 a 40 μm ⁵
Formato grânulos	Esférico ³	Esférico ⁹	Poliédrico	Arredondado, lenticular ⁵
Energia, kcal g⁻¹	3.873 ^{A6}	3.860 ^{E10}	4.335 ^{H10}	3.878 ^{L6}
		3.912 ^{C10}	3.740 ^{I10}	
			3.821 ^{G10}	

^A Milho moído. ^B Grão de milho. ^C Sorgo baixo tanino. ^D Sorgo comum. ^E Sorgo alto tanino. ^F Farelo de sorgo. ^G Quirera de arroz. ^H Farelo de arroz. ^I Farelo de arroz desengordurado. ^J Farinha de trigo. ^K Farelo de trigo. ^L Grão de trigo. ^M Grão de arroz. ¹ Laboratório de nutrição de espécies aquícolas (LABNUTRI, UFSC). ² WEBER et al. (2009). ³ TESTER & QI et al. (2004). ⁴ SILVA (2015). ⁵ YONEMOTO et al. (2007). ⁶ SILVA et al. (2009). ⁷ SANTOS (2015). ⁸ KAUFMAN et al. (2017). ⁹ ACQUISGRANA et al. (2016). ¹⁰ ROSTAGNO et al. (2011). ¹¹ FREI et al. (2003).

Caracterizações do amido dos ingredientes quanto a forma e tamanho dos grânulos têm sido cada vez mais realizadas a partir da descoberta da microscopia eletrônica. Essa ferramenta é útil para identificar possíveis alterações que os grânulos de amido podem sofrer como resultado do processamento (LEONEL, 2007). A caracterização das estruturas internas

dos grânulos pode ser feita por meio da microscopia eletrônica de transmissão (MET). Já análises externas dos grânulos são realizadas com uso de microscopia eletrônica de varredura (MEV) ou microscopia de força atômica (MFA) (GALLANT et al., 1982). A MEV, em especial, é utilizada para determinar o grau de gelatinização do amido em rações comerciais processadas por extrusão (KRAUGERUD & SVIHUS, 2011). Análises de microestrutura do amido por meio de MEV podem ser aplicadas para identificar alterações nos grânulos de amido, antes e depois da digestão. Em jundiás alimentados com dietas ricas em carboidratos, análises de MEV revelaram a ocorrência de estruturas chamadas esferulitos, formadas pela junção de lipídios e cadeias de amilose e, nesse caso, refletiram a baixa digestibilidade do amido para esta espécie (GOMINHO-ROSA et al., 2015).

Considerando a crescente demanda pela produção peixes, dentre eles o pirarucu, e os entraves que a cadeia produtiva dessa espécie enfrenta, faz-se necessário o desenvolvimento de estudos que embasem o desenvolvimento de tecnologias de produção. Neste sentido, o conhecimento prévio dos ingredientes através da determinação de sua digestibilidade é essencial no processo de descoberta de fontes alimentares alternativas aos ingredientes tradicionalmente utilizados. Os ingredientes energéticos em particular, tem importância no contexto da produção de rações para peixes pois seu uso pode ser fator preponderante de redução dos custos de produção.

1.7 OBJETIVOS

1.7.1 Objetivo Geral

Avaliar a digestibilidade aparente de ingredientes energéticos em dietas práticas para juvenis de pirarucu (*Arapaima gigas*).

1.7.2 Objetivos Específicos

Determinar os coeficientes de digestibilidade da matéria seca, proteína bruta, energia bruta e amido dos ingredientes: milho, farelo de trigo, quireira de arroz, farelo de arroz desengordurado e sorgo baixo tanino.

Caracterizar a microestrutura do amido em dietas e fezes por meio de microscopia eletrônica de varredura.

2 ARTIGO CIENTÍFICO

O artigo a seguir está formatado segundo as normas do periódico *Aquaculture Nutrition*.

Ingredientes vegetais energéticos na alimentação do pirarucu da Amazônia (*Arapaima gigas*): potencial de utilização com base na digestibilidade aparente e microestrutura do amido.

Antônio Marcos Jaques Ramos¹, Ana Paula Oeda Rodrigues², Luiz Eduardo Lima de Freitas², Viviane Rodrigues Verdolin dos Santos², Bruna Mattioni¹ & Débora Machado Fracalossi^{1*}

¹ Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brasil.

² Embrapa Pesca e Aquicultura, Palmas, TO, Brasil.

*Autor correspondente: Departamento de Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias, UFSC, Rodovia Admar Gonzaga, 1346. CEP: 88034-001, Florianópolis, SC, Brasil. *E-mail*: debora.fracalossi@ufsc.br.

RESUMO

A utilização de ingredientes vegetais, ricos em carboidratos, foi avaliada na dieta para juvenis de pirarucu (*Arapaima gigas*), uma espécie carnívora amazônica com crescente interesse para a aquicultura. As fontes vegetais testadas foram milho, sorgo baixo tanino, quirera de arroz, farelo de arroz desengordurado e farelo de trigo, incluídas na proporção de 20% em uma dieta referência com 549,6 g kg⁻¹ de proteína bruta. Foi avaliada a digestibilidade da energia e nutrientes, incluindo o amido, bem como a microestrutura das dietas e fezes por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os coeficientes de digestibilidade aparente (CDAs) dos nutrientes e energia variaram significativamente em função das fontes vegetais, exceto para a proteína bruta, cujos CDAs foram semelhantes. Quirera de arroz e milho foram os ingredientes mais digestíveis, considerando-se a matéria seca e energia, enquanto que o farelo de trigo apresentou o maior CDA para o amido. A digestibilidade do amido apresentou relação inversa com o teor de amido dos ingredientes testados, mas relação direta com o teor de fibra destes. Portanto, a maior digestibilidade do amido foi detectada para o farelo de trigo e, a menor, para sorgo baixo tanino. Nas amostras fecais de milho foram detectadas estruturas semelhantes a esferulitos, as quais estão relacionadas à baixa digestibilidade do amido verificada neste ingrediente. De forma geral, o pirarucu apresentou boa capacidade de digestão dos ingredientes testados, revelando bom potencial para sua inclusão na produção de dietas comerciais para a espécie.

Palavras-chave: digestibilidade, fontes vegetais energéticas, peixe carnívoro, microscopia eletrônica de varredura.

2.1 INTRODUÇÃO

O pirarucu (*Arapaima gigas*) é um peixe nativo da Amazônia (Nelson, 2006). Tem hábito alimentar carnívoro, sendo que sua dieta natural é composta por pequenos peixes, crustáceos, moluscos e insetos (Queiroz, 2000). A pesca desordenada reduziu os estoques naturais de pirarucu levando-o à extinção em alguns locais de sua área de ocorrência (Castello et al., 2015). A aquicultura tem o importante papel de suprir a demanda pela carne desse peixe e ajudar a reduzir as pressões de captura sobre suas populações naturais. Estudos relatam o grande potencial do pirarucu para criação intensiva pela qualidade da sua carne, que é muito apreciada, pelo alto rendimento de carcaça (50%) e rápido crescimento, podendo atingir até 10 kg em um ano, além de sua resistência à hipóxia, por apresentar respiração aérea obrigatória (Soares et al., 2006; Pereira-Filho & Roubach, 2013; Ono & Kehdi, 2013). Entretanto, alguns desafios limitam sua produção em larga escala, tais como a produção de juvenis, a falta de conhecimento sobre suas exigências nutricionais em sistemas intensivos de criação, além do alto custo das rações, que encarecem o produto final (Ono & Kehdi, 2013; Pedroza-Filho et al., 2016, Rodrigues et al., 2019).

O uso de subprodutos vegetais em rações para peixes é uma tendência da aquicultura moderna, sendo uma alternativa para reduzir os custos de produção. Estes subprodutos são abundantes e apresentam baixo custo, quando comparados a ingredientes de origem animal como, por exemplo, a farinha de peixe (Kaur & Shah, 2017; FAO, 2018; Caipang et al., 2019).

Ingredientes vegetais são ricos em carboidratos e têm o amido como principal nutriente, o qual é utilizado como fonte energética em rações para aquicultura (NRC, 2011; Kamalam, 2017). Apesar dos peixes não apresentarem exigência nutricional para carboidratos (NRC, 2011), a sua adição em proporções adequadas otimiza o uso de outros nutrientes da dieta, promovendo o efeito poupador de proteína, diminuindo o custo das rações e auxiliando no processo de extrusão (García-Meilán et al., 2014; Fan et al., 2016; LI et al., 2014; Wang et al., 2016, Zeng et al., 2015).

De maneira geral, peixes carnívoros têm capacidade limitada para aproveitar os carboidratos da dieta, quando comparados aos herbívoros e onívoros (Krogdahl et al., 2005). No entanto, na espécie carnívora *Solea senegalensis* foi observada a rápida redução da glicose plasmática após o consumo de dietas ricas em carboidratos, o que sugere que esta espécie possui boa capacidade de metabolizar os carboidratos da dieta (Conde-Sieira et al., 2015). Além disso, Gominho-Rosa e colaboradores (2015) sugerem que, além do hábito alimentar, características

morfológicas do trato digestório dos peixes também podem ser fatores determinantes da sua capacidade de aproveitar alimentos ricos em amido.

Carboidratos vegetais são compostos de amido e polissacarídeos não amiláceos (PNAs), estes últimos são os principais componentes da fibra alimentar e não são digeridos pelos peixes (NRC, 2011). O amido de reserva é formado por 20 a 30% de amilose e 70 a 80% de amilopectina, que são armazenadas nos amiloplastos, na forma de grânulos de <1 a 100 μ de diâmetro, formando estruturas ovais, esféricas, poligonais, alongadas ou em forma de disco (Leonel, 2007; Jane, 2009, Peres & Bentorf, 2010). Esses aspectos variam de acordo com a fonte vegetal e determinam as propriedades físico-químicas do amido, tais como absorção de água, gelatinização, retrogradação e resistência à ação enzimática na digestão (Copeland et al., 2009; Wang et al., 2011).

Análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) são úteis para caracterizar os grânulos de amido, mostrando alterações decorrentes do processamento e indicando o grau de gelatinização do amido em rações extrusadas (Leonel, 2007; Kraugerud & Svihus, 2011). Essa ferramenta pode ainda identificar alterações morfológicas na microestrutura do amido em fezes de peixes, causadas pelo efeito da digestão (Gominho-Rosa et al., 2015).

Ensaio de digestibilidade fornecem os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA), os quais refletem o aproveitamento dos nutrientes e energia da dieta, conhecimento fundamental para a formulação de rações nutricionalmente eficientes, com preços competitivos e responsabilidade ambiental (NRC, 2011; Irvin & Tabrett, 2005). Estudos de digestibilidade com o pirarucu relataram melhor aproveitamento de ingredientes proteicos de origem animal em relação aos de origem vegetal (Cipriano et al., 2016). Em se tratando de ingredientes energéticos, peixes carnívoros de água doce, dentre eles o pirarucu, têm apresentado baixa capacidade de aproveitamento quando alimentados em experimentação com dietas peletizadas. (Teixeira et al., 2010; Cipriano et al., 2015; Melo et al., 2016). Além da fonte do ingrediente, os métodos empregados no seu processamento também são fatores importantes que influenciam na sua digestibilidade pelo pirarucu (Rodrigues et al., 2019).

O objetivo deste estudo foi avaliar a capacidade de aproveitamento de fontes vegetais ricas em carboidratos por juvenis de pirarucu, com base na digestibilidade aparente da matéria seca, proteína, energia e amido, além da análise da microestrutura dos grânulos de amido, antes e a após a digestão.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Dietas experimentais

Uma dieta referência foi formulada atendendo às exigências nutricionais recomendadas para peixes carnívoros de água doce (NRC, 2011) (Tabela 1). Cinco dietas-teste foram formuladas, utilizando-se um nível de inclusão de 20% de cada um dos seguintes ingredientes teste: milho, sorgo baixo tanino, quireira de arroz, farelo de arroz desengordurado e farelo de trigo. As cinco dietas experimentais também eram compostas por 79,5 % de uma dieta referência e 0,5% de óxido de cromo, utilizado como marcador inerte. A dieta referência, que se constituiu na sexta dieta experimental, também continha 0,5% do marcador inerte.

Os ingredientes foram moídos individualmente em moinho tipo martelo (tela de malha de 1 mm), peneirados manualmente (0,60 mm) e misturados em misturador horizontal (Inbramaq, Ribeirão Preto, Brasil). A umidade da mistura foi ajustada para 21% por aspersão de água destilada. As dietas foram extrusadas em uma extrusora de parafuso único Modelo MX40 (Inbramaq, Ribeirão Preto, SP, Brasil). As condições de extrusão foram: temperatura 85 ° C, vazão a 20% da capacidade nominal, velocidade do parafuso 220 rpm, relação largura / diâmetro de 2,3 / 1, diâmetro do parafuso 92,5 mm, comprimento do cilindro 210 mm. As dietas foram secas em estufa de ventilação forçada, acondicionadas em sacos plásticos e refrigeradas a -20 °C até o uso.

2.2.2 Condições experimentais e manejo dos peixes

As práticas de manejo dos peixes realizadas neste estudo foram aprovadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (CEUA-CNPASA) de acordo com o certificado N°35, protocolo 01/2018. Os experimentos foram realizados no Centro de Aquicultura (CEAq) do Centro Nacional de Pesquisa em Pesca, Aquicultura e Sistemas Agrícolas (CNPASA), Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), em Palmas, TO.

Tabela 1. Formulação e composição proximal da dieta referência.

Ingredientes	Conteúdo (g.kg⁻¹)
Farinha de resíduo de salmão	462,70
Farinha de vísceras	245,00
Farinha de trigo	210,00
Óleo de linhaça	10,00
Óleo de soja	10,00
Premix micromineral¹	10,70
Mistura macromineral²	49,00
Bitartarato de colina	1,60
Hidroxitolueno butilato	1,00
Composição proximal	
Matéria seca	912,0
Proteína bruta	549,6
Extrato etéreo	121,3
Cinzas	142,8
Amido total	24,52
Fibra em detergente neutro	3,45
Energia bruta, KJ/ g⁻¹	20,14

¹Produzido por Cargill, F30805CVL, Lote 0004610475 (Campinas, São Paulo). Composição por kg: ácido fólico 420 mg, ácido pantotênico 8333 mg, BHT 25.000 mg, biotina 134 mg, sulfato de cobalto 27 mg, sulfato de cobre 1833 mg, sulfato ferroso 8000 mg, iodato de cálcio 92 mg, sulfato de manganês 3500 mg, niacina 8,333 mg, selenito 100 mg, vitamina (vit.) A 1,666,670 UI, vit. B₁ 2083 mg, vit. B₁₂ 5000 µg, vit. B₂ 4166 mg vit. B₆ 3166 mg, equivalente de ácido ascórbico 66,670 mg, vit. D₃ 666.670 UI, vit. E 16,666 UI, vit. K₃ 833 mg, sulfato de zinco 23,330 mg, inositol 50 000 mg, propionato de cálcio 250,000 mg.

Juvenis de pirarucu (*Arapaima gigas*) foram adquiridos em uma piscicultura comercial (Hidrobios Aquicultura, Palmas, TO). Os peixes foram transportados em caixa transportadora Transfish (200 L) em água levemente salinizada (2%). Os juvenis foram alojados em tanques de 1000 L, onde permaneceram por um período de quarentena de 15 dias, sendo alimentados com dieta comercial para peixes carnívoros (55% de proteína bruta). Em seguida, os peixes (peso médio: 131,34 ± 3,29 g) foram distribuídos em doze tanques cilindro-cônicos com volume de 200 L, em sistema aberto de circulação de água, com vazão de 2 L min⁻¹. A biomassa média dos tanques foi de 1.313 ± 32,85 g, incluindo nove peixes por tanque. Os peixes foram adaptados ao sistema experimental durante uma semana, sendo alimentados com a dieta comercial já citada. O fotoperíodo foi de 12 h. As variáveis indicadoras da qualidade da água foram monitoradas duas vezes por semana e se mantiveram na faixa recomendada para a espécie (temperatura 29,0 ± 0,86 °C; oxigênio dissolvido 6,90 ± 0,82 mg L⁻¹; pH 6,44 ± 0,38; amônia

total $0,35 \pm 0,12 \text{ mg L}^{-1}$ (Pereira-Filho & Roubach, 2013). A temperatura e oxigênio dissolvido foram monitorados utilizando-se oxímetro digital com termômetro acoplado (Hanna HI 9146); o pH e a amônia total por meio de kit colorimétrico (ALFAKIT, Florianópolis, SC).

Tabela 2: Composição proximal dos ingredientes testados.

Fração (%) expressa em 100% de matéria seca	Milho	Quirera de arroz	Sorgo baixo tanino	Farelo de trigo	Farelo de arroz desengordurado
Matéria seca	89,08	88,89	88,93	89,66	96,06
Proteína bruta	7,23	8,86	16,34	18,95	17,43
Extrato etéreo	4,97	5,5	4,97	8,77	4,15
Cinzas	1,23	1,80	1,95	4,50	11,40
Energia bruta, kJ g⁻¹	18,80	18,85	18,88	19,62	21,82
Fibra detergente neutro	10,32	1,52	10,32	35,58	17,94
Amido total	68,26	67,67	61,46	20,87	19,44

2.2.3 Procedimentos experimentais

As dietas experimentais foram distribuídas aleatoriamente entre os tanques, em delineamento em blocos inteiramente ao acaso, já que foram feitas duas avaliações no tempo (duas repetições de cada tratamento em cada bloco, totalizando quatro repetições por dieta). Ao final de cada avaliação, um novo sorteio foi feito para a distribuição dos tratamentos entre os tanques. Em cada avaliação, antes da coleta de fezes, os peixes foram submetidos a um período de adaptação às dietas experimentais de 15 dias.

A alimentação foi fornecida duas vezes ao dia (09:00 h e 14:00 h) até à saciedade aparente. As sobras de ração foram coletadas para determinar o consumo. As fezes foram coletadas em sistema Guelph modificado, por meio de tubos plásticos de 50 mL acoplados na parte inferior dos tanques. As coletas iniciaram 30 min após a alimentação e ocorreram por um período de 3 h. Os tubos contendo as fezes eram retirados à medida que apareciam fezes visivelmente decantadas no fundo. Após as coletas, as fezes foram centrifugadas (2268 x g por 5 min), o sobrenadante dos tubos foi descartado, as fezes foram congeladas e posteriormente liofilizadas. Ao final da última coleta de cada dia, as paredes internas dos tanques foram limpas e cerca de 70% do volume de água renovado.

2.2.4 Análises laboratoriais

As análises de composição proximal dos ingredientes, dietas e fezes foram realizadas no Laboratório de Nutrição de Espécies Aquícolas (LABNUTRI, UFSC). As amostras foram moídas e homogeneizadas em moedor (modelo MDR302-127, Cadence). As análises foram conduzidas seguindo metodologia padronizados pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 1999). A umidade foi determinada por meio de secagem em estufa a 105°C até peso constante (método 950.01); o extrato etéreo, por Soxhlet (método 920.39C); o nitrogênio total por Kjeldahl (método 945.01) e N x 6,25 para a determinação da proteína bruta; as cinzas, por incineração em mufla a 550°C (método 942.05). A fibra em detergente neutro (FDN) foi determinada pelo método de Van Soest *et al.* (1991), utilizando-se o um equipamento determinador de fibra (TE-149, Tecnal, Brasil). A energia bruta foi determinada por bomba calorimétrica (PARR, modelo ASSY 6200), seguindo as instruções do fabricante. O teor de óxido de cromo III nas dietas e fezes foi determinado pelo método espectrofotométrico da difenilcarbazida, descrito por Bremer-Neto e colaboradores (2003). A determinação do amido total nas dietas e fezes foi feita pelo método enzimático da amiloglucosidade-alfa-amilase, descrito por McCleary *et al* (1997).

Os coeficientes de digestibilidade aparente (CDAs) do amido, proteína bruta, energia bruta e matéria seca foram calculados segundo as seguintes equações: Para os nutrientes (Cho & Slinger, 1979):

$$CDA\% = 100 - \left[100 \times \left(\frac{\%indicador\ na\ Dieta}{\%indicador\ nas\ Fezes} \times \frac{N\ Fezes}{N\ Dieta} \right) \right]$$

Para os ingredientes, utilizando-se uma proporção de 80% da dieta referência e 20% do ingrediente teste, baseado em Cho e Slinger (1979) e Bureau *et al* (1999):

$$CDA_{ing}(\%) = CDA\%Dt + (CDA(\%)Dt - CDA(\%)Ref) \times \frac{0,8 \times NRef}{0,2 \times NIng}$$

Onde: CDA%: coeficiente de digestibilidade aparente; I: quantidade de nutriente ou energia ingerida; F: quantidade de nutriente ou energia defecada; N: nutriente (%) ou energia (kcal. kg⁻¹) nas fezes, dieta teste, dieta referência ou ingrediente teste; Dt: dieta teste; Ref: dieta referência; Ing: ingrediente.

A MEV foi realizada no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME, UFSC). As amostras liofilizadas foram fixadas em fita de carbono e revestidas com uma camada

de ouro de 350 Å, seguido de visualização em microscópio eletrônico de varredura (modelo JEOL JSM-6390LV), com distância de trabalho de 15 mm, com uma tensão de 10 kV.

2.2.5 Análises estatísticas

Os dados de CDAs foram testados quanto à homocedasticidade e normalidade pelos testes de Levene e Shapiro-Wilk, respectivamente, em seguida foram submetidos à análise de variância one-way (ANOVA) e, quando necessário, submetidos ao teste de Tukey, para comparação das médias dos tratamentos. O coeficiente de correlação (R) foi calculado para avaliar a relação entre os teores de amido e fibra dos ingredientes e os CDAs do amido. As análises estatísticas foram executadas no software Statistica versão 7.0 (STATSOFT, 2004) e o nível de significância de 5% foi adotado para todos os testes.

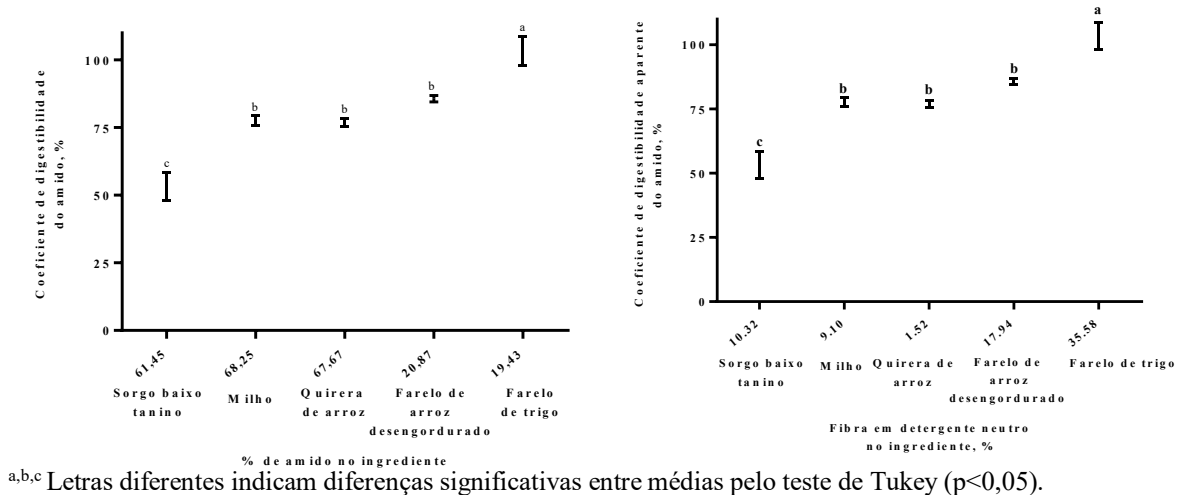
2.3 RESULTADOS

2.3.1 Digestibilidade do amido

A digestibilidade do amido variou significativamente entre as fontes vegetais (Figura 2). A melhor digestibilidade foi registrada para o farelo de trigo ($103,45 \pm 5,31$ %). Já o farelo de arroz desengordurado, milho e a quirera de arroz apresentaram valores de digestibilidade intermediários e semelhantes entre si ($85,64 \pm 1,24$ %, $77,73 \pm 1,84$ % e $76,80 \pm 1,41$ %, respectivamente), e o sorgo baixo tanino, apresentou o menor coeficiente de digestibilidade ($53,36 \pm 5,18$ %).

O coeficiente de correlação (R) mostrou interação positiva significativa entre os teores de amido nos ingredientes e seus coeficientes de digestibilidade ($R=0,6061$, $p<0,05$), indicando que a digestibilidade do amido é influenciada pelo teor de amido dos ingredientes, com relação inversamente proporcional. Foram observadas ainda variações diretamente proporcionais dos CDAs do amido em relação ao teor de fibra dos ingredientes testados (Figura 1).

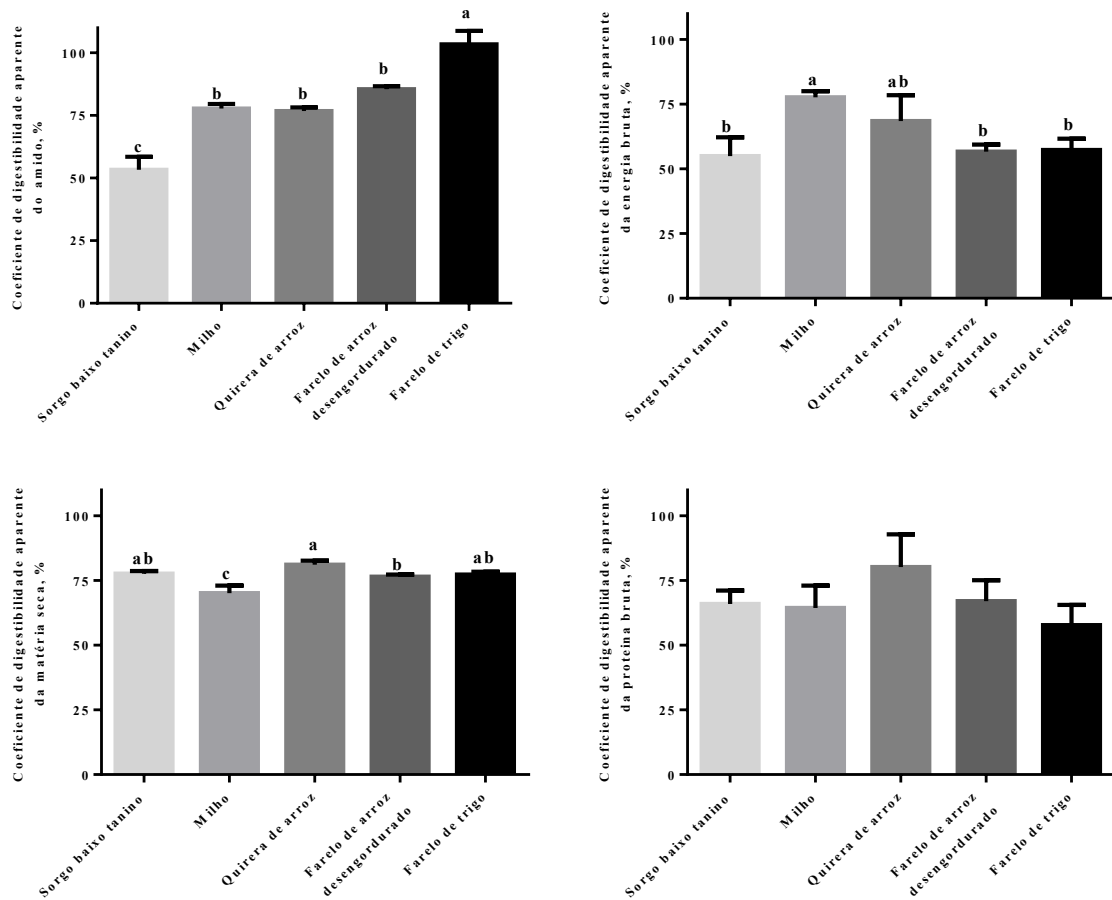
Figura 1: Relação entre os coeficientes de digestibilidade do amido e os teores de amido e fibra em detergente neutro em ingredientes vegetais, testados para juvenis de pirarucu (*Arapaima gigas*).



2.4 Digestibilidade da matéria seca, proteína bruta e energia bruta

A digestibilidade da matéria seca diferiu significativamente entre os ingredientes. A quirera de arroz apresentou a maior digestibilidade da matéria seca ($81,14 \pm 1,52$ %), seguida pelo sorgo baixo tanino ($77,71 \pm 0,99$ %) e farelo de trigo ($76,5 \pm 0,81$ %). Já o farelo de arroz desengordurado e milho apresentaram os menores CDAs para a matéria seca ($76,5 \pm 0,81$ % e $70,15 \pm 2,94$ %, respectivamente). A digestibilidade da proteína não diferiu significativamente entre os ingredientes, porém apresentou ampla variação entre os mesmos (farelo de trigo $54,73 \pm 7,85$ %, milho $64,44 \pm 8,64$ %, sorgo $65,94 \pm 5,20$ %, farelo de arroz desengordurado $67,07 \pm 8,07$ % e quirera de arroz $80,23 \pm 12,66$ %). Os diferentes ingredientes influenciaram significativamente os CDAs da energia, que foram maiores em peixes alimentados com milho ($77,66 \pm 2,36$ %) e quirera de arroz ($68,50 \pm 10,00$ %) e menores naqueles alimentados com farelo de trigo ($57,35 \pm 4,31$ %), farelo de arroz desengordurado ($56,68 \pm 2,75$ %) e sorgo baixo tanino ($54,98 \pm 7,28$ %).

Figura 2: Coeficientes de digestibilidade aparente do amido, matéria seca, energia e proteína de ingredientes vegetais em dietas para juvenis de pirarucu (*Arapaima gigas*).



a, b, c. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre médias pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Barras verticais indicam o desvio padrão.

2.3.2 Microscopia eletrônica de varredura

As dietas apresentaram microestrutura homogênea e levemente porosa (Figura 4a). Em algumas amostras, foi possível identificar grânulos de amido soltos, não complexados com o restante dos componentes da ração. Nas dietas, foram observados grânulos de amido dos tipos A e B, segundo classificação proposta por Peng et al. (1999). Os grânulos do tipo A ($>10 \mu\text{m}$) foram observados nas dietas contendo os ingredientes teste milho, farelo de arroz desengordurado e quirera de arroz; enquanto que, os do tipo B ($<10 \mu\text{m}$), foram observados nas dietas sorgo baixo tanino e farelo de trigo. Os diâmetros médios dos grânulos de amido são mostrados na Figura 3. Os grânulos do tipo B, observados na dieta teste milho, apresentaram formato esférico e tamanhos de 2,80 a 3,40 μm (Figura 4b). Já os grânulos nas dietas farelo de arroz desengordurado e quirera de arroz, também do tipo B, apresentaram formatos esféricos

(Figuras 4d, 4e), sendo que seus tamanhos variaram de 4,80 a 6,77 μm na dieta quirera de arroz e de 4,85 a 5,02 μm na dieta farelo de arroz desengordurado. Por outro lado, os grânulos de amido presentes na dieta sorgo baixo tanino e farelo de trigo eram do tipo A, com maior tamanho, variando de 10,02 a 15,25 μm na dieta teste sorgo baixo tanino e 14,12 a 31,20 μm na dieta farelo de trigo. Os formatos dos grânulos eram poligonais e ovais nas dietas sorgo baixo tanino e farelo de trigo, respectivamente (Figuras 4c, 4f).

Figura 3: Diâmetro médio dos grânulos de amido nas dietas experimentais. *A e B indicam os tipos de amido: A = grânulos de amido com tamanho $>10 \mu\text{m}$ e B = grânulos de amido com tamanho $<10 \mu\text{m}$ (Peng et al., 1999).

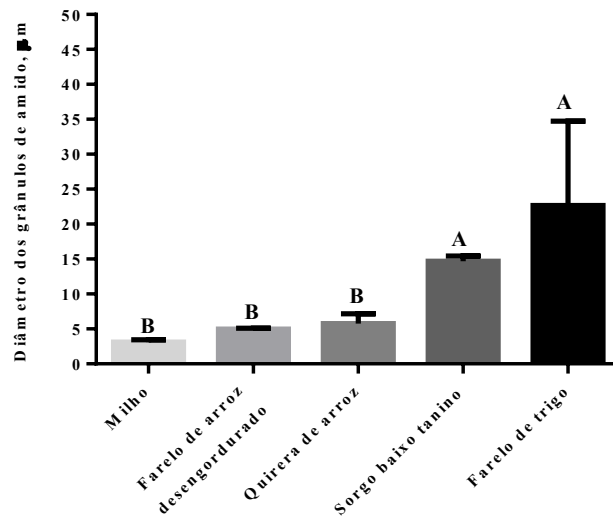
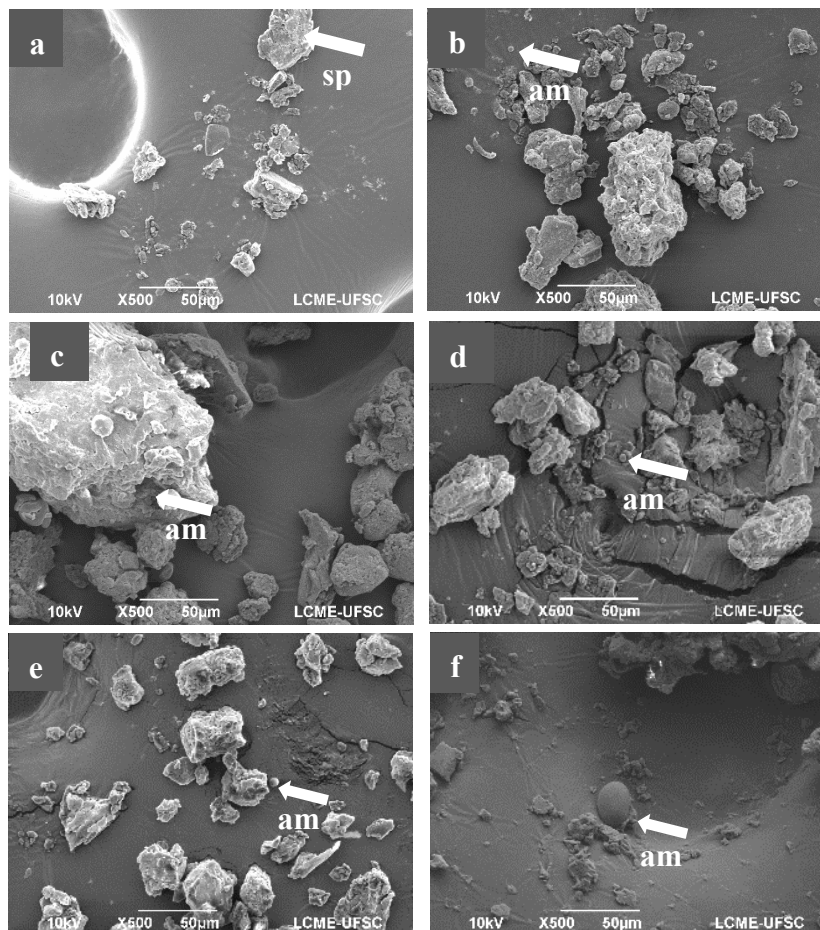


Figura 4: Microscopia eletrônica de varredura das dietas experimentais: a = dieta referência, b = milho, c = sorgo baixo tanino, d = farelo de arroz desengordurado, e = quirera de arroz, f = farelo de trigo, am: grânulos de amido, sp: superfície porosa.

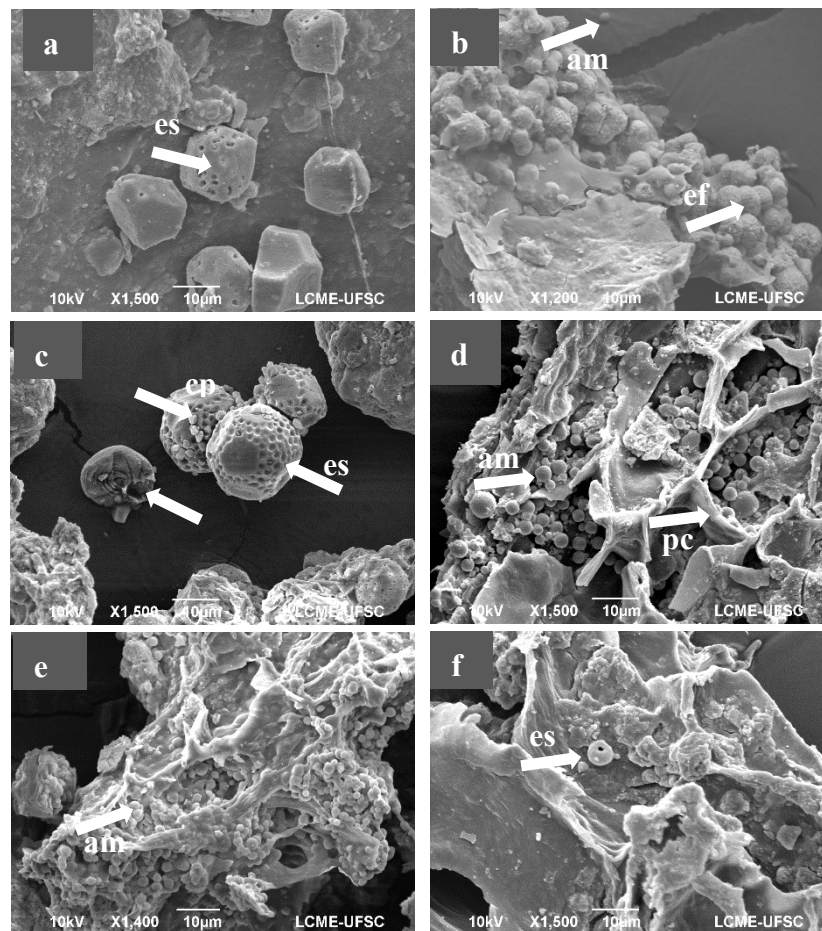


As amostras de fezes apresentaram concentrações de grânulos de amido superior àquelas encontradas nas dietas experimentais. Nas fezes dos peixes alimentados com a dieta referência, ocorreram grânulos de amido grandes (10 a 20 μm), oriundos da farinha de trigo, fonte de carboidrato utilizada desta dieta (Figura 5a). Esses grânulos apresentaram formato irregular e erosões superficiais (Figura 5a), que são indícios de ataque enzimático sobre o amido.

Nas fezes provenientes dos peixes alimentados com a dieta milho, foram observadas estruturas semelhantes a esferulitos (Figura 5b), como relatado por Singh et al. (2010) e Gominho-Rosa et al. (2015). Já as amostras fecais dos peixes alimentados de sorgo baixo tanino apresentaram grânulos de amido envoltos por corpos proteicos, estruturas tipicamente presentes no amido de sorgo como descrito por De Mesa-Stonestreet et al. (2010), bem como regiões com erosões circulares, causadas pela remoção de corpos proteicos que estavam aderidos aos

grânulos (Figura 5c). O formato poligonal observado nesses grânulos é decorrente da compactação que os mesmos sofrem nos amiloplastos durante a síntese dos grânulos, que são características de amido vítreo.

Figura 5: Microscopia eletrônica de varredura das fezes de juvenis de pirarucu alimentados com ingredientes vegetais: a = dieta referência, b = milho, c = sorgo baixo tanino, d = farelo de arroz desengordurado, e = quirera de arroz, f = farelo de trigo, am = grânulos de amido, cp = corpos proteicos, es = erosão superficial, ef = esferulito, pc = parede celular de amiloplastos. As imagens estão nas escalas que permitem melhor visualização dos detalhes.



Em uma das amostras (Figura 5c), foi possível observar um grânulo de amido partido ao meio, expondo as regiões amorfa e cristalina, formadas pelo arranjo das moléculas de amilopectina e amilose, respectivamente. Ainda, observaram-se sinais de digestão enzimática mais expressivos nas regiões amorfas do grânulo (Figura 5c). Amostras fecais de farelo de arroz desengordurado e quirera de arroz apresentaram grânulos de amido arranjados dentro de amiloplastos, com paredes celulares rompidas, provavelmente por ação enzimática (Figura 5d,

5e). Já nas amostras fecais de farelo de trigo, ocorreram grânulos de amido com grandes erosões circulares concêntricas, indicando sítios de ataque enzimático (Figura 5f).

2.4 DISCUSSÃO

Os CDAs do amido apresentaram diferenças expressivas entre as fontes vegetais. Isso pode estar relacionado tanto à composição dos cereais que originaram os ingredientes, bem como ao seu processamento, os quais têm influência em suas propriedades físico-químicas (Sorensen, 2012) e, conseqüentemente, em sua digestibilidade. Os ingredientes milho e sorgo baixo tanino estavam na forma de farinha, obtidas de grãos inteiros. A quirera de arroz, composta de grãos de arroz danificados no processamento (Nakano et al., 2012), também foi processada na forma de farinha para adição à dieta. A composição desses ingredientes reflete, portanto, a composição original dos cereais de origem, diferentemente do farelo de arroz desengordurado e farelo de trigo, os quais são subprodutos da indústria alimentícia humana, que aproveita principalmente a fração amilácea dos cereais (Sereewatthanawut et al., 2008, Ravindran & Jaiswal, 2016), fazendo com que os subprodutos sejam ricos em polissacarídeos não amiláceos (PNAs) (Wang et al., 2016). Portanto, este estudo demonstrou que a composição dos ingredientes vegetais também influencia no aproveitamento dos nutrientes das dietas, tal como relatado por Hemre e colaboradores (2018).

Os CDAs do amido foram influenciados negativamente pelo teor de amido dos ingredientes (Figura 1). Isso já foi relatado em peixes carnívoros como o salmão-do-atlântico (*Salmo solar*) (Aksnes, 1995; Hemre et al., 1995; Hillestad et al., 2001; Hua & Bureau, 2009) e a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (Krogdahl et al., 2004; Hua & Bureau, 2009), bem como para o jundiá, um onívoro com tendência à carnivoría (Gominho-Rosa et al., 2015). Segundo González-Félix e colaboradores (2010), ingredientes com altos teores de amido nem sempre serão fontes de energia adequada para os peixes, já que estes possuem capacidade limitada de metabolizar as altas concentrações de glicose resultantes da sua digestão.

Por outro lado, o conteúdo de fibra alimentar influenciou os CDAs do amido. Os farelos de trigo e arroz desengordurado, que possuem maiores teores de fibra, resultaram nos maiores CDAs. O alto conteúdo de fibra, apesar de prejudicar a disponibilidade de nutrientes para algumas espécies (Sinha et al., 2011, Rodrigues et al., 2012), pode favorecer o aumento dos CDAs do amido, como observado no presente estudo e também relatado para o jundiá, um

onívoro com tendência à carnivoría (Gominho-Rosa et al., 2015). O uso dos carboidratos da dieta pelos peixes carnívoros é reflexo da capacidade de digestão, absorção e utilização metabólica da glicose (Kamalan et al., 2017). Alimentos ricos em PNA têm digestão lenta, resultando em menor índice glicêmico pós-prandial, em relação a alimentos ricos em amido (Gatesoupe et al., 2014). Provavelmente os farelos de trigo e arroz desengordurado sofreram lenta digestão e liberação da glicose, o que evitou a ocorrência de altos picos de glicose pós-prandial no pirarucu, diferente da resposta clássica de hiperglicemia em peixes alimentados com dietas ricas em carboidratos (Fu, 2007, Stone 2003; Booth et al., 2013; Conde-Sieira et al., 2015). Isto propiciou que a glicose fosse metabolizada à medida que era liberada na corrente sanguínea. Desta forma, provavelmente o pirarucu apresentou maior facilidade em regular a glicemia após a ingestão dos farelos de trigo e arroz desengordurado, o que resultou no maior aproveitamento destas fontes, ricas em PNAs.

Os CDAs da energia para o milho e farelo de trigo do presente estudo foram maiores do que os já relatados para juvenis de pirarucu (40,10 % e 47,37%, respectivamente) (Cipriano et al. 2015). Da mesma forma, o CDA da matéria seca para o farelo de trigo foi inferior (45,13%) ao do presente estudo, mas o CDA da matéria seca para o milho foi menor do que o já relatado (76,37%) (Cipriano et al. 2015). Baixos CDAs em ingredientes energéticos também foram relatados para outros peixes carnívoros. O surubim (*Pseudoplatystoma* sp), carnívoro de água doce, apresentou CDA da matéria seca para o milho, quífera de arroz e sorgo de 62,30%, 40,39% e 39,00%, respectivamente, já para a energia, os CDA's foram de 62,34%, 49,92% e 47,76%, respectivamente (Teixeira et al 2010). O pompano-da-flórida (*Trachinotus carolinus*), espécie carnívora marinha, apresentou CDAs da energia para os ingredientes farelo de trigo, milho, sorgo e farelo de arroz desengordurado de 44,90%, 44,80%, 21,6% e 12,6%, respectivamente (González-Félix et al., 2010). Os baixos CDAs encontrados nos estudos citados levaram os autores a inferir que os peixes carnívoros têm baixa capacidade de aproveitar ingredientes energéticos. Entretanto, os referidos estudos utilizaram o processo de peletização na elaboração das dietas, o qual não promove a devida gelatinização do amido, resultando em baixa digestibilidade (Stone, 2003; Moro & Rodrigues, 2015). No presente estudo, por outro lado, foi utilizado o processamento de extrusão no preparo das dietas experimentais. Isto explica as maiores digestibilidades dos nutrientes aqui encontradas, sendo reflexo da mais completa gelatinização do amido e destruição de fatores antinutricionais, que ocorrem no processo de extrusão pelo aquecimento na presença de água (Honorato et al., 2010, Enes et al., 2011).

O CDA da proteína bruta do farelo de trigo para o pirarucu foi menor do que para o carnívoro de água doce pacamã (*Lophiosilurus alexandri*, 83,50 %) (Melo et al., 2016), assim como para o surubim, nos ingredientes milho, quirera de arroz e sorgo (87,40%, 85,30% e 81,11%, respectivamente) (Teixeira et al., 2010). Os menores CDAs da proteína encontrados no presente estudo podem ter ocorrido em decorrência da diferença no tempo entre evacuação e coleta das fezes entre os estudos. Estudos relatam a ocorrência de lixiviação de nutrientes em ensaios de digestibilidade, em decorrência de longos intervalos entre as coletas de fezes (Abimorad & Carneiro, 2004; Kitagima & Fracalossi, 2010). No presente estudo, as fezes foram coletadas imediatamente após terem sido defecadas, enquanto que, no estudo de Teixeira et al. (2010) as mesmas foram coletadas uma hora após evacuação. Já no estudo de Melo et al. (2016) este intervalo não foi informado. Provavelmente, o menor intervalo de tempo entre a evacuação e a coleta das fezes em nosso estudo, preveniu a lixiviação de nutrientes fecais, conferindo confiabilidade aos nossos resultados. Sabe-se que proteínas são nutrientes hidrossolúveis (Potrich et al., 2011), cuja lixiviação das fezes para a água pode superestimar seus coeficientes de digestibilidade (Storebakken et al., 1998; Pezzato et al., 2002; Mourinho & De Stéfani, 2006).

Imagens de MEV são amplamente utilizadas na caracterização do amido usado para fins industriais (Talón et al., 2019; Chen et al., 2019; Lee & Chang, 2019). Neste estudo, a MEV foi utilizada como ferramenta para identificar alterações na microestrutura do amido, antes e após a digestão de dietas ricas em carboidratos. Variações na microestrutura do amido ocorrem em função da espécie vegetal (Svihus et al., 2005). Os padrões morfológicos dos grânulos de amido identificados neste estudo são similares aos relatados na literatura para o milho (Tester et al., 2004), sorgo (Acquisgrana et al., 2016; Sorour et al. 2019), trigo (Qi & Tester, 2016) e arroz (Omar et al., 2016). As dietas experimentais apresentaram microestrutura homogênea e levemente porosa, característica de dietas cujos ingredientes foram corretamente homogeneizados e extrusados, o que pode explicar a baixa concentração de grânulos de amido visíveis nas dietas. Desta forma, foram detectados poucos grânulos de amidos soltos, não complexados com os outros componentes da ração (Figura 3). Já a abundância de grânulos de amido nas fezes foi maior do que nas dietas e apresentou relação inversa com os CDAs do amido. Por outro lado, o tamanho dos grânulos não parece ter influenciado na digestibilidade do amido, já que nas dietas de farelo de trigo e sorgo baixo tanino, que apresentaram grânulos do tipo A, de maior tamanho, os CDAs do amido apresentaram os valores mais altos e mais baixos, respectivamente. O tamanho dos grânulos de amido determina a área de superfície de contato disponível para o ataque enzimático (Dona et al., 2010), o que provavelmente resultaria

em CDAs semelhantes para os mesmos tipos de grânulo, mas essa relação não ficou clara neste estudo.

Os indícios de ataque enzimático nos os grânulos de amido (Figura 5 e, f) corroboraram com as altas digestibilidades do amido das dietas farelo de trigo e farelo de arroz desengordurado, cujas fezes apresentaram muitos grânulos danificados, diferente das dietas quireira de arroz e sorgo, que apresentaram muitos grânulos inteiros nas fezes. O milho, em especial, apresentou alta densidade de estruturas semelhantes a esferulitos, o que pode explicar a baixa digestibilidade do amido. Esferulitos são estruturas formadas pela aglomeração de lipídios com as cadeias de amilose, o que confere resistência à digestão ao amido, pois atuam como barreira à ação das enzimas digestivas (Cai e Shi, 2013). Em algumas linhagens de milho, o endosperma tem maior teor de lipídios (Gayral et al., 2015), o que provavelmente pode favorecer a formação de esferulitos. Gominho-Rosa e colaboradores (2015) foram pioneiros na descrição dessas estruturas em fezes de peixes, revelando relação inversa entre a ocorrência de esferulitos e a digestibilidade do amido em jundiá e tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentados com ingredientes vegetais.

As imagens de MEV das fezes de pirarucu alimentado com farelo de trigo, farelo de arroz desengordurado e sorgo baixo tanino mostraram alta concentração de parede celular (imagens não mostradas), explicando, neste caso, os menores CDAs da energia. Gominho-Rosa e colaboradores (2015) encontraram relação semelhante entre alta concentração de fibras fecais e a digestibilidade da matéria seca para o jundiá. Os menores CDAs do sorgo baixo tanino, também são corroborados pelas imagens de MEV. Os grânulos apresentaram características de amido vítreo, que conferem resistência à digestão (Correa et al., 2002), tais como formato poligonal (Xu et al., 2019) e ocorrência de corpos proteicos envolvendo os grãos (Chandrashekar & Kirleis, 1988). A compactação e o alto teor de amilose tornam o amido vítreo mais rígido (Xu et al., 2019). Em uma das amostras fecais de sorgo (Figura 5c) foi observado um grânulo de amido partido ao meio, expondo as regiões amorfas e semi-cristalinas (anéis de crescimento), formadas pelo arranjo das moléculas ramificada de amilopectina e lineares de amilose, respectivamente. A região amorfa é mais susceptível à clivagem enzimática (Sajilata et al., 2006). Nesta imagem (Figura 5c), foi possível observar a formação de sulcos nos anéis de crescimento, indicando indícios de ataque enzimático mais forte na fração amorfa do grânulo. Imagens com tais detalhes são raras e foram relatadas somente em ensaios de digestão de carboidratos *in vitro* (Pilling & Smith, 2003; Chanzy et al., 2006).

Os dados de digestibilidade e microestrutura do amido mostraram que, de maneira geral, o pirarucu tem boa capacidade de aproveitar os carboidratos da dieta, melhor do que aquela já relatada para outras espécies carnívoras de água doce, como o surubim (*Pseudoplatystoma* sp.) (Teixeira et al., 2010) e dourado (*Salminus brasiliensis*) (Moro, 2013). Isso pode estar relacionado ao ecossistema amazônico no qual o pirarucu evoluiu. A Amazônia possui um regime de variação hidrológica expressiva ao longo do ano. Na época da cheia dos rios, a água inunda grandes áreas de florestas. Nesta ocasião, os pirarucus adultos conduzem os juvenis para a floresta inundada, áreas que apresentam grande aporte de alimento de origem vegetal (sementes, brotos e fragmentos de macrófitas), que eventualmente são utilizados em sua dieta (Queiroz, 2000; Lima & Batista 2012). Isso pode ter potencializado a capacidade desta espécie em digerir e absorver dietas ricas em carboidratos, ao longo de sua evolução. Há evidências que peixes expostos a dietas ricas em carboidratos nas fases iniciais da vida desenvolveram maior capacidade de metabolizar a glicose da dieta nas fases posteriores (Geurden et al., 2007, Gong et al., 2015, Rocha et al., 2016). Além disso, um estudo inferiu que o pirarucu é um consumidor secundário, com tendência à onívoros, com base no uso de isótopos estáveis de nitrogênio e características morfológicas da cavidade bucofaringeana (Watson et al., 2013).

Este estudo revelou importantes informações a respeito da utilização de ingredientes vegetais energéticos na alimentação de juvenis de pirarucu. Os dados revelam que a capacidade de utilização de carboidratos depende de características específicas de cada fonte vegetal, principalmente os teores de fibra alimentar e amido, e que essas características têm forte influência na digestibilidade dos nutrientes, energia e microestrutura do amido.

2.5 AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), pelas instalações concedidas e financiamento de insumos para a realização do experimento. Ao laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME-UFSC) e Laboratório de Análises de Cereais (LABCERES-UFSC) pelas análises de MEV e amido, respectivamente. À Nicoluzzi Rações Ltda (Penha, Santa Catarina, Brasil) pela doação de ingredientes para a elaboração das dietas experimentais. À CAPES-Brasil pela concessão de bolsa de estudo aos autores Antônio M. J. Ramos e Bruna Mattioni e ao CNPq-Brasil pela concessão de bolsa ao último autor.

2.6 REFERÊNCIAS

- Abimorad, E. G., Carneiro, D. J. (2004). Métodos de coleta de fezes e determinação dos coeficientes de digestibilidade da fração proteica e da energia de alimentos para o pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). Revista Brasileira de Zootecnia, 33, 1101-1109.
- Acquisgrana, M. R., Benitez, E.I., Pamies, L.C.G., Sosa, G.L., Peruchena, N.M., Lozan, J.E. (2016). Total polyphenol extraction from red sorghum grain and effects on the morphological structure of starch. Food Science and Technology, 51, 2151–2156.
- Aknes A., (1995). Growth, feed efficiency and slaughter quality of salmon, *Salmo salar*, given feed with different ratio of carbohydrate and protein. Aquaculture Nutrition, 1, 241–248.
- Arantes, C.C., Castello, L., Stewart, D.J., Cetra, M., Queiroz, H.L. (2010). Population density, growth and reproduction of Arapaima in an Amazonian river-floodplain. Ecology of Freshwater Fish, 19, 455–465.
- Association of Official Analytical Chemists- AOAC. (1999). Official methods of analysis. (17^a ed.) Horwitz, W., ed. Gaithersburg, MD, USA.
- Booth, M., Moses, M., Allan, G., (2013). Utilisation of carbohydrate by yellow tail kingfish *Seriola lalandi*. Aquaculture, 376, 151–161.
- Bureau, D.P., Harris, A.M., Cho, C.Y. (1999). Apparent digestibility of rendered animal protein ingredients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, 180, 345-358.
- Cai, L., Shi, Y.C., (2013). Self-assembly of short linear chains to A- and B-type starch spherulites and their enzymatic digestibility. Journal Agriculture and Food Chemistry, 61, 10787–10797.
- Caipang, C.M. A., Mabuhay-Omar, J., Gonzales-Plasus, M.M. (2019). Plant and fruit waste products as phytogetic feed additives in aquaculture. AACL Bioflux, 12, 261-268.
- Castello L, Arantes C, McGrath D, Stewart D, de Souza F. (2015). Understanding fishing-induced extinctions in the Amazon. Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems, 25, 587–598.
- Castillo, C.P.C. (2012). Exigência proteica e respostas fisiológicas de juvenis de pirarucu, *Arapaima gigas* (Schinz 1822). Dissertação de Mestrado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Manaus, Amazonas, Brasil.
- Chandrashekar, A., Kirleis, A.W. (1988). Influence of protein on starch gelatinization in sorghum. Cereal Chemistry, 65, 457-462.
- Chanzy, H., Putaux, J. L., Dupeyre, D., Davies, R., Burghammer, M., Montanari, S., & Riekkel, C. (2006). Morphological and structural aspects of the giant starch granules from *Phajus grandifolius*. Journal of Structural Biology, 154, 100-110.
- Chen, Q., Zheng, X., Zhou, L., & Kang, M. (2018). Chemical modification of starch microcrystals and their application as an adsorbent for metals in aqueous solutions. BioResources, 14, 302-312.

- Cho, C.Y., Slinger, S.J. (1979). Apparent digestibility measurement in feedstuffs for rainbow trout. In: Halver, J.E., Tiews, K. Proc. World Symp. on Finfish Nutrition and Fish feed Technology, 2, 239-247. Heenemann, Berlin, Germany.
- Cipriano, F., Lima, K.S., Bevitório-Passinato, E., Jesus, R.M., Magalhães-Júnior, F.O., Teles-Tonini, W.C., Tavares-Braga, L.G. (2015). Apparent digestibility of energetic ingredients by pirarucu juveniles, *Arapaima gigas*(Schinz, 1822). Latin American Journal of Aquatic Research, 43, 786-791.
- Cipriano, F.S., Lima, K.S., Souza, R.H.B., Tonini, W.C.T., Passinato, E.B., Braga, L.G.T. (2016). Digestibility of animal and vegetable protein ingredients by pirarucu juveniles, *Arapaima gigas*. Revista Brasileira de Zootecnia, 45, 581-586.
- Conde-Sieira, M., Soengas, J. L.,Luísa M.P., Valente, L.M.P. (2015). Potential capacity of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) to use carbohydrates: metabolic responses to hypo-and hyperglycaemia. Aquaculture, 438, 59–67.
- Copeland, L., Blazek, J., Salman, H., & Tang, M. C. (2009). Form and functionality of starch. Food hydrocolloids, 23, 1527-1534.
- Correa, C.E.S, Shaver, R.D., Pereira M. N., Laure, J.G, Kohn, K. (2002). Relationship Between Corn Vitreousness and Ruminant *In Situ* Starch Degradability. Journal of Dairy Science, 85, 3008-3012.
- De Mesa-Stonestreet N.J, Alavi S, Bean SR (2010) Sorghum proteins: the concentration, isolation, modification, and food application of kafirins. Journal of Food Science 75, 90-104.
- Del Risco, M, Velásquez, J., Sandoval, M., Padilla, P., Mori-Pinedo, L., Chu-Koo, F. (2008). Efecto de três niveles de proteína dietaria em el crecimiento de juveniles de paiche, *Arapaima gigas* (Shinz, 1822). Folia Amazónica, 17, 29-37.
- Dona, A.C., Pages, G., Gilbert, R.G., Kuchel, P.W., 2010. Digestion of starch: In vivo and in vitro kinetic models used to characterise oligosaccharide or glucose release. Carbohydrates. Polymers, 80, 599–617.
- Enes, P., Panserat, S., Kaushik, S., Oliva-Teles, A., (2011). Dietary carbohydrate utilization by European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) and gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) juveniles. Rev. Fish. Sci. 19, 201-215.
- Fan, X.Z., Sunpe Q.J., Fang, C., Cheng, B. (2018). Protein sparing effect of carbohydrate on growth performance, digestion ability of common carp (*Cyprinus carpio*) at different feeding frequencies. In: Liu H., Song C., Ram A. (eds) Advances in Applied Biotechnology. Lecture Notes in Electrical Engineering, (vol:444). Springer, Singapore.
- FAO (2018). The State of World Fisheries and Aquaculture. Meeting the sustainable development goals. Rome.
- Fu, S.J. (2007). The specific dynamic action of southern catfish, *Silurus meridionalis* Chen, fed diets containing either raw or precooked corn starch or glucose. Fish Physiol. Biochem. 33 (2), 135-141.

- García-Meilán, I., Ordóñez-Grande, B., Gallardo, M.A. (2014). Meal timing affects protein-sparing effect by carbohydrates in sea bream: Effects on digestive and absorptive processes. *Aquaculture*, 434, 121-128.
- Gatesoupe, F. J., Huelvan, C., Le Bayon, N., Sévère, A., Aasen, I. M., Degnes, K. F., ... & Kaushik, S. J. (2014). The effects of dietary carbohydrate sources and forms on metabolic response and intestinal microbiota in sea bass juveniles, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, 422, 47-53.
- Gayral, M., Bakan, B., Dalgalarrrondo, M., Elmorjani, K., Delluc, C., Brunet, S., Marion, D. (2015). Lipid partitioning in maize (*Zea mays*) endosperm highlights relationships among starch lipids, amylose, and vitreousness. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 3551-3558.
- Geurden, I., Aramendi, M., Zambonino-Infante, J., Panserat, S., 2007. Early feeding of carnivorous rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with a hyperglucidic diet during a short period: effect on dietary glucose utilization in juveniles. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 292, R2275–R2283.
- Glencross, B., Blyth, D., Bourne, N., Cheers, S., Irvi, S., Wade, N. (2017). An analysis of the partial efficiencies of energy utilization of different macronutrients by barramundi (*Lates calcarifer*) shows that starch restricts protein utilization in a carnivorous fish. *British Journal of Nutrition*, 117, 500–510.
- Gominho-Rosa, M.C., Rodrigues, A.P.O., Mattioni, B., de Francisco, A., Moraes, G., Fracalossi, D.M. (2015). Comparison between the omnivorous jundiá catfish (*Rhamdia quelen*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) on the utilization of dietary starch sources: digestibility, enzyme activity and starch microstructure. *Aquaculture*, 435, 92–99.
- Gong, G., Xue, M., Wang, J., Wu, X.F., Zheng, Y.H., Han, F., Liang, X.F., Su, X.O. (2015). The regulation of gluconeogenesis in the Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) affected later in life by a short-term high-glucose programming during early life. *Aquaculture*, 436, 127–136.
- González-Félix, M.L, Davis, D.A, Rossi W, Perez-Velazquez, M. (2010). Evaluation of apparent digestibility coefficient of energy of various vegetable feed ingredients in Florida pompano, *Trachinotus carolinus*. *Aquaculture*, 310, 240-243.
- Hemre, G.I., Amlund, H., Aursand, M., Bakke, A., Olsen, R., Ringø, E., Svihus, B., Svihus, B., Bernhoft, A., Jenssen, B. M., Møretrø, T., Nesse, L., Torrissen, O. (2018). Criteria for safe use of plant ingredients in diets for aquacultured fish. *European Journal of Nutrition & Food Safety*, 8, 240-242.
- Hemre, G.I., Sandnes, K., Lie, Ø., Torrissen, O., Waagbø, R., (1995). Carbohydrate nutrition in Atlantic salmon, *Salmo salar*, growth and feed utilisation. *Aquaculture Research*, 26, 149-154.
- Hillestad, M., Johnsen, F., Asgard, T., (2001). Protein to carbohydrate ratio in high-energy diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture Research*, 32, 517-529.
- Honorato, C.A., Almeida, L.C., Da Silva Nunes, C., Carneiro, D.J., Moraes, G. (2010). Effects of processing on physical characteristics of diets with distinct levels of carbohydrates

and lipids: the outcomes on the growth of pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Aquaculture Nutrition* 16 (1), 91-99.

Hua, K., Bureau, D.P., (2009). A mathematical model to explain variations in estimates of starch digestibility and predict digestible starch content of salmonid fish feeds. *Aquaculture*, 294, 282-287.

Irvin, S.J., Tabrett, S.J. (2005). A novel method of collecting fecal samples from spiny lobsters. *Aquaculture*, 243, 269-272.

Ituassú, D.R., Pereira - Filho, M., Roubach, R., Crescêncio, R., Cavero, B.A., Gandra, A.L. (2005). Níveis de proteína bruta para juvenis de pirarucu. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 40, 255-259.

Jane, J. L. (2009). Structural features of starch granules II. In *Starch*, 193-236, Academic Press.

Kamalam, B. S.; Medale, F.; Panserat, S. (2017). Utilisation of dietary carbohydrates in farmed fishes: New insights on influencing factors, biological limitations and future strategies. *Aquaculture*, 467, 3-27.

Kaur, R., Shah, T.K. (2017). A review on role of plant waste products on fish growth, health and production. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5, 583-589.

Kitagima, R.E., Fracalossi, D. M. (2010). Validation of a methodology for measuring nutrient digestibility and evaluation of commercial feeds for channel catfish. *Scientia Agricola*, 67, 611-615.

Kraugerud, O.F., Svihus, B. (2011). Tools to determine the degree of starch gelatinization in commercial extruded salmon feeds. *Journal of World Aquaculture Society*, 42, 914-920.

Krogdahl, Å., Sundby, A., Olli, J.J., (2004). Atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) digest and metabolize nutrients differently. Effects of water salinity and dietary starch level. *Aquaculture* 229, 335-360.

Lee, Y.K., Chang, Y.K. (2019). Structural and in vitro digestibility properties of esterified maca starch with citric acid and its application as an oil-in-water (O/W) pickering emulsion stabilizer. *International Journal of Biological Macromolecules*, 134, 798-806.

Leonel, M. (2007) Análise da forma e tamanho de grânulos de amidos de diferentes fontes botânicas. *Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27, 579-588.

Li, X., Zhu, X., Han, D., Yang, Y., Jin, J., Xie, S. (2014). Carbohydrate utilization by herbivorous and omnivorous freshwater fish species: a comparative study on gibel carp (*Carassius auratus gibelio*. var CAS III) and grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) *Aquaculture Research*, 47, 128-139.

Lima, A. F., Rodrigues, A. P. O., Varela, E. S., Torati, L. S., Maciel, P. O. (2015). Pirarucu culture in the Brazilian Amazon: feedling industry faces technological issues. *Global Aquaculture Advocate*, 18, 56-58.

Lima, G.L., Batista, S.V. (2012). Estudos etnoictiológicos sobre o pirarucu *Arapaima gigas* na Amazônia Central. *Acta Amazônica*, 42, 337-344.

- Lundblad, K.K., Hancock, J.D., Behnke, K.C., Prestløkken, E., McKinney, L.J. & Sørensen, M. (2009). Adding water into the mixer improves pellet quality and pelleting efficiency in diets for finishing pigs with and without use of expander. *Anim. Feed Science Technology*, 150, 295-302.
- McCleary, B.V., Gibson, T.S., Mugford, D.C. (1997). Measurement of total starch in cereal products by amyloglucosidase-alpha-amylase method: collaborative study. *J. AOAC Int.* 80, 571–579.
- Melo, K. D. M., Oliveira, G. R., Brito, T. S., Soares, D. R. P., Tessitore, A. J., Alvarenga, É. R., Teixeira, E.A. (2016). Digestibilidade de ingredientes em dietas para juvenis de pacamã (*Lophosilurus alexandri*). *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 51, 785-788.
- Moro, G. V., Rodrigues, A.P.O. (2015) Rações para organismos aquáticos: tipos e formas de processamento. Embrapa Pesca e Aquicultura. Palmas, Tocantins, Brasil.
- Mouriño, J.L.P., Stéfani, M.V. (2006) Avaliação de métodos de coleta de fezes para determinação da digestibilidade proteica em rã-touro (*Rana catesbeiana*). *Ciência Rural*, 36, 954-958.
- Nakano, S., Ugwu, C.U., Tokiwa, Y., (2012). Efficient production of d-lactic acid from broken rice by *Lactobacillus delbrueckii* using Ca (OH)₂ as a neutralizing agent. *Bioresources Technology*, 104, 791-794.
- National Research Council (NRC). (2011). Nutrient requirements of fish and shrimp. The National Academic Press, Washington, DC, USA.
- Nelson, J.S. (2006). *Fishers of the World* (4th ed.). John Wiley and Sons, Inc, New York, USA
- Omar, K. A, Salih, B.M., Abdulla, N.Y., Hussin, B.H., Rassul, S.M. (2016). Evaluation of starch and sugar content of different rice samples and study their physical properties. *Indian Journal of Natural Sciences*, 6, 11084 -11092.
- Ono, E, Kehdi, J. (2013). *Manual de Boas Práticas de Produção do Pirarucu em Cativeiro*. Sebrae, Brasília.
- Pedroza -Filho, M. X., Rodrigues A. P. O., Rezende, F.P., Lima, A.F., Muñoz, A. E. P., Mataveli, M. (2016). *Panorama da cadeia produtiva do pirarucu*. Ativos da Aquicultura CNA, 8^a ed.
- Peng, M, Gao, M, Abdel-Aal, E.S.M, Hucl, P, Chibbar, R. N. Separation and Characterization of A- and B-Type Starch Granules in Wheat Endosperm. *Cereal Chem.* 76(3), 375-379.
- Pereira-Filho, M, Roubach, R. (2013). Pirarucu (*Arapaima gigas*), em: Baldisserotto, B. & Gomes, L.C. *Espécies nativas para a piscicultura no Brasil*. UFSM, Santa Maria, RS, Brasil. (2^a ed.), 27-56.
- Pérez, S, Bertoft, E. (2010) The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: A comprehensive review. *Starch- Stärke*, 62, 389-420.
- Pezzato, L.E., Miranda, E.C., Pinto, L.G.Q., Furuya, W.M., Barros, M.M., Rosa, G.L.M., Lanna, E. A. T. (2002). Avaliação de dois métodos de determinação do coeficiente de

- digestibilidade aparente com a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) Acta Scientiarum, 24, 965-971.
- Pilling, E., & Smith, A. M. (2003). Growth ring formation in the starch granules of potato tubers. Plant Physiology, 132, 365-371.
- Potrich, F.R., Signor, A.A., Dieterich, T.G., Neu, D.H., Feiden, A., Boscolo, W.R. (2011). Estabilidade e lixiviação de nutrientes com rações de diferentes níveis proteicos. Cultivando o Saber, 4, 77-87.
- Qi, X., Tester, R.F. (2016). Effect of native starch granule size on susceptibility to amylase hydrolysis. Starch- *Stärke*, 68, 807-810.
- Queiroz, H. L. (2000). Natural history and conservation of pirarucu, *Arapaima gigas*, at the Amazonian Várzea: Redgiants in muddywaters. Tese de doutorado post graduate in phylosophy (University St. Andrews), 226p.
- Queiroz, H. L. (2000). Natural history and conservation of pirarucu, *Arapaima gigas*, at the Amazonian várzea: redgiants in muddywaters. Tese de doutorado. Post graduate Phylosophy (University St. Andrews). 226p.
- Ravindran, R., Jaiswal, A.K., (2016). Exploitation of food industry waste for high-value products. Trends in Biotechnology, 34, 58-69.
- Rocha, F., Dias, J., Geurden, I., Dinis, M.T., Panserat, S., Engrola, S., 2016. High-glucose feeding of gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae: effects on molecular and metabolic pathways. Aquaculture, 451, 241-253.
- Rodrigues, A. P., Moro, G.V., Santos, V. R. V. D., Freitas, L. E.L., Fracalossi, D.M. (2019). Apparent digestibility coefficients of selected protein ingredients for pirarucu *Arapaima gigas* (Teleostei: Osteoglossidae). Latin American Journal of Aquatic Research, 47, 310-317.
- Sajilata, M. G., Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. (2006). Resistant starch - A review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 5, 1-17.
- Sereewatthanawut, I., Prapintip, S., Watchiraruji, K., Goto, M., Sasaki, M., Shotipruk, A., (2008). Extraction of protein and amino acids from deoiled rice bran by subcritical water hydrolysis. Bioresources Technology, 99, 555-561.
- Singh, J., Lelane, C., Stewart, R.B., Singh, H. (2010). Formation of starch spherulites: role of amylose content and thermal events. Food Chem, 121, 980-989.
- Sinha, A.K., Kumar, V., Makkar, H.P., De Boeck, G., Becker, K., (2011). Non-starch polysaccharides and their role in fish nutrition- A review. Food Chemical, 127, 1409-1426.
- Soares, J.M., Beletti, M.E., Santos, A.L.Q. (2006). Estudo ultra-estrutural da bexiga natatória de pirarucu (*Arapaima gigas*). Jornal de Notícias Veterinárias, 12, 55-61.
- Sorensen, M. (2012). A review of the effects of ingredient composition and processing conditions on the physical qualities of extruded high-energy fish feed as measured by prevailing methods. Aquaculture Nutrition, 18, 233-248.

Sorour, M.A., Mehanni, A. E., Taha, E. M., Rashwan, A. K. (2019). Characteristics of isolated starch granules of two sorghum varieties. *International Journal of Agricultural Science*, 1, 56-69.

Statsoft Inc. (2004) Statistica: data analysis software system. Version 7.0. disponível em: www.statsoft.com.

Stone, D. A. J. (2003). Dietary carbohydrate utilization by fish. *Reviews in Fishery Science*, 11, 337-369.

Stone, D.A.J., (2003). Dietary carbohydrate utilization by fish. *Reviews in Fishery Science*, 11, 337-370.

Storebakken, T., Shearer, K.D., Roem, A.J., (1998) Availability of protein, phosphorus and other elements in fish meal, soy-protein concentrate and phytase-treated soy-protein-concentrate-based diets to Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture* 161, 365-379.

Svihus, B., Uhlen, A.K., Harstad, O.M., (2005). Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 122, 303-320.

Talón, E., Vargas, M., Chiralt, A., & González-Martínez, C. (2019). Antioxidant starch-based films with encapsulated eugenol: application to sunflower oil preservation. *Food Science and Technology*, 113, 108290.

Teixeira, E. A., Saliba, E. D. O. S., Euler, A. C. C., de Faria, P. M. C., Crepaldi, D. V., & Ribeiro, L. P. (2010). Coeficientes de digestibilidade aparente de alimentos energéticos para juvenis de surubim. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39, 1180-1185.

Tester, R.F., Karkalas, J., Qi, X. (2004) Starch: composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, 39,151-165.

Wang, J., Li,X., Han, T., Yang, Y., Jiang,Y., Yang, M., Xu, Y., Harpaz, S. (2016). Effects of different dietary carbohydrate levels on growth, feed utilization and body composition of juvenile grouper *Epinephelus akaara*. *Aquaculture*, 459,143-147.

Wang, J., Suo, G., Wit, M., Boom, R.M., Schutyser, M.A.I., (2016). Dietary fibre enrichment from defatted rice bran by dry fractionation. *Journal Food Engineering*, 186, 50-57.

Watson, L. C., Stewart, D. J., Teece, M. A. (2013). Trophic ecology of *Arapaima* in Guyana: giant omnivores in Neotropical floodplains. *Neotropical Ichthyology*, 11, 341-349.

Xu, A., Lin, L., Guo, K., Liu, T., Yin, Z., & Wei, C. (2019). Physicochemical properties of starches from vitreous and flourey endosperms from the same maize kernels. *Food chemistry*, 291, 149-156.

Zeng, L., Lei, J., Ai, C. Chin. J. (2015). Protein-sparing effect of carbohydrate in diets for juvenile turbot *Scophthalmus maximus* reared at different salinities. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 33, 57-69.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta dissertação constitui parte do projeto *Pirarucu da Amazônia: Ações de Pesquisa e transferência de tecnologia*, coordenado pela EMBRAPA Aquicultura e Pesca (Palmas, TO), em parceria com o Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (SEBRAE), o qual objetiva desenvolver tecnologias para a produção de pirarucu (*Arapaima gigas*) em cativeiro nas áreas de reprodução, genética, nutrição e sanidade.

Um ensaio de digestibilidade similar ao do presente estudo foi realizado no ano de 2014, porém produziu dados de digestibilidades com grandes discrepâncias entre as repetições, o que foi questionado no processo de publicação desses dados. Provavelmente, as grandes diferenças entre os CDAs das repetições, observadas nos dados provenientes daquele estudo, se deveram ao curto período de aclimação às dietas experimentais, que foi de apenas cinco dias. Deste modo, no presente estudo optou-se por adotar quinze dias de aclimação às dietas, antes do início das coletas de fezes. Neste ensaio, uma das repetições de cada um dos tratamentos também produziu dados consideravelmente discrepantes, as quais foram omitidas das médias finais.

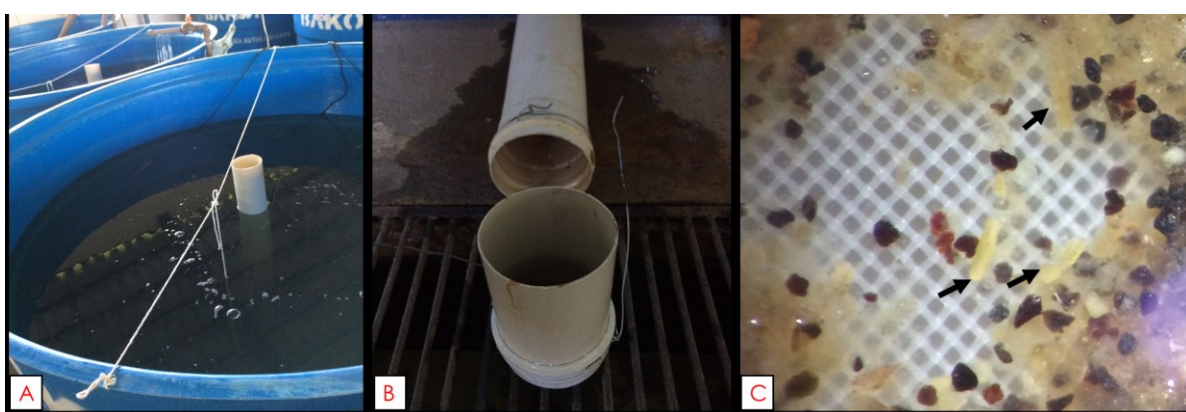
Adicionalmente, além do estudo apresentado nesta dissertação, três outros ensaios foram executados sequencialmente ao ensaio de digestibilidade para validar metodologias para ensaios de digestibilidade com o pirarucu. O primeiro ensaio objetivou determinar o tempo de trânsito gastrointestinal no pirarucu. Os peixes foram alimentados por sete dias com dieta comercial e, na sequência, foram alimentados com uma dieta referência marcada com óxido de cromo. Após essa alimentação, a produção de fezes foi acompanhada durante 24 h para registrar o surgimento das primeiras fezes esverdeadas em função da presença do marcador na dieta.

O segundo ensaio, com duração de 15 dias, foi executado para determinar o tempo de aclimação dos peixes às dietas experimentais. Os peixes foram alimentados com três dietas experimentais (referência, milho e farelo de soja) e foram adotadas quatro repetições. As fezes foram coletadas nos dias 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 14 e 15. O tempo adequado de aclimação às dietas será considerado o tempo em que os coeficientes de digestibilidade não apresentarem variações significativas entre as repetições. Na sequência, realizou-se o terceiro experimento, com duração de cinco dias, para determinar o intervalo adequado para a realização das coletas de fezes, sem que ocorresse perda de nutrientes das fezes por lixiviação. Foram utilizados os peixes do tratamento controle do ensaio anterior, os quais foram alimentados com a dieta referência. As fezes foram coletadas nos tempos de 30 min, 1 h, 6 h e 12 h após a alimentação

(quatro tratamentos) e cada dia de coleta foi considerado uma repetição (quatro repetições). No 5º dia de ensaio, os peixes foram sacrificados e as fezes foram coletadas diretamente do reto para servir como controle. Os dados desses três ensaios ainda estão em análises laboratoriais, motivo pelo qual não entraram nesta dissertação.

Juvenis de pirarucu apresentam grande susceptibilidade ao ataque de parasitos monogenóides (*Dawestrema cycloancistrum*, *D. cycloancistroides* e *D. punctata*), que parasitam as brânquias, causando alta mortalidade, principalmente nas fases iniciais. Nos ensaios aqui relatados, os peixes foram acometidos por esses parasitas, o que levou à perda total do primeiro lote de peixes adquirido (135 peixes de aproximadamente 15 a 20 cm). Assim, foi necessária aquisição de um novo lote de peixes. Optou-se por comprar peixes maiores (30 cm), que teoricamente seriam mais resistentes ao ataque de monogeneas. Antes da aquisição dos peixes, foram realizadas visitas à piscicultura distribuidora de juvenis para verificar o estado sanitário dos peixes. Exemplares foram coletados e levados ao laboratório da EMBRAPA, onde, por meio de análise de microscopia ótica, foi constatada a presença de parasitas nas brânquias. Deste modo, após a aquisição, os peixes passaram por um período de quarentena, quando foram tratados com banhos de sal (5 g L^{-1} por 1 h) diariamente e banho de formalina 37% a cada dois dias (440 ppm: 110 mL de formol em 250 mL de água).

Figura 2. Monitoramento da ocorrência de ovos de monogenea na água de tratamento de juvenis de pirarucu. A: barbantes instalados nos tanques para a coleta de ovos, B: tela instalada na saída de água do sistema, C: ovos de monogenea visualizados em lupa.



A ocorrência de parasitas nas brânquias foi monitorada nos primeiros dias de tratamento por meio da análise em microscópio de raspados das brânquias. Para evitar o sacrifício de peixes ao longo do tratamento, a ocorrência de parasitas foi monitorada indiretamente através da identificação de ovos dos parasitas na água de criação. Para esse

acompanhamento, foi instalado uma tela (40 μm) na saída de água do sistema e, diariamente, esta tela era retirada e analisada no microscópio para identificar e contar os ovos dos parasitas. Outro método utilizado, foi a instalação de barbantes nos tanques de tratamento, onde os ovos dos parasitas ficavam aderidos e eram facilmente visualizados em lupa (Figura 1). Ao longo do tratamento, a ocorrência de ovos reduziu e, ao 15º dia, não foram mais observados ovos na tela da saída de água nem nos barbantes.

Figura 3: Juvenis de Pirarucu com indícios de dominância. Peixe que se alimentou satisfatoriamente no decorrer do ensaio (A) e peixe que não se alimentou satisfatoriamente nesse período (“peixe-facão”) (B).



Durante o período de aclimação às dietas experimentais do bloco 1 do ensaio de digestibilidade, ocorreu uma queda de temperatura (23 a 25 °C) que levou à mortalidade de quatro peixes. Esses peixes foram substituídos por peixes de pesos próximos. Para evitar futuros problemas com temperatura, aquecedores foram instalados nos tanques experimentais. Deste modo, a temperatura ao longo do experimento se manteve controlada, em torno de 29 °C. Isto evidencia a fragilidade da espécie em situação de queda em temperatura da água.

Foi observada a ocorrência de comportamento de dominância entre os peixes, nos tanques experimentais. Com o passar dos dias, cada tanque apresentava um peixe com comportamento apático, o qual não se alimentava igual aos outros peixes do tanque. No final do ensaio, esses peixes estavam visivelmente desnutridos, sendo que alguns até morreram após a biometria realizada no final do ensaio alimentar. Segundo a experiência dos pesquisadores da EMPRAPA, isso é comum de ocorrer na criação de pirarucu. Esses peixes desnutridos são conhecidos como “peixes-facões”, devido a sua aparência, que lembra um facão, ferramenta utilizada para diversos fins no meio rural. Em um dos tanques, o peixe-facão morreu no início da realização do bloco 2 e um novo peixe desnutrido surgiu, uma semana após a morte do anterior. Isto foi percebido primeiramente pela mudança de coloração e depois pela apatia. A Figura 2 mostra dois animais, um considerado normal, que se alimentava e outro, considerado “peixe-facão”, que não se alimentava.

REFERENCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL

ACQUISGRANA, M. R. *et al.* Total polyphenol extraction from red sorghum grain and effects on the morphological structure of starch. **Food Science and Technology**, v. 51, p. 2151–2156, 2016.

AMARAL, Ellem Silva Ramos. **O manejo comunitário de pirarucu (*Arapaima gigas*) como alternativa econômica para os pescadores das reservas Amanã e Mamirauá, Amazonas, Brasil**. 2009. Dissertação (Mestrado em Gestão de Recursos Naturais e Desenvolvimento Local na Amazônia) - Programa de Pós-graduação em Gestão de Recursos Naturais e Desenvolvimento Local na Amazônia. Universidade Federal do Pará, Belém, 2009.

ANTUNES, R.C. *et al.* Composição bromatológica e parâmetros físicos de grãos de sorgo com diferentes texturas do endosperma. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.5, p.1351-1354, 2007.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - A.O.A.C. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists** (17th ed.). Gaithersburg, 1999.

BALDISSEROTO, B.; GOMES, L. de C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2 ed. Santa Maria: UFSM. 2013.

BARONE, R. S. C. Ração é o principal insumo da produção aquícola. **Ativos aquicultura-CNA Brasil**. Ano 3.13 ed 13, 2017.

BARTHEM, R., GOULDING, M. Um ecossistema inesperado, a Amazônia revelada pela pesca. **Amazon Conservation Association**, Sociedade Civil Mamirauá, Belém, 2007.

BELAL, I. E. H. A review of some fish nutrition methodologies. **Biosource Technology**, v 96, p. 395-402.2005.

BISWAS, A.K.; SEOKA, M.; TAKII, K.; KUMAI, H. Comparison of apparent digestibility coefficient among replicates and different stocking density in red sea bream *Pagrus major*. **Fisheries Science**, v.73, p.19-26, 2007.

BLYTH, D. *et al.* Comparison of faecal collection methods and diet acclimation times for the measurement of digestibility coefficients in barramundi (*Lates calcarifer*). **Aquaculture Nutrition**, v.21, p.246-255, 2007.

BREMER NETO, H. *et al.* Diminuição do teor de óxido de cromo (III) usado como marcador externo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, p.249-255, 2003.

BRITO, M. S. *et al.* Polissacarídeos não amiláceos na nutrição de monogástricos—revisão. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 2.n. 4, p. 111-117, 2008.

BUREAU, D.P., HARRIS, A.M., CHO, C.Y. Apparent digestibility of rendered animal protein ingredients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.180, p. 345-358, 1999.

CARVALHO, P. L. O. *et al.* Rice co-products in pig feed during the starter phase (15 to 30 kg) Coprodutos do arroz na alimentação de suínos na fase inicial (15 a 30 kg), **Ciências Agrárias**, v. 39, n. 4, p. 1695-1706. 2018.

CASTILLO, Civil Priscyla Casado. **Exigência proteica e respostas fisiológicas de juvenis de pirarucu, *Arapaima*** Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2012.

CHO, C.Y.; SLINGER, S.J. **Apparent digestibility measurement in feedstuffs for rainbow trout**. In: HALVER, J.E.; TIEWS, K. Proc. World Symp. on Finfish Nutrition and Fish feed Technology, v.2, p. 239-247, Heenemann, Berlim, 1979.

CIPRIANO, F. S. *et al.* Apparent digestibility of energetic ingredients by pirarucu juveniles, *Arapaima gigas*(Schinz, 1822). **Lat. Am. J. Aquat. Res.** v.43, p.786-791, 2015.

CIPRIANO, F. S. *et al.* Digestibility of animal and vegetable protein ingredients by pirarucu juveniles, *Arapaima gigas*. **Revista Brasileira de Zootecnia.** v. 45 p. 581-586, 2016.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Perspectivas para a agropecuária.** Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento, v 1, 104p, 2018.

CONCEIÇÃO, A.M. ***gigas* (Schinz, 1822)**. 2012. Dissertação (Mestrado em Biologia de Água Doce e Pesca Interior) - Programa de Pós-graduação em Biologia de Água Doce e Pesca Interior.

CONDE-SIEIRA, M. *et al.* Potential capacity of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) to use carbohydrates: metabolic responses to hypo-and hyper glycaemia. **Aquaculture**, v.438, 59–67, 2015.

CONVENTION ON INTERNATIONAL TRADE IN ENDANGERED SPECIES OF WILD FAUNA AND FLORA. **Checklist of CITES species.** Cambridge, United Kingdom, 2013.

COPELAND, L. *et al.* Form and function of starch granules. **Food Hydrocolloids**, 23, 1527–1534, 2009.

CRESCÊNCIO, R. *et al.* Influência do período de alimentação no consumo e ganho de peso do pirarucu. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.40, n.12, p.1217-1222, 2005.

CYRINO, J.E.P. *et al.* A piscicultura e o ambiente – o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, supl. especial, p.68-87, 2010.

DEL RISCO, M. *et al.* Efecto de três niveles de proteína dietaria em el crecimiento de juveniles de paiche, *Arapaima gigas* (Shinz, 1822). **Folia Amazónica**, v.17, p.29-37, 2008.

DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico químicas. **Ciência Rural**, v. 39, n. 3, p. 945–954, 2009.

DHINGRA, D. *et al.* Dietary fibre in foods: a review. **J Food Sci Technol**. v. 49. 255 p, 2012.

DIMANTOV, A. *et al.* Study of high amylose corn starch as food grade enteric coating in a microcapsule model system. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 5(1), p. 93–100, 2004.

EL-SAYED, A. F. M. **Tilapia culture**. CABI, 2006.

ENES, P. *et al.* A. Nutritional regulation of hepatic glucose metabolism in fish. **Fish physiol biochem**, v. 35, p.519–539, 2009.

ENGLYST, K.N. & ENGLYST, H.N. Carbohydrate bioavailability. **British Journal of Nutrition**, v. 94, p. 1–11, 2005.

FAN, X.Z. *et al.* Protein sparing effect of carbohydrate on growth performance, digestion ability of common carp (*Cyprinus carpio*) at different feeding frequencies. In: Liu H., *et al.* **Advances in Applied Biotechnology. Lecture Notes in Electrical Engineering**, v. 444. Springer, Singapore, 2018.

FONSECA, F.A.G. **substituição de farinha de peixe por proteína de origem vegetal com adição de protease exógena na digestibilidade de ração para juvenis de pirarucu (*Arapaima gigas*)**. 2004. Dissertação (Mestrado em Biologia de Água Doce e Pesca Interior) - Programa de pós-graduação em Biologia de Água Doce e Pesca Interior. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2004.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS - FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Rome, 2016.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS - FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Rome, 2018.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS - FAO . **GIEWS - Global Information and Early Warning System on Food and Agriculture**. Rome, 2019.

FRACALOSSO, D.M.; CYRINO, J.E.P. (org). Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira. 1ª ed. ampliada. **Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática**. 375p. 2013.

FREI, M. *et al.* Studies on in vitro starch digestibility and the glycemic index of six different indigenous rice cultivars from the Philippines. **Food Chemistry**, v. 83, p. 395-402, 2003.

GALLANT, D. J. *et al.* On ultrastructural and nutritional aspects of some tropical tuber starches. **Starch/Stärke**, v. 34, n. 8, p. 255-262, 1982.

- GANDRA, A. L. **Estudo da frequência alimentar do pirarucu, *Arapaima gigas*(Cuvier, 1829)**. 2002. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Programa de pós-graduação em Ciência de Alimentos, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2002.
- GARCÍA-MEILÁN, I. *et al.* Meal timing affects protein-sparing effect by carbohydrates in sea bream: Effects on digestive and absorptive processes. **Aquaculture**, v. 434, p. 121-128, 2014.
- GOMINHO-ROSA, M.C. *et al.* Comparison between the omnivorous jundiá catfish (*Rhamdia quelen*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) on the utilization of dietary starch sources: digestibility, enzyme activity and starch microstructure. **Aquaculture** v. 435, p.92–99, 2015.
- GONÇALVES, G. S. *et al.* Níveis de proteína digestível e energia digestível em dietas para tilápias-do-nilo formuladas com base no conceito de proteína ideal. Embrapa Agropecuária Oeste. 2009.
- HEMRE, G.I., DENG, D.F. Carbohydrates. In: LEE, C.S. *et al.* **Dietary Nutrients, Additives, and Fish Health**, Wiley Blackwell, p. 95–110. 2015.
- HIDALGO, M. *et al.* Comparative study of digestive enzymes in fish with diferente nutritional habits: proteolytic and amylase activities. **Aquaculture**. V.170, p. 267–283, 1999.
- HOED, V. *et al.* Influence of chemical refining on the major and minor components of rice brain oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 83, n. 4, p. 315-321, 2006.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da Pecuária Municipal**. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, v. 44, 47p, 2017.
- IMBIRIBA, E. P. Produção e manejo de alevinos de pirarucu, *Arapaima gigas* (CUVIER). **Bol. EMBRAPA-CPATU**, v. 57, 19p, 1991.
- IMBIRIBA, E.P *et al.* Criação de Pirarucu. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental**. 93p, 1996.
- IMBIRIBA, E.P. Potencial de criação de pirarucu, *Arapaima gigas*, em cativeiro. **Acta Amazônica**. v. 31. p 299-316, 2001.
- IRVIN S.J.; TABRETT S.J. A novel method of collecting fecal samples from spiny lobsters. **Aquaculture** v. 243, p. 269-272, 2005.
- ITUASSÚ, D.R. *et al.* Níveis de proteína bruta para juvenis de pirarucu. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40: 255-259 p. 2005.
- JANE, J.L. Structural features of starch granules II. In J. Be Miller, & R. Whistler (org), **Starch: Chemistry and technology**, 3 ed, vol. 8, p. 193–236. Burlington: Academic Press, 2009.

JOBLING, M.; GOMES, E.; DIAS, J. Feed types, manufacture and ingredients. In: HOULIHAN, D.; BOUJARD, T.; JOBLING, M. (org). **Food Intake in Fish**. Malden, Massachusetts, USA: Blackwell Science, 2001. cap.2, p. 25-48.

KAMALAM, B. S.; MEDALE, F.; PANSEERAT, S.; Utilisation of dietary carbohydrates in farmed fishes: New insights on influencing factors, biological limitations and future strategies. **Aquaculture**, v. 290, 2017.

KAUFMANAC R.C. *et al.* Sorghum starch properties as affected by growing season, hybrid, and kernel maturity. **Journal of Cereal Science**, v. 74, p. 127-135, 2017.

KITAGIMA, R.E.; FRACALOSSO, D.M. Validation of a methodology for measuring nutrient digestibility and evaluation of commercial feeds for channel catfish. **Scientia Agricola**, v.67, p. 611-615, 2010.

KRAUGERUD, O.F., SVIHUS, B. Tools to determine the degree of starch gelatinization in commercial extruded salmon feeds. **Journal or World Aquaculture Society**, v. 42, n. 6, p. 914–920, 2011.

KROGDAHL. A.; HEMRE. G.I.; MOMMSEN, T.P. Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. **Aquaculture Nutrition**. v. 11. p. 103–122. 2005.

KUZ'MINA, V. V. Influence of age on digestive enzyme activity in some freshwater teleosts. **Aquaculture**, v. 148, p. 25–37, 1996.

LEONEL, MAGALI. Análise da forma e tamanho de grânulos de amidos de diferentes fontes botânicas. **Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 27, n. 3, p. 579-588, 2007.

LI, X. *et al.* Carbohydrate utilization by herbivorous and omnivorous freshwater fish species: a comparative study on gibel carp (*Carassius auratus gibelio*. var CAS III) and grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) **Aquaculture Research**, p. 1–12, 2014.

LIMBERGER, V. M. *et al.* Modificação química e física do amido de quirera de arroz para aproveitamento na indústria de alimentos. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 84-88, 2008.

MARMONTEL M. Levantamento de aspectos biológicos das espécies carismáticas da RDSA como subsídio para o plano de manejo da Reserva de Desenvolvimento Sustentável de Amanã. Amanã: Relatório Final da Consultoria. **Corredores Ecológicos**, 94p. 2006.

MARQUES, B.M.F.P.P *et al.* Substituição de milho por sorgo baixo tanino em dietas para suínos: digestibilidade e metabolismo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.3, p. 767-772, 2007.

MARZZOCO, A; TORRES, B.B. **Bioquímica Básica**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

MATTOS, B.O. *et al.* A new approach to feed frequency studies and protein intake regulation in juvenile pirarucu. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 2, p. 1243-1250, 2017.

MEDEIROS, Paulo Adelino. **Dietas práticas com diferentes níveis de proteína e energia na alimentação de juvenis de pirarucu *Arapaima gigas*(SCHINZ, 1822) durante a engorda em tanque-rede**. 2014. Dissertação (Mestrado em Biologia de Água Doce e Pesca Interior) - Programa de pós-graduação em Biologia de Água Doce e Pesca Interior. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2014.

MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. **Censo aquícola do Brasil ano 2013**. Ministério da pesca e aquicultura, 2013.

MORO, G. V. *et al.* Dietary non-protein energy sources: growth, digestive enzyme activities and nutrient utilization by the catfish jundiá, *Rhamdia quelen*. **Aquaculture Research**, v. 41, n.3, p. 394-400, 2010.

MORO, G. V; RODRIGUES, A.P.O. **Rações para organismos aquáticos: tipos e formas de processamento**. Embrapa Pesca e Aquicultura, Palmas, 2015.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient requirements of fish and shrimp**. Washington, DC: National Academic Press, 2011.

NELSON, David L., COX, Michael M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. Tradução: Ana Beatriz Gorini de Veiga. 6 ed. Porto Alegre, 2014.

NELSON, Joseph Schieser. **Fishes of the World**. 3 ed. New York: John Wiley and Sons, 1994.

NELSON, Joseph Schieser. **Fishes of the World**. 4 ed. New York: John Wiley and Sons, 2006.

ONO, E.A. *et al.* Relação entre energia e proteína, e diferentes fontes de energia na nutrição de juvenis de pirarucu, *Arapaima gigas* (Cuvier 1829). In CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA. 2005 Campo Grande, **Anais do ZOOTEC'2005**, Campo Grande, MS, 2005. p.1-5.

PANSERAT, S. *et al.* Lack of significant long-term effect of dietary carbohydrates on hepatic glucose-6-phosphatase expression. in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 11, p. 22–29, 2000.

PARRIZAS, M. *et al.* Insulin binding and receptor tyrosine kinase activity in skeletal muscle of carnivorous and omnivorous fish. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, 266, p. 1944–1950, 1994.

PASTORE, S.C.G; *et al.* Formulação de rações e boas práticas de fabricação. Em: FRACALOSSO & CYRINO. **Nutriaqua: Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura**. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2013.

PEREIRA-FILHO, M., ROUBACH, R. Pirarucu (*Arapaima gigas*). In: Baldisserotto, B. & Gomes, L.C. (Org) **Espécies nativas para a piscicultura no Brasil**. 2 ed. Santa Maria: UFSM, 2013.

PÉREZ, S., BERTOFT, E. The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: A comprehensive review. **Starch/Staerke**, v. 62, p. 389–420, 2010.

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

QI, X., TESTER, R. F. Effect of native starch granule size on susceptibility to amylase Hydrolysis. **Starch/Stärke**, v. 68, p. 807- 810, 2016.

QUEIROZ, H. L. **Natural history and conservation of pirarucu, *Arapaima gigas*, at the Amazonian Várzea: Redgiants in muddywaters**. Thesis (Degree of Phd in Philosophy) - Post graduate in Philosophy, University St. Andrews, St. Andrews, 2000.

QUEIROZ, V. A. V. *et al.* O sorgo na alimentação humana. In PEREIRA FILHO, I. A.; RODRIGUES, J. A. S. (Ed.). **Sorgo: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília, DF: Embrapa, 2015, p. 247-266,

REISINGER, M., *et al.* Wheat bran biorefinery—A detailed investigation on hydrothermal and enzymatic treatment. **Bioresource Technology**, v. 144, p. 179–185, 2013.

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

RODRIGUES, A.P.O.; MORO, G.V.; SANTOS, V.R.V. **Qualidade de rações comerciais utilizadas na alimentação do pirarucu *Arapaima gigas* em cativeiro**. Palmas: Embrapa Pesca e Aquicultura, 2017.

ROSSI, R. M; NEVES, M.F. **Estratégias para o Trigo no Brasil**. São Paulo: Atlas, 2004.

ROSTAGNO, H. S., *et al.* Tabelas brasileiras para suínos e aves. Composição de alimentos e exigências, 2011.

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

SAKOMURA, N. K., & ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal, 2007.

SANCHES, J.R. El paiche gigante del amazonas. **IMARPE**. Lima, Perú. 1973.

SANTOS, Sandro de Castro. **Características nutricionais e físicas do milho com diferentes texturas e tempos de armazenamento**. 2015. Tese (Doutorado em Ciência Animal).

Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2015.

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS [SEBRAE]. **Manual de boas práticas de reprodução do pirarucu em cativeiro**. Brasília: SEBRAE, 2010.

SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS [SEBRAE]. **Manual de boas práticas de produção do pirarucu em cativeiro**. Brasília: SEBRAE, 2013.

SILVA, E.P. *et al.* Valores energéticos de ingredientes convencionais para aves de postura comercial. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 1, p. 91-100, 2009.

SILVA, Natacha. **Quantificação de amido e proteínas totais em grãos de sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench - Família: Poaceae] visando à alimentação humana**. 2015. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Programa de Pós-graduação em Botânica, Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

SOARES, J.M.; BELETTI, M.E.; SANTOS, A.L.Q. Estudo ultra-estrutural da bexiga natatória de pirarucu (*Arapaima gigas*). **Jornal Veterinária Notícias**. v. 12, n. 2, p. 55-61, 2006.

STATSOFT, INC. **STATISTICA** (Data Analysis Software System). Versão n 7.0, 2004. disponível em: www.statsoft.com.

STONE, D. A. J. Dietary carbohydrate utilization by fish. **Reviews in Fishery Science**, v. 11, p. 337-369, 2003.

TESTER, R.F., KARKALAS, J., QI, X. Starch: composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, v. 39, p. 151-165, 2004.

TOCHER, D. R. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. **Reviews in fisheries science**, v.11, n.2, p.107-184, 2003.

WALTER, M., MARCHEZAN, E., AVILA, L.A. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, v.38, n.4, 2008.

WANG SJ, COPELAND L. Effect of acid hydrolysis on starch structure and functionality: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 55, p. 1079–1095, 2015.

WANG SJ, SHARP P, COPELAND L. Structural and functional properties of starches from field peas. **Food Chemistry**, v. 126, p. 1546–52, 2011.

WANG, J. *et al.* Effects of different dietary carbohydrate levels on growth, feed utilization and body composition of juvenile grouper *Epinephelus akaara*. **Aquaculture**, v. 459, p. 143–147, 2016.

WANG, S. J. *et al.* Starch Retrogradation: A Comprehensive Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.14, p. 568–585, 2015.

WEBER, F. H., COLLARES-QUEIROZ, F. P., & CHANG, Y. K. Caracterização físico-química, reológica, morfológica e térmica dos amidos de milho normal, ceroso e com alto teor de amilose. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n.4, p. 748-753, 2009.

YONEMOTO, P.G., CALORI-DOMINGUES, M.A., FRANCO, C.M.L. Características estruturais e físico-químicas de amido de trigo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, p. 761-771, 2007.

ZENG, L. *et al.* Ocean. Protein-sparing effect of carbohydrate in diets for juvenile turbot *Scophthalmus maximus* reared at different salinities. **Chinese journal of oceanology and limnology**, v. 33, p 57–69, 2015.

ZHANG L. *et al.* Effect of dietary carbohydrate level on growth performance of juvenile spotted Babylon (*Babylonia areolata*). **Aquaculture** v. 295, p. 238–242, 2009.

ZHANG, M. *et al.* Extrusion process improves the functionality of soluble dietary fiber in oat bran. **Journal of Cereal Science**, v. 54, n. 1, p. 98–103, 2011.

ZHANG, P. *et al.* Effect of high molecular weight glutenin subunit composition in common wheat on dough properties and steamed bread quality. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 13, p. 2801–2806, 2014.