

REGINALDO FLORÊNCIO DA SILVA JÚNIOR

**DIGESTIBILIDADE DE INGREDIENTES PROTEICOS E ENERGÉTICOS PARA O
ROBALO-FLECHA (*Centropomus undecimalis*) E SEUS EFEITOS NO PERFIL DAS
ENZIMAS DIGESTIVAS**

RECIFE

2016



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E AQUICULTURA

**DIGESTIBILIDADE DE INGREDIENTES PROTEICOS E ENERGÉTICOS PARA O
ROBALO-FLECHA (*Centropomus undecimalis*) E SEUS EFEITOS NO PERFIL DAS
ENZIMAS DIGESTIVAS**

REGINALDO FLORÊNCIO DA SILVA JÚNIOR

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco como exigência para obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. Ronaldo Olivera Cavalli

Orientador

Prof. Dr. Álvaro José de Almeida Bicudo

Co-orientador

Recife,
Fevereiro/2016

Ficha catalográfica

S586d Silva Júnior, Reginaldo Florêncio da
Digestibilidade de ingredientes proteicos e energéticos
para o robalo-flecha (*Centropomus undecimalis*) e seus
efeitos no perfil das enzimas digestivas / Reginaldo Florêncio
da Silva Júnior. – Recife, 2016.

121 f. : il.

Orientador: Ronaldo Olivera Cavalli.

Tese (Doutorado em Recursos Pesqueiros e Aquicultura) –
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de
Pesca e Aquicultura, Recife, 2016.

Referências.

1. Digestibilidade 2. Enzimas digestivas 3. Ingredientes
proteicos e energéticos I. Cavalli, Ronaldo Olivera, orientador
II. Título

CDD 639.3

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E AQUICULTURA

**DIGESTIBILIDADE DE INGREDIENTES PROTEICOS E ENERGÉTICOS PARA O
ROBALO-FLECHA (*Centropomus undecimalis*) E SEUS EFEITOS NO PERFIL DAS
ENZIMAS DIGESTIVAS**

REGINALDO FLORÊNCIO DA SILVA JÚNIOR

Tese julgada adequada para obtenção do título de doutor em Recursos Pesqueiros e Aquicultura. Defendida e aprovada em 19 de fevereiro de 2016 pela seguinte Banca Examinadora.

Prof. Dr. Ronaldo Olivera Cavalli (Orientador)
Departamento de Pesca e Aquicultura – UFRPE

Prof. Dr. Eudes de Souza Correia (Membro Interno)
Unidade Acadêmica de – UFRPE

Profa. Dra. Juliana Ferreira dos Santos (Membro Externo)
Departamento de Pesca e Aquicultura – UFRPE

Prof. Dr. Ranilson de Souza Bezerra (Membro Externo)
Departamento de Bioquímica – UFPE

Prof. Dr. Paulo Roberto Campagnoli de Oliveira Filho (Membro interno)
Departamento de Pesca e Aquicultura – UFRPE

Dr. Diego de Souza Buarque (Membro suplente)
Departamento de Bioquímica – UFPE

Profa. Dra. Roberta Borda Soares (Membro suplente)
Departamento de Pesca e Aquicultura – UFRPE

Dedicatória

*Ao **Senhor Deus**, que sempre me deu forças para vencer os obstáculos e pela oportunidade de vivenciar momentos felizes. Aos meus pais **Reginaldo e Maria das Graças** pelo grande exemplo de vida, educação e estímulos constantes. Á minha esposa **Paula** pelo amor, compreensão e carinho. Á **Patrícia Fernandes de Castro** (in memoriam) que tanto contribuiu para minha formação, exemplo profissional e amizade.*

*“Sonhe com aquilo que você quer ser,
porque você possui apenas uma vida
e nela só se tem uma chance de fazer aquilo que quer.*

*Tenha felicidade bastante para fazê-la doce.
Dificuldades para fazê-la forte.
Tristeza para fazê-la humana.
E esperança suficiente para fazê-la feliz.*

*As pessoas mais felizes não tem as melhores coisas.
Elas sabem fazer o melhor das oportunidades
que aparecem em seus caminhos.*

*A felicidade aparece para aqueles que choram.
Para aqueles que se machucam
Para aqueles que buscam e tentam sempre.
E para aqueles que reconhecem
a importância das pessoas que passaram por suas vidas”*

Sonho – Clarice Lispector

Agradecimentos

Ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura (PPGRPAq) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), pela oportunidade e apoio para realização deste curso.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento do projeto.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura, pela oportunidade de um amiro conhecimento.

Aos Professores Dr. Ronaldo Olivera Cavalli (orientador) e Dr. Álvaro José de Almeida Bicudo (co-orientador) pela orientação, confiança e amizade.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e tecnologia de Pernambuco, *Campus* Vitória de Santo Antão pelo incentivo.

Aos membros da Banca Examinadora, titulares e suplentes, pelas críticas e sugestões que contribuíram para melhorar a qualidade deste trabalho.

Ao Professor Dr. Eudes de Souza Correia (UFRPE/DEPAq) que tanto contribuiu para minha formação, pela amizade, incentivo e exemplo profissional.

Ao Professor Paulo de Paula, como também sua filha Paula Shinozaki pela amizade e apoio na estatística deste estudo.

Ao Professor Rodrigo Antônio Ponce de Leon Ferreira de Carvalho da Unidade Acadêmica Especializada em Ciências Agrárias (EAJ) da Universidade Federal do Rio Grande do Norte pela amizade e apoio nos cálculos de digestibilidade.

A equipe do Laboratório de Piscicultura Marinha (LPM), pelo apoio prestado na montagem, instalações e execuções dos trabalhos, em especial, a Carolina Torres, Carolina Costa, Larissa Lima, João Farias, Carlos Zarzar, Nelson Gomes, Erique Melatti, Paloma Alves e Felipe dos Santos.

Ao Professor Ranilson de Souza Bezerra do Laboratório de Enzimologia (LABENZ) da Universidade Federal de Pernambuco pela permissão do uso do laboratório para realização das análises enzimáticas e sua equipe, a Janilson Félix, Renata França, Marina Marcuschi, Kelma Souza, Karollina Lopes, Ana Cláudia, Daniela Campeche, Robson Coelho e Thiago Cahú.

Aos colegas e amigos, Margareth Rocha (IFPB), Maria Efigênia (IFPE), Suely Bezerra (IFPE), Antônio Botelho (IFMA), Tito Tsuji (IFMA), Izabel Funo (IFMA), Dijaci Araújo (UFRPE), Maurício Pessoa (UFRPE/UAST), Danilo Corrêa Lopes (UFMA), André Guimarães (UFMA - apoio na estatística), Joana Vorgely (IFPB), Thales Ramon (IFPE), Maviael Fonseca (IPA/PE), Jonas Ramos (IFPB), Vitor Andrade (IFPB), Willy Villa Nova (IFPE), Marcelo

Soares (IFSE), Virginia Fonseca, Izabela Urach, Camila Barros (tempestade), Sandra da Luz, Fabiana Penalva, Dennys Lapenda e Ricardo Nonô, pelos ensinamentos, companheirismo e convívio solidário.

Aos Engenheiros de Pesca, João Neto da IRCA, Adriano Guaraná da Nutreco e Davi Dias do Grupo Guabi pela amizade e por disponibilizar os ingredientes utilizados no presente estudo

Ao Biólogo da Aquatec, Diego Maia Rocha, e o empresário Enox Maia da fazenda Aquarium-Aquicultura do Brasil Ltda., pela amizade e informações cedidas.

Aos Professores Luís Sérgio (Cuba) e Ricardo Rodrigues (FURG/EMA), Marcelo Okamoto (FURG/EMA) e Gabriel Passini (UFSC) pela amizade e ensinamentos.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para realização deste trabalho, o meu sincero agradecimento.

Resumo

Os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) de oito ingredientes utilizados na indústria aquícola foram determinados em termos de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), matéria mineral (MM), fósforo (P), energia bruta (EB) e aminoácidos (AA) em juvenis de robalo-flecha (*Centropomus undecimalis*), utilizando óxido de cromo como marcado inerte. Os ingredientes incluíam a farinha de peixe (FP), farinha de camarão (FC), farinha de vísceras de aves (FVA), farinha de penas hidrolisada (FPH), farelo de soja (FS), farelo de glúten de milho (FGM), farelo de trigo (FT) e farinha de milho (FM). Uma dieta referência (REF) (56,7%PB, 22,7 MJ/kg ED) foi formulada em paralelo as dietas experimentais que incluiu 30% de cada ingrediente e 70% da dieta referência. Os resultados indicaram que o CDA dos nutrientes e EB foram afetados ($P < 0,05$) pela composição dos ingredientes testes. O FGM e FPH apresentaram resultados semelhantes ($P > 0,05$) nos nutrientes e EB. A digestibilidade da MS variou de 83% (FS) a 145% (FGM). O EE foi bem digerido pelos peixes com diferenças ($P > 0,05$) entre os ingredientes. Os menores CDA de MM observados na FVA (37%), FS (28%) e FM (47,8%) com diferença ($P < 0,05$) entre os tratamentos. Os CDA de EB na FP (118%) e FC (117%) foram significativamente maiores ($P < 0,05$) do que os demais ingredientes utilizados para os robalo-flecha. Os CDA do P foram altos em todos os ingredientes. Os CDA dos AAs refletiram a digestibilidade da PB, sendo a FP, FC, FPH e FGM maior que FVA, FS e FM. Os resultados deste estudo indicam alta digestibilidade dos ingredientes proteicos e energéticos para juvenis de *C. undecimalis*. No entanto, a digestibilidade da matéria mineral para FVA, FS e FM, foram bastante inferiores a FP, FC, FPH, FGM e FT, indiciando potencial uso desses ingredientes em rações para essa espécie. Para melhorar a utilização das dietas em peixes, além da digestibilidade dos ingredientes é importante que se conheça o perfil de enzimas digestivas do animal cultivado. Assim, este trabalho também investigou os efeitos de uma dieta comercial (I) e experimentais sobre o perfil das enzimas digestivas em juvenis de *C. undecimalis*. As atividades das proteases ácidas e alcalinas, mostraram diferença ($P < 0,05$) entre os peixes alimentados com as dietas. A análise diferiu ($P < 0,05$) entre os tratamentos com maior intensidade nas dietas I, FP e FPH. Nos estudos com a tripsina, observa-se diferença ($P < 0,05$), com maior atividade enzimática nos peixes alimentados com a dieta I. A quimotripsina, mostrou maior atividade de enzimas nas dietas com ingredientes proteicos, exceto para a FVA, em relação aos energéticos. A amilase, também se mostrou alta nos ingredientes proteicos, exceto FGM. Não houve diferença ($P > 0,05$) para atividade específica da pepsina. As diferentes concentrações de extrato etéreo na dieta (REF) e consequentemente nas demais dietas experimentais, inibiram as atividades proteolítica alcalina total e de tripsina nos juvenis de robalo-flecha. A identificação e caracterização das proteases ácidas e alcalinas em estudos de digestibilidade de peixe é um passo importante para a compreensão dos mecanismos digestivos. Os resultados dessa tese permitirão a formulação de dietas experimentais e comerciais com base em nutrientes digestíveis para juvenis do robalo-flecha.

Palavras-chave: Digestibilidade, ingredientes proteicos e energéticos e enzimas digestivas.

Abstract

The massive growth of aquaculture and limited supply of fish meal, means that alternative sources of food need to be studied to make more sustainable industry. In this context, the apparent digestibility coefficients (ADC) eight ingredients used in the aquafeeds were determined in terms of dry matter (DM), crude protein (CP), ether extract (EE), mineral content (MM), phosphorus (P), gross energy (GE) and amino acids (AA) in juvenile common snook (*Centropomus undecimalis*) using chromium oxide as inert marked. The ingredients included fish meal (FM), shrimp meal (CM), poultry by-products (PBP), hydrolyzed feather meal (HFM), soybean meal (SM), corn gluten meal (CGM) wheat bran (WB) and maize (M). A reference diet (56.7%CP, 22.7 MJ/kg GE) was formulated in parallel experimental diets which included 30% of each ingredient and 70% of the reference diet. The results indicated that the ADC of nutrients and GE were affected ($P < 0.05$) by the test composition ingredients. The CGM and HFM showed similar results ($P > 0.05$) in nutrients and GE. The digestibility DM ranges from 83% (SM) to 145% (CGM). The EE was well digested by fish with differences ($P > 0.05$) among the ingredients. The smaller ADC MM were observed in the PBP (37%) and SM (28%) and difference ($P < 0.05$) among the treatments. The ADC GE in the FM (118%) and SM (117%) were significantly higher ($P < 0.05$) than the other ingredients for common snook. The ADC P were higher in all the ingredients. The ADC of AA reflected the digestibility of CP, and FM, SM, HFM and CGM greater than PBP, SM and M. The results of this study indicate high digestibility of protein and energy ingredients for juvenile *C. undecimalis*. However, the digestibility of mineral content to PBP, SM and M were significantly lower FM, CM, HFM, CGM, SM and WB, indicating the potential use of these ingredients in feed for this species. Thus, this study also investigated the effects of a commercial diet (I) and experimental on profile of digestive enzymes in *C. undecimalis*. The activities of peptidases, acid and alkaline, showed differences ($P < 0.05$) between the fish fed the diets. The analysis differ ($P < 0.05$) between treatments with greater intensity in the diets I, FM and HFM. In studies with trypsin, there is difference ($P < 0.05$), with higher enzyme activity in fish fed diet I. Chymotrypsin showed higher proportion of enzymes in diets with protein ingredients, except for the PBP in relation to energy. Amylase, it was also high in protein ingredients except CGM. There was no difference ($P > 0.05$) for specific activity of pepsin. The different ether extract concentrations in the diet REF and consequently in the other experimental diets, inhibited total alkaline proteolytic activities and trypsin in juveniles de common snook. The identification and characterization of acidic and alkaline proteases in fish digestibility studies is an important step in understanding the digestive mechanisms. The results of this thesis will allow the formulation of experimental and commercial diets based on digestible nutrients for juvenile common snook.

Key words: Digestibility, protein and energy ingredients and digestive enzymes.

Lista de figuras

	Página
Figura 1: Robalo-flecha (<i>Centropomus undecimalis</i>).....	15
Figura 2: Tanque digestibilidade cilíndrico cônico com tubo coletor em gelo.....	20
Figura 3: Diagramas da atividade enzimática.....	35
Figura 4: Hidrólise enzimática de uma proteína hipotética.....	37
Figura 5: Classificação das proteases: Endoproteases clivam ligações peptídicas dentro da proteína (1). Exoproteases, mais especificamente as aminopeptidases, clivam resíduos localizados na posição N-terminal da proteína (2). Figura modificada de Gonzales e Robert-Baudouy (1996).....	38
Figura 6: Sítio de hidrólise específico para tripsina	39
Figura 7: Sítio de hidrólise específica para quimotripsina	40

Lista de tabelas

	Página
Tabela 1: Cálculo de produção do robalo-flecha e tilápia em viveiro	16
Tabela 2: Níveis (%) de proteína dietética recomendada para alguns juvenis de peixes carnívoros marinhos.....	24
Tabela 3: Classificação das enzimas segundo a IUBMB.....	36
Tabela 4: Classificação e divisão das proteases	38

Sumário

	Página
Dedicatória	4
Agradecimento	6
Resumo	8
Abstract	.9
Lista de figuras	10
Lista de tabelas	11
1 – Introdução.....	13
2 – Revisão de literatura.....	14
2.1 – A espécie.....	14
2.2 – Digestibilidade.....	17
2.3 – Ingredientes proteicos e energéticos para rações de peixes.....	23
2.3.1 – Ingredientes de origem animal.....	23
2.3.2 – Ingredientes de origem vegetal.....	28
2.4 – Enzimas.....	33
2.4.1 – Enzimas digestivas.....	36
3 – Referência bibliográfica.....	42
4 – Artigos científicos.....	64
4.1 – Artigo científico I.....	65
4.2 – Normas da revista Aquaculture.....	91
4.3 – Artigo científico II.....	92
4.4 – Normas da revista Fish Physiology and Biochemistry.....	121

1 – Introdução

O aumento na demanda por produtos pesqueiros para consumo humano tem resultado em um constante crescimento da produção aquícola mundial, a qual apresentou um aumento de aproximadamente de 8,6%, no período de 1980 a 2012. Embora em termos percentuais a captura de organismos aquáticos ainda seja responsável por cerca de 60% do total de pescado produzido, essa atividade vem apresentando sinais de estabilização desde a década de 1980 (FAO, 2014). De acordo com a FAO (2013), no período de 1996 a 2013, a captura diminuiu de 95,0 para 93,7 milhões de toneladas, enquanto a aquicultura passou de 27 para 70 milhões de toneladas.

Em 2012, foram produzidas mais de 5,6 milhões de toneladas de peixes marinhos, representando 12,6% do volume total da produção aquícola mundial. Embora seu valor seja equivalente a US\$ 23,5 milhões, esse quantia corresponde a 26,9% do valor total de todas as espécies de peixes cultivados. Isso se deve porque espécies carnívoras, como o salmão do Atlântico (*Salmo salar*), trutas e garoupas, tem valor de mercado superior aos peixes criados em água doce (FAO, 2014).

A aquicultura brasileira tem se profissionalizado bastante nos últimos anos, e os modelos produtivos adotados utilizam as rações como principal fonte de nutrientes para peixes (BUENO et al., 2011). No entanto, o principal desafio enfrentado pelos nutricionistas é aumentar a eficiência alimentar, diminuir os custos da alimentação e minimizar os impactos ambientais causados pelos efluentes ricos em nutrientes produzidos pelas rações (GLENCROSS et al., 2007; RANA et al., 2009; TERRAZAS-FIERRO et al., 2010; SINHA et al. 2011; NRC, 2011; LU, 2015), uma vez que estas foram identificadas como um dos custos ambientais e econômicos mais significativos na produção aquícola (NRC, 2011).

Conhecer o valor nutritivo dos alimentos permite a formulação de dietas comerciais na base de nutrientes digestíveis, e assim, ter uma avaliação mais rigorosa dos ingredientes e dos seus níveis de inclusão, pois diferentes dietas podem ser comparadas em termos de

digestibilidade dos nutrientes e energia (LEE, 2002; GLENCROSS et al., 2007). A aplicação desses conceitos pelas empresas de alimentação animal garante que as especificações de suas rações sejam mais consistentes (BOOTH et al., 2013). Outros fatores, como a palatabilidade, a utilização dos nutrientes, o efeito sobre o estado imunológico e qualidades organolépticas, também são determinantes para inclusão de diferentes ingredientes na formulação de dietas aquícolas (TERRAZAS-FIERRO et al., 2010).

No entanto, nem sempre a aplicação de uma ração nutricionalmente balanceada e de um novo sistema de cultivo irá produzir o crescimento esperado, o que pode conseqüentemente, comprometer o retorno do investimento empregado (LEE e LAWRENCE, 1997). Tal fato pode ser devido ao emprego de técnicas de manejo inadequadas e a falta de conhecimentos referentes à fisiologia digestiva do peixe cultivado, sobretudo de seu perfil enzimático e como a produção das enzimas é influenciada pelos diferentes tipos de alimento. Portanto, o entendimento da capacidade enzimática digestiva de um determinado organismo pode facilitar a elaboração de dietas adequadas ao bom desenvolvimento de espécies com potencial para o cultivo comercial (KUZ'MINA et al., 2003; JOHNSTON e FREEMAN, 2005), uma vez que o aproveitamento dos nutrientes depende da capacidade do organismo de digerir o alimento consumido (CHISTY et al., 2008).

2 – Revisão de literatura

2.1 – A espécie

Dentre os diversos peixes marinhos nativos do Brasil, o *Centropomus undecimalis*, comumente chamado de camurim, robalo-flecha ou robalo-branco (Figura 1), é considerado de grande potencial para a criação em cativeiro (ALVAREZ-LAJONCHÈRE e TSUZUKI, 2008; WINNER et al., 2010). São animais eurialinos (SILVA e PEREIRA, 1997) distribuídos em áreas tropicais e subtropicais da costa Oeste do Oceano Atlântico, desde o Cabo Canaveral, na

Flórida, Estados Unidos, até o Sul do Brasil (ROBINS e RAY, 1986). Possui hábito alimentar carnívoro oportunista (BORQUEZ-RAMIREZ, 1981; SILVA, et al., 1997), sendo encontrado em rios, estuários, lagunas costeiras e próximos a costões rochosos (McMICHAEL et al., 1989; POPE et al., 2006).

É considerado o maior dos robalos e também o de maior crescimento entre todas as espécies do gênero *Centropomus* existentes nas Américas (TUCKER, 2005; FROESE e PAULY, 2007) podendo alcançar 24kg (ALVAREZ-LAJONCHÈRE, 2004). É um peixe esportivo de grande rusticidade (SILVA, et al., 1997; BARÓN-AGUILAR et al., 2013), alto valor de mercado (R\$ 35,00/Kg) e demanda (ALVAREZ-LAJONCHÈRE, 2004; CEAGESP, 2015). São animais gregários e toleram altas densidades quando cultivados em viveiros (SÁNCHEZ-ZAMORA et al., 2002), aceitam dietas artificiais com fator de conversão alimentar de 0,7 a 1,0 (TUCKER, 1987), ampla tolerância a salinidade (0-35) e temperatura (10-35°C), suportam baixos níveis de oxigênio dissolvido (0,9-1,0.mgL⁻¹) (ALVAREZ-LAJONCHÈRE e TSUZUKI, 2008; MELLO, 2014) e o rendimento do filé sem pode alcançar até 60% (TUCKER, 2003).

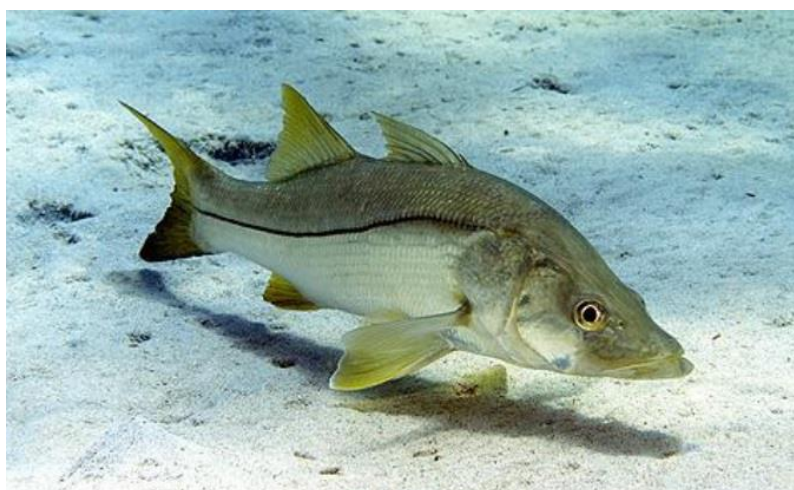


Figura 1. Robalo-flecha - *Centropomus undecimalis* (<http://animaliazlife.com/fishes/common-snook.html>).

De acordo com o Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA), em 2012 foram capturados no Brasil mais de 3.600 toneladas de robalo-flecha (*Centropomus* spp.). Apesar do grande potencial para o cultivo, de características biológicas atraentes para o mercado, e de vários anos

de pesquisa, a produção em sistemas de cultivo semi-intensivo e intensivo ainda não ocorre em escala comercial. Porém, em um policultivo experimental com tilápias (*Oreochromis niloticus*), o robalo-flecha obteve peso final de 745g em oito meses de cultivos (MAIA, 2015 - Comunicação pessoal) (Tabela 1). Os robalos foram eficientes controladores na superpopulação de tilápias, não havendo alevinos de *O. niloticus* como normalmente ocorre ao final do ciclo. Observações similares foram relatadas por Silva e Pereira (1997) em açudes e viveiros.

Tabela 1: Resultados de um ciclo de produção de robalo-flecha (*Centropomus undecimalis*) e tilápia (*Oreochromis niloticus*) em um viveiro de 3,0 hectares da Fazenda Aquarium do Brasil, em Mossoró, RN, durante 240 dias.

	Robalo-flecha	Tilápia
Salinidade média	24	
Peso inicial (g)	0,5	0,5
Densidade inicial (peixes/m ²)	0,05	2,0
População inicial	1.500	60.000
Sobrevivência (%)	85	68
Densidade final (peixes/m ²)	0,04	1,36
População final	1.275	40.800
Peso final (g)	745	800
Produção (Kg/ha/ciclo)	316,6	10.880
Produtividade (Kg/ha/ano)	365,0	16.546,7

Fonte: Enox de Paiva Maia, proprietário da fazenda Aquarium do Brasil Ltda. Mossoró/RN.

No México, em um ano de cultivo em viveiros, robalos atingiram cerca de 800g (SÁNCHEZ-ZAMORA et. al., 2002), mesmo peso obtido por Oviedo-Pérez et al. (2013) em cultivo em tanques-rede em dois anos. Ganho de peso de até 110g de *C. undecimalis* foram registrados nos seis primeiros meses por Tucker (1989) na Flórida, EUA. Em um estudo de 183 dias realizado por Souza-Filho e Cerqueira (2003), avaliando três diferentes densidades de estocagem para juvenis de *C. undecimalis*, registrou-se taxa de crescimento específico (TCE) entre 0,71 e 0,87%.dia⁻¹ (23g inicial e 80-110g final). Wagner et al. (2000), cultivando esta mesma espécie em tanque-rede e alimentados com dieta experimental (51,8% PB) e comercial (49,4% PB), conseguiram uma TCE média de 0,55%.dia⁻¹. Oviedo-Pérez et al. (2013),

cultivando este peixe em gaiolas flutuantes no estuário de Vera Cruz, México, obtiveram em 90 dias um ganho de peso de 13,03g e uma TCE de 1,78%.dia⁻¹. Resultados semelhantes foram relatados por Mello (2014) para o mesmo período, com TCE de 1,92%.dia⁻¹ e peso médio final de 13,43g.

Quando comparado ao robalo asiático (*Lates calcarifer*), observa-se um baixo crescimento, pois tem-se registros que esta espécie atinge peso de 450-500g em 5-6 meses (CELL AQUACULTURA, 2006), 2kg em um ano (SCHIPP et al., 2007) e 3,5kg em 18-20 meses (SCHIPP, 2006). Embora sejam espécie filogeneticamente distintas e distribuídas naturalmente em regiões diferentes, possuem sistemas digestórios e hábitos alimentares semelhantes, além da preferência pelo habitat estuarino-manguezal (SILVA, 1996; GLENCROSS, 2006; ALVAREZ-LAJONCHÈRE e TSUZUKI, 2008; PETHIYAGODA e GILL, 2014).

O baixo desempenho registrado em cultivos do *C. undecimalis* pode estar relacionado com problemas nutricionais, digestibilidade de ingredientes, e mudanças ontogenéticas no metabolismo das enzimas digestivas, uma vez, que estes aspectos não foram estudados para esta espécie até o presente momento. Como a tecnologia básica de produção de formas jovens desta espécie está disponível (SÁNCHEZ-ZAMORA et al., 2002; SOLIGO et al., 2008 e 2011; PITZ, 2009; CARVALHO et al., 2014; PASSINI et al., 2014), faz-se necessário estabelecer as bases científicas que permitirão a formulação de dietas balanceadas nutricionalmente adequadas.

2.2 – Digestibilidade

Um dos insumos mais importantes na aquicultura é a dieta. Especificamente na criação de peixes marinhos, o custo de produção com este “input”, pode representar de 50 a 70% (RANA et al., 2009; SINHA et al. 2011; NRC, 2011). Na produção animal, as formulações das

rações são feitas com base no conhecimento das exigências nutricionais da espécie alvo e nos nutrientes disponíveis nos ingredientes, pois apenas com este conhecimento é possível determinar o custo benefício dos ingredientes e utilizar todo potencial genético dos animais com os menores custo de produção (FOX et al., 2006). Portanto, a determinação da digestibilidade dos nutrientes dos ingredientes é uma das primeiras etapas no desenvolvimento de rações (BURR et al., 2011; NRC, 2011). Segundo Glencross (2007), na determinação de ingredientes para uso em rações de aquicultura, existem vários componentes que devem ser entendidos para permitir o uso criterioso dos mesmos na formulação de rações. Isso inclui informações sobre sua caracterização dos (origem, composição química e sua variabilidade), digestibilidade, palatabilidade, a utilização dos nutrientes e interferências e sua funcionalidade.

Na avaliação da digestibilidade da dieta, duas abordagens metodológicas são utilizadas, a direta e a indireta (MAYNARD e LOOSLI, 1969). No método de avaliação direta, é necessário um relato completo da entrada da alimentação e saída fecais. O valor da digestão dos alimentos é então determinado com base na massa de equilíbrio. No entanto, neste método há muitos problemas, em grande parte por causa da dificuldade e erros envolvidos com a coleta de dados precisos sobre o consumo de ração e a produção fecal. Na avaliação indireta, são necessários uma amostra representativa da excreta, do alimento, como também, do marcador não digerível adicionado à dieta. A razão entre o marcador na dieta e das fezes determina a matéria seca digerida e é utilizada para calcular a digestibilidade de energia e nutrientes (ZHOU et al., 2004; DAVIES et al., 2009; OLIM, 2012; BOOTH et al., 2013).

Idealmente, a avaliação da digestibilidade dos ingredientes pode ser feita através de uma alimentação simples. No entanto, isso raramente é possível, pois os animais aquáticos muitas vezes se recusam a ingerir dietas constituídas por um único ingrediente. Em vez disso, uma abordagem na substituição parcial de um ingrediente é normalmente utilizada, na qual as dietas teste compreendem o ingrediente teste mais os componentes da dieta referência (GLENCROSS, 2007).

Existem dois métodos de inclusão para avaliação específica na digestibilidade de ingredientes. Estes geralmente são referidos como o método de substituição da dieta (MSD) ou o método de substituição de ingrediente (MSI) (AKSNES et al. 1996). Com o método de MSD, um ingrediente teste é adicionado para substituir uma porção da dieta referência, constituindo uma dieta teste. Os valores de digestibilidade para as dietas referência e teste são então determinados com base nos fatores de proporcionalidade e a digestibilidade do ingrediente, ou qualquer um dos seus nutrientes pode ser calculado. É importante notar que, com este método, a parte de uma dieta referência no interior de qualquer dieta teste deve ser totalmente representativa da dieta referência completa. Por exemplo, todos os ingredientes, incluindo os aditivos e o marcador, devem ser incluídos na porção da dieta referência utilizado e não adicionado à dieta teste a níveis equivalentes aos da dieta referência (GLENCROSS, 2007).

O MSI também usa uma dieta referência, mas difere em que a dieta referência geralmente tem um único e bem definido ingrediente de referência fixo, com alto nível de inclusão (AKSNES et al., 1996). Este único ingrediente é, então, substituído com os ingredientes teste para criar uma nova dieta. No entanto, a quantidade do ingrediente teste que está incluído em uma dieta teste também tem implicações importantes para exatidão da avaliação feita na digestibilidade (SMITH e TABRETT, 2004). Tipicamente, o método mais utilizado é o MSD, no qual há uma maior contribuição do ingrediente teste na dieta em níveis de inclusão de 20 a 40% (ZHOU et al., 2004; TIBBETTS et al., 2006; DAVIES et al., 2009; GLENCROSS et al., 2011 e 2012; OLIM, 2012; BOOTH et al., 2013; BLYTH et al., 2015). Seja pelo MSD ou MSI, uma grande variedade de marcadores tem sido utilizada em estudos de digestibilidade na aquicultura, como óxido de ítrio (GLENCROSS et al., 2014; BLYTH et al., 2015), o óxido de itérbio (TABRETT et al., 2012). Porém, o óxido de crômio (Cr_2O_3) é o marcador mais utilizado (RINGO, 1995; AUSTRENG et al., 2000; SILVA et al., 2013; CHU et al., 2015; VIDAL et al., 2015; GOMINHO-ROSA et al., 2015).

Nas pesquisas de nutrição aquícola, o método de coleta fecal tem sido bastante debatido (CHO & SLINGER, 1979; CHOUBERT et al., 1982; VANDENBERG & NOUE, 2001; GLENCROSS et al., 2006; BUREAU e HUA, 2006). Essencialmente, existem três métodos adotados pela maioria dos pesquisadores: dissecação, extrusão e sedimentação. No entanto, na extrusão existe o potencial para subestimar a digestibilidade devido a digestão incompleta e a potencial contaminação da digesta (não chamada de fezes até que realmente seja excretada) com material endogeno. Na sedimentação, as fezes são recolhidas após assentamento no tanque de decantação cilindro-cônicos com um “compartimento” de coleta na parte terminal (Figuras 2). Allan et al. (1999) aprimoraram este método de coleta, que inicialmente foi desenvolvido por Cho e Slinger (1979) e em seguida por Choubert et al. (1982). Neste método, existe a possibilidade de superestimar a digestibilidade devido a perdas por lixiviação de matéria orgânica (GLENCROSS, 2006, 2011 e 2012; TERRAZAS-FIERRO, 2010; CARVALHO, 2011; BLYTH et al., 2012; TABRETT et al., 2012).



Figura 2 – Tanque digestibilidade cilíndrico cônico com tubo coletor de fezes imerso em gelo.

A utilização das avaliações de digestibilidade para a aquicultura foi adaptado pela primeira vez por Nose (1960) (1), uma vez, que os cálculos para determinar o coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) das dietas foram em sua maioria derivados dos métodos desenvolvidos a partir da ciência de animais terrestres (GLENCROSS, 2007).

$$(1) \quad \text{CDAN}_{(\text{DT/R})} = 100 - [100 (\text{Cr}_2\text{O}_3(\text{DT/R}) / \text{Cr}_2\text{O}_3(\text{F})) \times (\text{N}_{(\text{F})} / \text{N}_{(\text{R})})]$$

Onde: $\text{CDAN}_{(\text{DT/R})}$ = % coeficiente da digestibilidade aparente dos nutrientes e/ou energia nas dietas testes e referência; $\text{Cr}_2\text{O}_3(\text{DT/R})$ = % de óxido de cromo nas dietas testes e referência; $\text{Cr}_2\text{O}_3(\text{F})$ = % de óxido de cromo nas fezes das dietas testes e referência; $\text{N}_{(\text{F})}$ = % nutriente nas fezes das dietas teste e referência; $\text{N}_{(\text{R})}$ = % nutriente das dietas teste e referência.

Cho e Slinger (1979) desenvolveram um dos protocolos mais utilizados para a determinação da digestibilidade de ingredientes para peixes. Neste protocolo, sete partes da dieta referência são misturadas com três partes do ingrediente teste para formar uma dieta teste, com base na relação do marcador na dieta e nas fezes (2). Esta equação foi usada por vários laboratórios durante muitos anos para calcular o CDA dos nutrientes de ingrediente teste com base no CDA das dietas referências e teste (CHO & SLINGER, 1979, 1982).

$$(2) \quad \text{CDAN}_{(\text{IT})} = \text{CDAN}_{(\text{DT})} - [(\text{CDAN}_{(\text{DR})} \times 0,7)] / 0,3$$

Onde: $\text{CDAN}_{(\text{IT})}$ = % coeficiente da digestibilidade aparente do nutrientes e/ou energia nos ingredientes testes; $\text{CDAN}_{(\text{DT})}$ = % coeficiente da digestibilidade aparente dos nutrientes nas dietas testes; $\text{CDAN}_{(\text{DR})}$ = % coeficiente da digestibilidade aparente dos nutrientes na dieta referência.

Equações semelhantes foram sugeridas por Sugiura et al. (1998) (3) e Forster (1999) (4), os quais demonstraram que a equação (2) estava matematicamente incorreta, uma vez que não contabilizava a contribuição dos nutrientes na dieta referência e no ingrediente teste. Bureau e Hua (2006) resumiram as equações anteriores (3 e 4) na equação (5).

$$(3) \quad \text{CDAN}_{(\text{IT})} = \text{CDAN}_{(\text{DT})} \times \text{N}_{(\text{DT})} - [(\text{CDAN}_{(\text{DR})} - \text{N}_{(\text{DR})} \times 0,7)] \times (0,3 \times \text{N}_{(\text{IT})})$$

$$(4) \quad \text{CDAN}_{(\text{IT})} = [(0,7 \times \text{N}_{(\text{DR})} + \text{N}_{(\text{IT})} \times 0,3) \times \text{CDAN}_{(\text{DT})} - (0,7 \times \text{N}_{(\text{DR})} \times \text{CDAN}_{(\text{DR})})] \times (0,3 \times \text{N}_{(\text{IT})})$$

$$(5) \quad \text{CDAN}_{(\text{IT})} = [(\text{CDAN}_{(\text{DT})} \times \text{N}_{(\text{DT})}) - (0,7 \times \text{N}_{(\text{DR})} \times \text{CDAN}_{(\text{DR})})] \times (0,3 \times \text{N}_{(\text{IT})})$$

Onde: $\text{CDAN}_{(\text{IT})}$ = % digestibilidade aparente dos nutrientes e/ou energia nos ingredientes testes incluídos nas dietas teste em 30%. $\text{CDAN}_{(\text{DT})}$ = % digestibilidade aparente do nutriente e/ou energia na dietas teste. $\text{CDAN}_{(\text{DR})}$ = % digestibilidade aparente da dieta referência que compõe 70% da dieta referência. $\text{N}_{(\text{IT})}$, $\text{N}_{(\text{DT})}$ $\text{N}_{(\text{DR})}$ são os níveis (%) dos nutrientes e/ou energia de interesse, no ingrediente e nas dietas de teste e referência, respectivamente.

Em 2006, alterações foram sugeridas por Bureau e Hua (2006), no qual enfatizam que a equação (5) está correta, porém, há limitações. Ela só pode ser “exata”, se a dieta referência (peletizada), a mistura da dieta referência (mistura não peletizada do ingrediente da dieta referência combinados com os ingrediente teste em uma proporção de 7:3), os ingredientes teste e dietas teste (peletizada) tiverem o mesmo teor de matéria seca. No entanto, isto não ocorre, sendo necessário uma correção da equação para garantir que quaisquer diferenças no conteúdo de matéria seca das dietas referência e ingrediente teste sejam contabilizados (6). Para isto, é preciso assegurar que o teor do nutriente verificado para uma dieta teste são os mesmos previstos na mistura e na matéria seca do ingrediente e níveis de nutrientes, (ou seja, $(0,7 \times \% \text{N}_{(\text{DR})}) + (0,3 \times \% \text{N}_{(\text{IT})}) = \% \text{N}_{(\text{DT})}$). Se este não é o caso, uma tendência muito significativa será introduzida no CDA dos ingredientes testes, resultando numa amplificação de erro.

$$(6) \quad \text{CDAN}_{(\text{IT})} = \text{CDAN}_{(\text{DT})} + [(\text{CDAN}_{(\text{DT})} - \text{CDAN}_{(\text{DR})}) \times (0,7 \times \text{N}_{(\text{DR})} / 0,3 \times \text{N}_{(\text{IT})})]$$

Onde: $CDAN_{(IT)}$ = % digestibilidade aparente dos nutrientes e/ou energia nos ingredientes testes incluídos nas dietas teste em 30%. $CDAN_{(DT)}$ = % digestibilidade aparente do nutriente e/ou energia na dieta teste. $CDAN_{(DR)}$ = % digestibilidade aparente da dieta referência que compõe 70% da dieta referência. $N_{(DR)}$ = % do nutriente na mistura da dieta referência, $N_{(IT)}$ = % do nutriente no ingrediente teste.

2.3 – Ingredientes proteicos e energéticos para rações de peixes

2.3.1 – Ingredientes de origem animal

O desafio enfrentado por nutricionistas da aquicultura é principalmente aumentar a eficiência alimentar, diminuir os custos da alimentação e minimizar os impactos ambientais causados pelos efluentes ricos em nutrientes, produzidos pelas rações fornecidas (RANA et al., 2009; SINHA et al. 2011; NRC, 2011, LU et al., 2015).

De maneira geral, os peixes se alimentam para satisfazer suas necessidades energéticas. Caso a energia na dieta não seja suficiente (alta relação proteína: energia), o consumo de ração aumenta e o excesso de proteína na dieta será direcionado para a produção de energia. Isso não só resulta no uso ineficiente da proteína, mas também aumenta a carga de resíduos nitrogenados nos efluentes. Assim, do ponto de vista econômico e ecológico, é fundamental que a proteína seja utilizada para a síntese de tecido muscular e não para a produção de energia metabólica (CHO et al., 2005). Em contrapartida, se o conteúdo energético da dieta for alto, ou seja, a relação proteína/energia for baixa, o consumo de dieta é reduzido, resultando na diminuição do crescimento dos peixes devido à redução na ingestão dos demais nutrientes essenciais (CHO et al., 2005). Além disso, o excesso de energia na dieta também pode resultar em uma maior deposição de lipídios na carcaça (NEMATIPOUR et al., 1992), o que pode impactar

negativamente a saúde, o rendimento de carcaça dos peixes e a qualidade do produto final (CRAIG et al., 2006).

A piscicultura marinha requer dietas de alta qualidade e com alto teor de proteína (Tabela 2). Este é o nutriente de custo mais elevado, e que é utilizado pelos peixes na formação de tecido muscular e como fonte de energia, além de desempenhar atividade enzimática, transporte (hemoglobina), proteínas nutrientes e de reserva, proteínas contráteis ou do movimento (miosina, actina), proteínas estruturais, de defesa, reguladoras (hormônios) (DENG et al., 2011, SUN et al., 2015; RICHE, 2015). A maior parte da proteína nas rações para piscicultura marinha é oriunda da farinha de peixe (FP), a qual possui elevado teor proteico, perfil balanceado de aminoácidos e ácidos graxos essenciais, excelente palatabilidade, alta digestibilidade e baixos níveis de fatores anti-nutricionais (RICHE, 2015; BOWZER et al., 2015). Por isso, é reconhecidamente a melhor fonte proteica em dietas para peixes carnívoros, que exigem níveis mais elevados de proteína em comparação aos peixes onívoros e/ou herbívoros (NRC, 2011).

Tabela 2 – Níveis (%) de proteína dietética recomendada para alguns juvenis de peixes carnívoros marinhos.

Espécie	(%)	Referência
Asian sea bass (<i>Lates calcarifer</i>)	45-55	Cuzon e Fuchs (1998); Williams e Barlow (1999)
Salmão do Atlântico (<i>Salmo salar</i>)	48	NRC (2011)
“European sea bass” (<i>Dicentrarchus labrax</i>)	55	NRC (2011)
Florida pompo (<i>Trachinotus carolinus</i>)	45	Lazo et al. (1998)
“Meagre” (<i>Argyrosomus regius</i>)	47	Martínez-Llorens et al. (2011)
“Mulloway” (<i>Argyrosomus japonicus</i>)	47	Pirozzi et al. (2010)
Beijupirá (<i>Rachycentron canadum</i>)	45	Chou et al. (2001)
“Red sea bream” (<i>Pargus major</i>)	55	NRC (2011)
“Yellowtail” (<i>Seriola quinqueradiata</i>)	55	NRC (2011)
“Gilthead sea bream” (<i>Sparus auratus</i>)	50	NRC (2011)

Os estoques de peixes selvagens capturados para a produção de óleo e FP se encontram sobrepescados ou em declínio e a indústria da aquicultura continua crescendo para atender a

alta demanda por produtos pesqueiros (FAO, 2014). Assim, há uma grande dependência das dietas aquícolas por esses ingredientes, que utilizam 70% da produção mundial de FP (TACON e METIAN, 2011). A combinação da oferta estagnada e alta demanda por FP levou a um aumento dessa *commodity* no mercado mundial (FAO, 2012). Considerando que o preço da FP no período de 1985 a 2000 oscilou em torno de US\$ 500/tonelada e os preços atuais excedem US\$ 2.000/tonelada (FAO 2013), a produção atual da FP não serão suficientes para atender a demanda de produções futuras de maneira economicamente viável se a inclusão da FP nas dietas permanecerem em níveis elevados. Portanto, encontrar fontes alternativas e adequadas para substituir total ou parcialmente a FP em rações aquícolas é uma constante tanto para as espécies que já estão em produção quanto para aquelas que apresentam potencial de criação, como é o caso do *C. undecimalis*. A tendência mundial mostra o aumento de utilização nas rações por farinhas de subprodutos animais, sementes de oleaginosas e grãos de leguminosas (TACON et al., 2011; SAADIAH et al., 2011; YANG et al., 2011; NRC, 2011, CASTILLO e GATLIN, 2015) que beneficiam a indústria aquícola.

Fontes proteicas de origem animal como a farinha de víscera de aves, farinha de penas hidrolisada e farinha de camarão possuem níveis e perfil adequado de aminoácidos essenciais (AAE), energia digestível, ácidos graxos essenciais, minerais e vitaminas, além de funcionarem como palatabilizantes e serem livres de fatores anti-nutricionais (FAN), tem sido utilizados em dietas para peixes (YU, 2008; NRC, 2011; BURR et al., 2012). Entretanto, esses produtos podem conter uma composição variável, além de apresentarem alguns riscos, como contaminação bacteriana e ser vetor de doenças, como observado em bovinos (febre aftosa e “mal da vaca louca”), sendo seu uso atualmente limitado na Europa (NRC, 2011).

Farinha de víscera de aves (IFN 5-03-798)

A farinha de víscera de aves (FVA) apresenta de 60 a 80% de proteína, é altamente digestível e está disponível comercialmente no mercado em grandes volumes (SUBHADRA et

al. 2006; SAADIAH et al., 2011). Diferentes níveis de inclusão de FVA em dietas tem sido relatado como substituto da FP em espécies como o “striped bass” híbrido (*Morone chrysops* ♀ × *M. saxatilis* ♂) (RAWLES et al. 2006), garoupa pantera (*Cromileptes altivelis*) (SHAPAWI et al. 2007), “largemouth black bass” (*Micropterus salmoides*) (RAWLES et al, 2006; SUBHADRA et al., 2006), “Gilthead sea bream” (NENGAS et al., 1999), *Lutjanus guttatus* (HERNÁNDEZ et al., 2014); truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) (LU et. al., 2015), Florida pompano (RICHE, 2015) e o robalo japonês (*Lateolabrax japonicus*) (WANG et al., 2015). Porém, deve-se considerar a suplementação na formulação das rações com lisina, metionina e triptofano, como também, a utilização de um antioxidante para evitar a oxidação lipídica (HERTRAMPF e PIEDAD-PASCUAL, 2001).

Farinha de penas hidrolisada (IFN 5-03-795)

A farinha de penas hidrolisada (FPH) é obtida pela digestão sob pressão de vapor indireto de penas limpas não decompostas de aves abatidas e livre de aditivos. Estima-se que cada 2,0kg de ave viva, produz 180g de penas. Além disso, penas frescas contem aproximadamente 90% de PB. Devido ao elevado nível de queratina, uma proteína resistente, fibrosa, insolúvel e de ligação dissulfeto, a digestibilidade das penas frescas é inferior a 5,0%. No entanto, com o processo de hidrólise, as penas podem ser convertidas em uma boa proteína para rações aquáticas (HERTRAMPF e PIEDAD-PASCUAL, 2001).

Devido ao crescimento da indústria avícola, a FPH vem sendo utilizada nos últimos anos nas rações de peixe por possuir CDA de PB variando de 67-87%. Possui vários AAE, porém é deficiente em metionina, lisina, histidina e triptofano (TACON et al., 2011; DAVIES et al., 2009; POPPI et al., 2011). O uso da FPH tem sido relatado em “mulloway” (BOOTH et al., 2013), salmão prateado ou coho (*Oncorhynchus kisutch*) (HIGGS et al., 1979), garoupa malabar (*Epinephelus malabaricus*) (WANG, 2008), truta arco-íris (BUREAU et al., 2000; LU et al., 2015). A substituição de 35 a 75% da proteína da farinha de arenque (FP) pela mistura da FPH

e FVA não ocasionou diferença considerável no desempenho do salmão coho em comparação ao grupo controle (farinha de arenque) (HIGGS, 1979). LU et al. (2015) sugeriram que a combinação da FPH, FVA e farinha de sangue são bons substitutos à FP em dietas práticas para truta arco-íris.

Farinha de camarão (IFN 5-04-226)

A farinha de camarão (FC) é um grande subproduto da indústria camaroneira. A produção mundial de crustáceos foi estimada em 6.446.818 toneladas em 2014 pela FAO. O cefalotórax constitui de 34 a 45% do corpo do camarão (HERTRAMPF e PIEDAD-PASCUAL, 2001). No entanto, no processamento, geralmente são removidos o cefalotórax, o exoesqueleto e a cauda. Estes subprodutos são descartados ou subutilizados e correspondem a aproximadamente 50% do seu peso total, constituindo-se em uma fonte significativa de desperdício de recursos e de contaminação ambiental, o que torna importante seu aproveitamento do ponto de vista econômico, industrial e ambiental (HEU et al., 2003).

A FC é uma boa fonte de lisina e metionina (HERTRAMPF e PIEDAD-PASCUAL, 2001), e rica em ácidos graxos insaturados, possuindo em média 10% de colesterol e de 35 a 50% de fosfolípidos (CARVE et al., 1988; FOX et al., 1994). Göhl (1981) avaliou que a FC feita a partir de camarões inteiros continha 3,03 e 1,13% de cálcio e fósforo, respectivamente, enquanto que a partir da cabeça de camarão 12,21 e 1,63%, respectivamente (NEW, 1987). Níveis de inclusão de FC em dietas deste ingrediente são limitados pelo alto teor de quitina e cinzas. A inserção em dietas práticas não deve ser maior do que 20 e 10% para as espécies carnívoras e onívoras/herbívoras, respectivamente (HERTRAMPF e PIEDAD-PASCUAL, 2001).

O uso da FC em peixes como tilápia (GUIMARÃES et al., 2008), pode afetar negativamente o desempenho, devido à baixa digestibilidade da quitina, que é um aminopolissacarídeo de baixa digestibilidade para a maioria dos peixes (SHIAU e YU, 1999).

Entretanto, Fines e Holt (2010) determinaram o CDA da quitina entre 67-78% por juvenis de beijupirá (*R. canadum*) alimentados com dietas contendo FC e farinha de caranguejo, e demonstraram que este peixe possui capacidade em digerir a quitina por meio de uma forte ação de enzimas endógenas, com a transformação da quitina em N-acetilglicosamina, abrindo assim a possibilidade de utilização de ingredientes ricos em quitina como substituição de fontes de carboidratos e até mesmo como substituto parcial da farinha de pescado (GIRI et al., 2005; LITI et al., 2006).

2.3.2 – Ingredientes de origem vegetal

Em comparação com as fontes de proteína animal, os ingredientes de origem vegetal, obtidos a partir de sementes de oleaginosas, grãos e leguminosas, como o farelo de soja (BURR et al., 2012), farelo glúten de milho (SARKER et al., 2012), farinha de trigo (GLENCROSS et al., 2012) e de farinha de milho (NRC, 2011), são consideradas alternativas mais econômicas em comparação a alta qualidade da FP na alimentação dos peixes produzidos, por causa dos altos teores de proteína e energia disponível, alta digestibilidade, preço razoável, oferta estável e baixo teor de fósforo em relação à FP (ZHOU et al 2004; BISWAS et al. 2007, NRC, 2011).

A disponibilidade de fósforo (P) na dieta depende da forma química e digestibilidade, a absorção e utilização metabólica. A FP tem altos teores de P e ainda é a principal fonte deste nutriente em alimentos para peixes marinhos (NRC, 2011). Portanto, o uso de proteínas vegetais com baixo teor de P é uma estratégia para reduzir o desperdício deste nutriente na aquicultura, uma vez que, 70% do fósforo nos alimentos vegetais está na forma de fitato, que não é utilizada pelos monogástricos o que promove uma redução na disponibilidade de outros elementos, como zinco, cálcio, ferro e manganês (FARIA et al., 2001). A incorporação dietética de fitase exógena melhora a digestibilidade do fósforo de peixes alimentados com dietas contendo ácido fítico (CHO e BUREAU, 2001).

A desvantagem de utilizar ingredientes de origem vegetal é que eles podem interferir no crescimento dos peixes carnívoros não somente devido à diminuição da palatabilidade da dieta, mas também pela presença de fatores antinutricionais (ou antimetabolizantes) (REFSTIE et al., 2001; KROGDAHL et al., 2010). Os fatores antinutricionais incluem os inibidores de proteases (tripsina, quimotripsina, plasmina, pronase, trombina, subtilisina, endopeptidase, proteases de insetos, papaína, elastina, proteases microbianas), hemoaglutinantes (lectina), antifatores de vitamina E, A, D e B12, alérgenos, polissacarídeos não amiláceos – oligossacarídeos, tiaminase, gossipol, fitoestrógenos, alcaloides e ácido fítico (KARALAZOS, 2007; TACON, 2009; YANG et al., 2011). Essas substâncias, quando presentes na alimentação de animais aquáticos, podem afetar o valor nutricional e resultar em uma variedade de efeitos fisiológicos nos peixes, como redução no crescimento e queda da imunidade (CRAIG et al., 2006; BISWAS et al., 2007; SILVA JÚNIOR et al., 2009). De forma geral, a viabilidade da substituição da farinha de peixe por ingredientes vegetais estará condicionada ao hábito alimentar do animal a ser cultivado.

Farelo de Soja (IFN 5-04-600)

O farelo de soja (FS) obtido pelo grão, *Glycine* spp., é a fonte de proteína de origem vegetal mais utilizada em dietas para peixes (ZHOU et al., 2004; MARTINEZ-LLORENS et al., 2007; TOMÁS-VIDAL et al., 2011) e outros organismos aquáticos (NRC, 2011). Segundo a FIESP (2016), a soja é o alimento de maior produção global com 319,0 milhões de toneladas. O Brasil ocupa a segunda posição na produção mundial com 96,2 milhões de toneladas.

O FS é um subproduto resultante da extração do óleo. A remoção desse componente resulta em um produto de 45 a 50%PB, com e sem casca de soja, respectivamente, e digestibilidade proteica de 77 a 99% para peixes (NRC, 2011). Um outro produto do FS, referido como "*full-fat*", é produzido por tratamento térmico dos grãos, resultando em um produto possuindo cerca de 38% de proteína bruta e 18% de lípidos (HERTRAMPF e PIEDADE-PASCUAL, 2000; NRC, 2011). O FS possui aproximadamente 30% de carboidratos

indigestíveis e um dos melhores perfis de aminoácidos entre os alimentos ricos em proteínas de origem vegetal. No entanto, os níveis de metionina, lisina e treonina são significativamente mais baixos do que FP (TACON et al., 2009; NRC, 2011) e não contém taurina, que é indispensável para alguns peixes (TAKEUCHI, 2001). Além disso, possui fatores anti-nutricionais (FAN) (FRANCIS et al., 2001) que podem afetar o processo digestivo (REFSTIE et al., 2000). Dentre esses, os inibidores de tripsina, que precisam ser removidos ou inativados através do processamento antes da utilização em dietas aquáticas (TACON, 1995). Estudo realizado por Biswas et al. (2007) avaliando a dosagem ideal de fitase em seis dietas isoenergéticas – 65%FP, 40%FP + 30% (farelo de soja) FS, e FP + FS suplementadas com unidades de atividades de fitase (UAF) que variavam de 1000 a 4000 UAF.kg⁻¹ - para o “red sea bream” (*Pagrus major*), observaram que a dieta FP+FS+2000 UAF.kg⁻¹, resultou em melhor ganho de peso, taxa de crescimento específico, redução da descarga de fósforo nos efluentes e boa digestibilidade dos nutrientes e energia. Este desempenho foi tão bom quantos aqueles alimentados com 65%FP.

De acordo com McGoogan e Gatlin (1997), as dietas com 90% de FS em substituição a FP para "red drum" (*Sciaenops ocellatus*) não afetaram o crescimento e a eficiência alimentar. Também para essa espécie, Reigh e Ellis (1992) mostraram que dietas com 50% de proteína de soja e suplementação de metionina, promoveram maiores taxas de crescimento e eficiência alimentar do que a dietas de controle. Em “gilthead seabream”, dietas com substituição da FP, com 20 e 30% de FS, foram bem aceitas pelos peixes sem qualquer efeito adverso no crescimento (ROBAINA et al., 1995). Para o “Atlantic halibut” (*Hippoglossus hippoglossus*) (BERGE et al., 1999), robalo asiático (BOORYARATPALIN et al, 1998), salmão do Atlântico (CARTER e HAULER, 2000) e beijupirá (CHOU et al., 2004), os resultados de estudos indicam a possibilidade de substituição de 30-40% da FP pelo FS.

Um estudo sobre a análise do ciclo de vida (LCA) dos ingredientes utilizados nas rações para salmões apontou que a ração representa o maior aporte de energia e material na aquicultura

intensiva por meio dos seus ingredientes que causam impacto ambiental ao longo da sua produção a partir do consumo de energia, aquecimento global, eutrofização e acidificação, toxicidade para fauna aquática e uso da biota. Uma das conclusões do estudo é que o farelo de soja é três vezes menos impactante do que a farinha de peixe (PELLETIER e TYEDMERS, 2007). Entretanto, deve ser analisado com cautela, uma vez, que a área agriculturável e a cadeia de insumos representam um custo ambiental considerável.

Farinha de glúten de milho (IFN 5-02-900)

A farinha de glúten de milho (FGM) é um importante subproduto do processamento úmido do milho (RAUSCH et al., 2003), sendo conhecida comercialmente como glutenose ou Protenose®. É a parte do milho que permanece depois da extração da maior parte do amido, glúten e gérmen pelos processos utilizados na fabricação da moagem úmida ou xarope de amido de milho, ou por tratamento enzimático do endosperma. Pode ou não conter extrativos de milho fermentado e/ou farelo de gérmen de milho (TACON et al., 2009).

A FGM é uma excelente fonte de proteína, mínimo de 60%, lipídeo bruto (2,2-3,6%), cinzas (1,6-2,5%), fibra bruta (1,5-2,4%), carboidratos (31,6%) e CDA dos aminoácidos acima 86% para maioria dos peixes carnívoros marinho. Não apresenta restrições antinutricionais e é uma fonte valiosa de metionina, mas deficiente em lisina e triptofano. Contém níveis elevados de xantofilas (175-290 mg.kg⁻¹), o que vai resultar em excessiva pigmentação amarelada na carne dos peixes (HERTRAMPF e PIEDADE PASCUAL, 2000; NRC, 2011).

Vários estudos têm demonstrado as propriedades nutricionais do FGM na alimentação de peixe carnívoros marinhos utilizado para substituir a FP em dietas para “turbot” (*Scophthalmus maximus*) (SEVGILI et al., 2015); “gilthead sea bream” (PEREIRA e OLIVA-TELES, 2003; KISSIL e LUPATSCH, 2004), Salmão do Atlântico (MUNDHEIM et al., 2004), “turbot” *Psetta maxima* (FOURNIER et al., 2004), “European sea bass” (KAUSHIK et al., 2004), juvenis de “yellowtail” (WATANABE et al., 1998). Alta digestibilidade da proteína (acima de 90%) foram

relatadas para o bacalhau do Atlântico (*Gadus morhua*) (TIBBETTS et al., 2006), “rockfish” (*Sebastes schlegelii*) (LEE, 2002), robalo asiático (GLENCROSS et al., 2011), “meagre” (OLIM, 2012) e juvenis de beijupirá (ZHOU et al., 2004).

Farelo de trigo (IFN 4-05-190)

O trigo é uma das culturas mais importantes de alimentos para consumo humano (HERTRAMPF e PIEDADE-PASCUAL, 2000). De acordo com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), a produção mundial de trigo foi estimada em 725 milhões de toneladas em 2015. Enquanto que, neste mesmo período, estima-se no Brasil uma produção de 6 milhões de toneladas. Cerca de 17-20% da produção global de trigo é utilizado para alimentar mamíferos e aves de corte (FAO, 2009).

O grão de trigo compreende 84% de endosperma (farinha), 14,5% de farelo, 1,5% de gérmen e cerca de 7,0 a 14,0% de glúten. O trigo é geralmente moído, sendo que, a farinha e os subprodutos incluem farelo de trigo, “pollard” de trigo, gérmen de trigo e glúten de trigo. O farelo de trigo (FT) é a camada fibrosa sob a casca que contém um teor de proteína bruta de aproximadamente 16% (lisina, treonina e valina são os aminoácidos limitantes), 4,7% de lipídeo bruto e 61,8% de carboidratos, possui todos os minerais a maioria das vitaminas, exceto A, D, B12 e K, e não contém gérmen de trigo (HERTRAMPF e PIEDADE-PASCUAL, 2000; NRC, 2011).

Poucos relatos estão disponíveis sobre o FT na alimentação dos peixes, principalmente os carnívoros marinhos – robalo asiático (McMENIMAN, 1998), *Sciaenops ocellatus* (McGOOGAN e REIGH, 1996), “striped bass” híbridos (SULLIVAN e REIGH, 1995). O uso do trigo e seus produtos em dietas de animais aquáticos é limitado, especialmente no uso do FT e “pollard” de trigo, devido ao alto teor de fibra bruta de 12,3 e 7,8%, respectivamente (HERTRAMPF e PIEDADE-PASCUAL, 2000).

Farinha de milho (IFN 4-02-935)

O milho, *Zea mays*, é o cereal mais produzido no mundo com uma produção estimada para 2015 de 989 milhões de toneladas, sendo o Brasil o terceiro maior produtor com 79 milhões de toneladas (USDA, 2015). O milho processado tem grande importância para alimentação humana, alimentação animal e produtos industriais.

O grão de milho é uma complexa mistura de amido, proteína, óleo, água, fibras, vitaminas e pigmentos. A indústria de milho explora todo o potencial desse grão, que geram vários subprodutos. Farinha de milho (FM) é obtida durante a moagem a seco dos grãos, no qual no processo de separação física do milho o gérmen, cápsula protetora de fecho e o pericarpo são separados a partir do endosperma, que é normalmente destinado à alimentação animal. O FM contém cerca de 10% de proteína bruta, 4,8% de lipídeo bruto, 2,8% de fibra bruta e 80,6% de carboidratos. No entanto, é uma fonte pobre de lisina, metionina e triptofano, não sendo recomendadas taxas de inclusão superiores a 20% para peixes carnívoros (HERTRAMPF e PIEDADE PASCUAL, 2000).

2.4 – Enzimas

Segundo Talens-Perales et al. (2016), as enzimas são proteínas que atuam como facilitadores ou catalisadores de reações bioquímicas associadas a função dos organismos vivos. Funcionam como máquinas moleculares altamente especializadas capazes de quebrar ou transformar moléculas nas reações químicas dos organismos, diminuindo o nível de energia de ativação (Harvey et al., 2009). A eficiência das enzimas em catalisar reações é tal que a velocidade de uma reação pode ser aumentada em até 1.020 vezes (CAMPBELL e FARRELL, 2007). Na ausência da catálise, a maioria das reações nos sistemas biológicos ocorreria de forma tão lenta que a formação de seus produtos não atenderia, em tempo hábil, às exigências ou necessidades de um determinado organismo (BERG et al., 2004). Embora as enzimas tenham

sido utilizadas pelos seres humanos desde os tempos pré-históricos, foi no final do século XIX e na primeira metade do século XX que a natureza química das enzimas e seu mecanismo de função foi elucidado. Além de sua função básica de sustentar a vida, as enzimas tornaram-se ferramentas insubstituíveis em muitas indústrias e atividades da vida diária (CASTILLO-YANES et al., 2005).

As enzimas não reagem quimicamente com as substâncias sobre as quais atuam, nem alteram o equilíbrio das reações, elas agem em sequências organizadas e catalisam centenas de reações sucessivas, pelas quais as moléculas de nutrientes são degradadas. De uma maneira geral, uma enzima liga-se ao substrato formando um complexo enzima-substrato (ES), de caráter transitório. Provavelmente, apenas uma fração da molécula denominada sítio ativo é a responsável pela ligação da enzima ao substrato, e essa fração determina a especificidade enzimática (NELSON e COX, 2004; BERG et al., 2004). A partir da formação do complexo ES existem então dois caminhos a serem seguidos: ou ocorre a dissociação em E e S ou a formação do produto (P) e a liberação da enzima (MURRAY et al., 2002) (Figura 3).

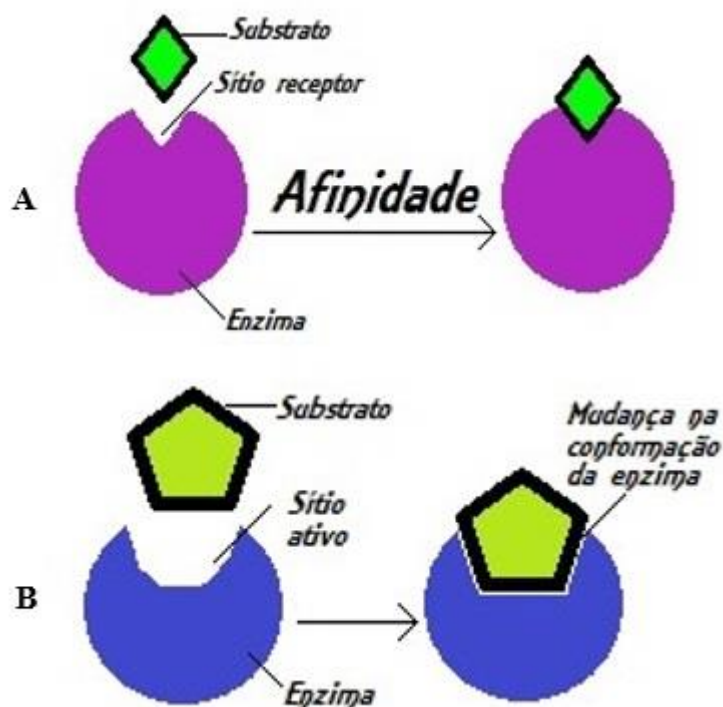


Figura 3 – Devido a ampla discussão na área acadêmica sobre o mecanismo, nessa figura são observados os dois modelos: “chave-fechadura” (A), proposto por Emil Fischer em 1894, no qual uma enzima e seu substrato são complementares. O substrato se encaixa perfeitamente em uma única enzima – não são flexíveis e, por isso, as reações enzimáticas apresentam alta especificidade. Porém, estudos comprovam que enzimas apresentam certa flexibilidade, o que viabiliza uma variedade conformacional. Diante dessas descobertas, foi proposta a teoria do “encaixe induzido” (B) por Koshland et al. (1958). De acordo com essa teoria, o substrato é capaz de induzir uma mudança na conformação de uma enzima. Essa modificação pode ser passada para as enzimas próximas, garantindo assim que estas desempenhem seu papel catalítico. Fonte: BERG et al. (2004) e SANTOS (2016).

Tabela 3 – Classificação das diferentes classes de enzimas segundo a União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular.

CLASSE	REAÇÕES QUE CATALISAM
1. Oxidorredutases	Reações de oxidação-redução, ou seja, transferências de elétrons (íons hidretos ou átomos de H).
2. Transferases	Reações de transferências de grupos contendo C, N ou P.
3. Hidrolases	Reações de hidrolise, ou seja, clivagem das reações adicionando água.
4. Liases	Clivagem de C-C, C-S e certas ligações de C-N, ou seja, adição de grupos as duplas ligações ou formação de duplas ligações por meio de remoção de grupos.
5. Isomerasas	Transferência de grupos dentro da mesma molécula para formar isômeros.
6. Ligases	Formação de pontes entre C, O, S e N acoplados a hidrólise de fosfatos de alta energia.

C, carbono; N, nitrogênio; P-, íon fosfato; S, enxofre; O, oxigênio. Fonte: NELSON e COX, 2004.

2.4.1 – Enzimas digestivas

O valor nutricional de uma dieta não se baseia simplesmente na sua composição química, mas também na capacidade fisiológica do peixe em digerir e absorver, de acordo com seus hábitos alimentares (SALDAÑA e LOPEZ, 1988). Durante a digestão as proteínas, carboidratos e lipídios são degradados em compostos mais simples para então serem absorvidas e utilizadas pelo corpo. Esta degradação é executada no trato digestório com o auxílio de enzimas (NIELSEN-SCHIMIDT, 1996). Segundo Silva et al. (2014), o estudo do metabolismo das enzimas é necessário para a escolha de ingredientes a ser introduzido nas dietas de organismos aquáticos, favorecendo o desenvolvimento de uma nutrição adequada.

Após os processos mecânicos e químicos ocorridos na boca e estômago, a ração ingerida pelo peixe, i.e., o alimento na forma de quimo, recebe a ação das enzimas digestivas principalmente no intestino (BALDISSEROTTO, 2013). Estas transformarão os nutrientes em moléculas, que estarão disponíveis para serem absorvidas pelas paredes em forma de microvilosidades no intestino, ou seja, em pequenos peptídeos, aminoácidos, monossacarídeos e ácidos graxos (BAKKE et al., 2011).

No caso das proteínas, elas são hidrolisadas enzimaticamente pelas proteases no trato digestório dos peixes, liberando aminoácidos que são distribuídos através da corrente sanguínea para os órgãos e tecidos, onde são utilizados continuamente no processo de síntese e degradação protéica durante os processos de crescimento, reprodução ou como fonte de energia (WATANABE, 1998). As proteases tem atuação em diversos pH's, sendo as alcalinas mais importantes que as ácidas, representando cerca de 5% da massa total do corpo (SIMPSON, 2000). Além disso, constituem um dos grupos mais importantes de enzimas industriais, sendo responsáveis por pelo menos 60% de todas as vendas globais de enzimas (GUPTA et al., 2002).

A IUBMB recomenda o termo "peptidase" como sinônimo de "protease", que é designado para qualquer enzima que hidrolise ligações peptídicas. Estas proteases estão inseridas no subgrupo 4 do grupo 3 (Hidrolases), pois por uma reação de hidrólise, elas clivam a proteína adicionando uma molécula de água à ligação peptídica (BERG et al., 2004) (Figura 4).

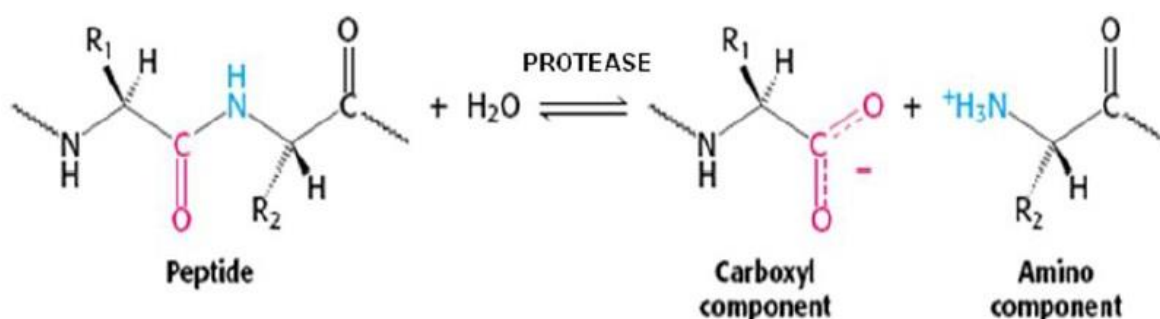


Figura 4 – Hidrólise enzimática de uma proteína hipotética (BERG et al., 2004).

Dentre as proteases alcalinas de maior importância encontram-se a tripsina, a quimotripsina e as aminopeptidases. A tripsina e a quimotripsina são endoproteases, ou seja, clivam as ligações peptídicas dentro da proteína, enquanto que as aminopeptidases são exoproteases (Figura 5), isto é, clivam resíduos de aminoácidos na posição N-terminal da proteína (GONZALES e ROBERT-BAUDOY, 1996). A Tabela 4 baseada em Rao et al. (1998) demonstra a classificação e divisão das proteases.

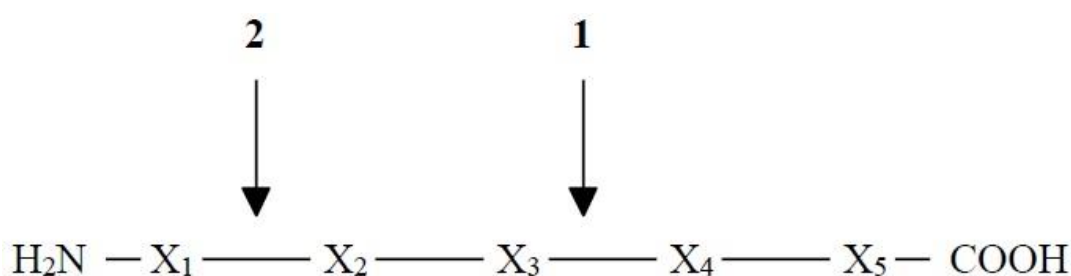


Figura 5 – Classificação das proteases: Endoproteases clivam ligações peptídicas dentro da proteína (1). Exoproteases, mais especificamente as aminopeptidases, clivam resíduos localizados na posição N-terminal da proteína (2). Figura modificada de Gonzales e Robert-Baudouy (1996).

Tabela 4 – Classificação e divisão das proteases.

Local de clivagem do substrato	Sítio ativo da enzima	Número de resíduos de AA's removidos
Exopeptidases	Aminopeptidases	Aminopeptidases
		Aminodipeptidases
		Aminotripeptidases
	Carboxipeptidases	Sítio ativo da carboxipeptidase
		Serincarboxipeptidase
		Metalocarboxipeptidase Cisteínicarboxipeptidase
Endopeptidases	Serinoproteases	
	Aspartatoproteases	
	Cisteinoproteases	
	Metaloproteases	

Fonte: RAO et al. (1998).

A quimotripsina, endopepdase solúvel em água, catalisa a hidrólise de ligações peptídicas de proteínas na porção carboxila de aminoácidos aromáticos, como: fenilalanina, tirosina e triptofano (Figura 7) e também substratos sintéticos, tais como SApNA (N-succinil-Ala-Ala-Pro-Phe-p-nitroanilida) (ABUIN et al., 2004; CASTILLO-YAÑEZ et al., 2006).

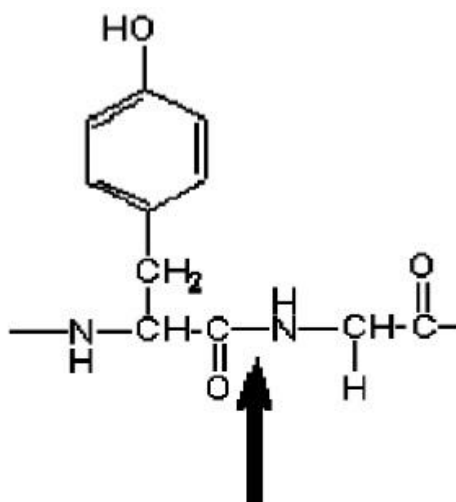


Figura 7 – Sítio de hidrólise específica para quimotripsina.

As principais enzimas responsáveis pela liberação dos aminoácidos livres são as aminopeptidases. São enzimas inespecíficas que liberam pequenos peptídeos através da hidrólise das ligações peptídicas na posição N-terminal de proteínas (GONZALES e ROBERT-BAUDOUY, 1996). As aminopeptidases vêm sendo amplamente investigadas por estudos bioquímicos e a viabilidade potencial de sua dosagem e constitui-se em uma medida diagnóstica ou preventiva em algumas patologias relacionadas com seu papel fisiológico. Essas enzimas atuam também catalisando a hidrólise de substrato artificiais tais como aminoacil- β -naftilamida (AA-NA) e aminoacil-p-nitroanilida (AA-Nan). Elas estão amplamente distribuídas na natureza e apresentam importância biológica e médicas por causa da sua função na degradação de proteínas (OLIVEIRA et al., 1999).

Os polissacarídeos de reserva mais importantes são o amido, nos vegetais, e o glicogênio, nos animais, ambos com alto peso molecular. São polímeros de glicose em ligações $\alpha(1-4)$ nas cadeias principais e ligações $\alpha(1-6)$ nos pontos de ramificação, sendo o glicogênio mais

compacto por apresentar mais ramificações em sua molécula (KAUSHIL, 1999). Dentre as carboidrases estudadas em organismos aquáticos, as amilases merecem atenção especial, já que são responsáveis pela degradação do amido e glicogênio. O amido, atuam liberando diversos produtos, incluindo dextrinas, maltose e glicose. Elas podem ser divididas em dois grupos: as endoamilases e exoamilases. As endoamilases atuam de forma aleatória no interior da molécula do amido, causando a formação de ramos lineares de oligossacarídeos de cadeias de vários comprimentos e dessa forma quebram as ligações glicosídicas $\alpha(1\rightarrow4)$ presentes nas cadeias de amilose ou amilopectina (GUPTA, 2003). Diferentemente das β -amilases (exoamilases), que são encontradas em vegetais superiores e em algumas bactérias gram-positivas (PUJADAS et al., 1996) as α -amilases podem ser encontradas em animais, plantas, fungos e bactérias.

A pepsina é, sem dúvida, a principal protease ácida dos peixes, produzida na forma inativa de pepsinogênio (FÄNGE e GROVE, 1979). A enzima é ativada inicialmente em condições ácidas, através da remoção de um peptídeo de baixo peso molecular pelo ácido clorídrico e continua o processo de transformação por autocatálise. O ácido clorídrico estimula ainda a liberação do hormônio secretina, responsável pela descarga do suco pancreático rico em íons bicarbonato que irão auxiliar na neutralização do pH no intestino (ROTTA, 2003).

A informação bioquímica sobre o arsenal enzimático de um organismo pode ser útil na seleção de ingredientes a serem usados, uma vez que seu perfil enzimático tem estreita relação com hábitos alimentares e com a dieta a que estão submetidos (MOYANO et al., 2001), permitindo o uso racional da quantidade de nutrientes utilizados nas dietas, contribuindo para formulação de rações mais eficientes, reduzindo os custos nas produções (CARUSO et al., 1996). Além disto, podem-se diminuir os resíduos depositados no ambiente, tornando a aquicultura uma atividade sustentável e ecologicamente viável (BEZERRA et al., 2001; MOREIRA et al., 2002; ESPÓSITO et al., 2009; MARCUSCHI et al., 2010; SILVA et al., 2011).

3- Referências bibliográficas

AKSNES, A., HJERTNES, T. & OPSTVEDT, J. Comparison of two assay methods for determination of nutrient and energy digestibility in fish. **Aquaculture**, vol. 140, p. 343–359, 1996.

ALLAN, G.L., ROWLAND, S.J., PARKINSON, S., STONE, D.A.J. & JANTRAROTAI, W. Nutrient digestibility for silver perch *Bidyanus bidyanus*: development of methods. **Aquaculture**, vol. 170, p. 131–145, 1999.

ALVAREZ-LAJONCHÈRE, L. Cultivo de robalos: potencialidades e resultados. **Panorama da Aquicultura** 14, p. 15-21, 2004.

ALVAREZ-LAJONCHÈRE, L., TSUZUKI, M.Y. A review of methods for *Centropomus spp.* (snooks) aquaculture and recommendations for the establishment of their culture in Latin America. **Aquaculture Research**, 39, 684-700, 2008.

ABUIN, E., LISSI, E., DUARTE, R. Distinct effect of a cationic surfactant on transient and steady state phases of 2-naphthyl acetate hydrolysis catalyzed by α -chymotrypsin. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic [S.I.]**, v. 31, p. 83-85, 2004.

AUSTRENG, E., STOREBAKKEN, T., THOMASSEN, M.S., REFSTIE, S. & THOMASSEN, Y. Evaluation of selected trivalent metal oxides as inert markers used to estimate apparent digestibility in salmonids. **Aquaculture**, 188, 65–78, 2000.

BARÓN-AGUILAR, C.C., RHODY, N.R., BRENNAN, N.P., MAIN, K.L., PEEBLES, E.B. & MULLER-KARGER, F.E. Influence of temperature on yolk resorption in common snook *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792) larvae. **Aquaculture Research**, vol. 46, p. 1679–1687, 2013.

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. 3.ed. Santa Maria: UFSM, 352 p., 2013.

BAKKE, A. M.; GLOVER, C.; KRODGADAHN, A. Feeding, digestion and absorption of nutrients. In: GROSELL, M.; FARREL, A. P.; BRAUNER, C. J. (Ed.). **The multifunctional gut of fish**. London: Academic Press, p. 57-111, 2011.

BERG, J. M.; STRYER, L.; TYMOCZKO, J. L. **Bioquímica**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1104 p. 2004.

BERGE, G.M.; GRISDALE-HELLAND, B.; HELLAND, S.J. Soy protein concentrate in diets for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). **Aquaculture**, v. 178, p. 139–148, 1999.

BEZERRA, R.S., SANTOS, J.F., PAIVA, P.M.G., CORREIA, M.T.S., COELHO, L.C.B.B., VIEIRA, V.L.A., CARVALHO, L.B. Jr. Partial purification and characterization of a thermostable trypsin from pyloric caeca of tambaqui (*Colossoma macropomum*). **J Food Biochem**, 25, 199–210, 2001.

BISWAS, A.K.; KAKU, H.; JI, S.C.; SEOKA, M.; TAKII, K. Use of soybean meal and phytase for partial replacement of fish meal in the diet of red sea bream, *Pagrus major*. **Aquaculture**, 267, p. 284–291, 2007.

BLYTH, D., S., TABRETT, N. BOURNE, B. GLENCROSS. Comparison of faecal collection methods, and diet acclimation times for the measurement of digestibility coefficients in barramundi (*Lates calcarifer*). **Aquaculture Nutrition** 21, 248-255, 2015.

BORQUEZ-RAMIREZ, A. S. Comportamento alimentar do juvenil do rabalo *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792) (Pisces, centropomidae) face an atrativos químicos e extratos aquosos animais. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) Universidade Federal de Santa Catarina, 99p., 1991.

BOWZER, J.; TRUSHENSKI, J.; RAWLES, S.; GAYLORD, T. G.; BARROWS, F. T. Apparent digestibility of Asian carp-and common carp-derived fish meals in feeds for hybrid striped bass *Morone saxatilis* x *M. chrysops* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture Nutrition**, v. 21, p. 43-53, 2015.

BOONYARATPALIN, M., SURANEIRANAT, P., TUNPIBAL, T. Replacement of fish meal with various types of soybean products in diets for the Asian seabass, *Lates calcarifer*. **Aquaculture**, v. 161, p. 67–78, 1998.

BOOTH, M.A.; ALLAN, G.L.; SMULLEN, R.P. Digestibility of common feed ingredients by juvenile mullet *Argyrosomus japonicus*. **Aquaculture**, p. 140–148, 2013.

BUENO, G. W.; MATOS, F. T.; CANZI, C.; OSTRENSKY, A.; SAMPAIO, M. B.; BARONE, R. S, C.; ROUBACH, R. A Capacidade de Suporte: Produção de peixes cultivados em reservatórios: Bases Conceituais (Parte I). **Revista Panorama da Aquicultura**, v. 126, 2011.

BUREAU, D.P., HUA, K. Letter to the Editor of Aquaculture. **Aquaculture**, vol. 252, p. 103-105, 2006.

BURR, G.S., BARROWS, F.T., GAYLORD, G., WOLTERS, W.R. Apparent digestibility of macronutrients and phosphorus in plant-derived ingredients for Atlantic salmon, *Salmo salar* and Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. **Aquaculture Nutrition**, vol. 17, p. 570–577, 2011.

CAMPBELL, M. K.; FARRELL, S. O. **Bioquímica Básica**. São Paulo: Thomson Learning, 2007.

CARVALHO, C.V.A.; PASSINI, G.; COSTA, W.M.; VIEIRA, B.N.; CERQUEIRA, V.R. Effect of 17 β -estradiol on the sex ratio, growth and survival of juvenile common snook (*Centropomus undecimalis*). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, vol. 36, n. 3, p. 239-245, 2014.

CARVALHO, R. A. P. L. F. Desenvolvimento de um sistema de recirculação para estudos sobre digestibilidade em condições de alto desempenho para camarões marinho: avaliação de ingredientes protéicos alternativos à farinha de peixe em diferentes níveis de inclusão em dietas para juvenis de *Litopenaeus vannamei*. Tese de doutorado apresentada ao **Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo**. São Paulo, SP, 2011.

CARTER, C.G.; HAULER, R.C. Fish meal replacement by plant meals in extruded feeds for Atlantic salmon, *Salmo salar* L. **Aquaculture**, v. 185, p. 299–311, 2000.

CARUSO, G.; GENOVESE, L.; GRECO, S. Preliminary investigation on the digestive enzyme of reared *Pagellus acarne* (Riso, 1826) juveniles in relation to two different diets. **Oebalia**, v. 22, pp. 3-13, 1996.

CASTILLO, S.; GATLIN, D. M. Dietary supplementation of exogenous carbohydrase enzymes in fish nutrition: A review. **Aquaculture**, vol. 435, p. 286–292, 2015.

CASTILLO-YAÑEZ, F. J. PACHECO-AGUILAR, RAMÓN; GARCÍA-CARREÑO, F. L.; MARÍA DE LOS DEL TORO, A. N.; LÓPEZ, M. F. Purificación and biochemical characterization of chymotrypsin from the viscera of Monterey sardine (*Sardinops sagax caeruleus*). **Food Chemistry [S.I.]**, vol., 99, p. 252-259, 2006.

CEAGESP – Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo Website, disponível em: <http://www.ceagesp.gov.br/entrepostos/servicos/cotacoes/#cotacao>. Acessado em 05 de novembro de 2015.

CELL AQUACULTURE. Australian fry shipped to Netherlands. **Fish Farming International**. 33, 27, 2006.

CHISTY, M.A.H., HASHIM, R., SHU-CHIEN, A. C. Identification and partial characterization of selected proteolytic enzymes in the digestive system of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) postlarvae. **Aquaculture Research** (S.I.), v. 40, n. 5, p. 519-525, 2008.

CHO, C.Y., SLINGER, S.J. & BAYLEY, H.S. Bioenergetics of Salmonid fishes: Energy intake, expenditure and productivity. **Comp. Biochem. Physiol**, vol. 73B, p. 25–41, 1982.

CHO, C.Y. & SLINGER, S.J. Apparent digestibility measurement in feedstuff for rainbow trout. In: **Finfish Nutrition and Fishfood Technology**. (Halver, J.E. & Tiews, K. eds), vol. 2, p. 239–247, Berlin, 1979.

CHO, S.H.; LEE, S.M.; LEE, J.H. Effect of dietary protein and lipid levels on growth and body composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L) reared under optimum salinity and temperature conditions. **Aquaculture Nutrition**, v.11, p. 235-240, 2005.

CHO, C.Y. AND BUREAU, D.P. A review of diet formulation strategies and feeding systems to reduce excretory and feed wastes in aquaculture. **Aquaculture Research**, vol. 32, p. 349 - 360, 2001.

CHOU, R.L., HER, B.Y., SU, M.S., HWANG, G., WU, Y.H., CHEN, H.Y. Substituting fish meal with soybean meal in diets of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, v. 229, p. 325-333, 2004.

CHOU, R.L.; SU, M.S.; CHEN, H.Y. Optimal dietary protein and lipid levels for juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, v. 193, p. 81-89, 2001.

CHOUBERT, G., DE LA NOUE, J. & LUQUET, P. Digestibility in fish: improved device for the automatic collection of feces. **Aquaculture**, vol. 29, p. 185–189, 1982.

CHU, Z. J.; YU, D. H.; YUAN, Y. C.; QIAO, Y.; CAI, W. J.; SHU, H.; LIN, Y. C. Apparent digestibility coefficients of selected protein feed ingredients for loach *Misgurnus anguillicaudatus*. **Aquaculture Nutrition** 21, 425-432, 2015.

CRAIG, S.R.; SCHWARZ, M. H.; McLEAN, E. Juvenile cobia (*Rachycentron canadum*) can utilize a wide range of protein and lipid levels without impacts on production characteristics. **Aquaculture**. v. 261, p. 384-391, 2006.

CUZON, G.; J. FUCHS. Preliminary nutritional studies of seabass *Lates calcarifer* (Bloch) protein and lipid requirements. In: Program and Abstracts, **19th Annual Conference and Exposition World Aquaculture Society**, Hawaii, p. 15–16, 1988.

DAVIES, S. J., GOUVEIA, A., LAPORTE, J., WOODGATE, S. L., NATES, S. Nutrient digestibility profile of premium (category III grade) animal protein by-products for temperate marine fish species (European sea bass, gilthead sea bream and turbot). **Aquaculture Research**, vol. 40, p. 1759-1769, 2009.

DENG, J.; MAI, K.; QINGHUI, A.; ZHANG, W.; TAN, B.; XU, W.; LIUFU, Z. Alternative protein sources in diets for Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* (Temminck and Schlegel): II. Effects on nutrient digestibility and digestive enzyme activity. **Aquaculture Research** vol. 41, p. 861–870, 2011.

ERGUN, S.; YIGIT, M.; TURKER, A.; HARMANTEPE, B. Partial replacement of fishmeal by defatted soybean meal in diets for Black Sea turbot (*Psetta maeotica*): Growth and nutrient utilization in winter. **Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh**, 60(3): 177–184, 2008.

ESPÓSITO, T. S.; AMARAL, I. P.G.; BUARQUE, D. S.; OLIVEIRA, G. B.; CARVALHO Jr, L.B.; BEZERRA, R. S. Fish processing waste as a source of alkaline proteases for laundry detergent. **Food Chemistry**, 112, 125–130, 2009.

FÄNGE, R.; GROVE, D. Digestion. In: HOAR, W. S. et al (Ed.) *Fish Physiology*. San Diego: **Academic Press Inc**, cap. 4, p. 162-260, 1979.

FARIA, A.C.E.A.; HAYASHI, C.; GALDIOLI, E.M.; SOARES, C.M., 2001. Farinha de peixe em rações para alevinos de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L.), linhagem tailandesa. **Acta Scientiarum** 23 (4), 903-908.

FIESP - Federação das Indústrias de São Paulo. Safra Mundial da Soja. Boletim estatístico. Disponível em: http://az545403.vo.msecnd.net/uploads/2016/01/boletim_soja_janeiro2016.pdf. Acessado em 04 de janeiro de 2016.

FINES, B. C.; HOLT, G. J. Chitinase and apparent digestibility of chitin in the digestive tract of juvenile cavia, *Rachycentron canadum*. **Aquaculture**, v. 303, p. 34-39, 2010.

FOX, C. J.; BLOW, P.; BROWN, J. H.; WATSON, I. The effect of various processing methods on the physical and biochemical properties of shrimp head meals and their utilization by juvenile *Penaeus monodon* Fab. **Aquaculture**, 122, p. 209-226, 1994.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO).

Commodity prices. Website, disponível em: <http://www.fao.org/economic/est/prices>. Acessado 05 de março de 2014.

FOOD AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). Wheat

Flour, **Agribusiness Handbook - FAO**, Rome, Italy, p .7-15, 2009.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO),

2012. Website <http://www.fao.org/docrep/016/i2727e/i2727e00.htm> Acessado em 01 de dezembro de 2015.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO).

Global Production Statistics 1950-2013. Website: <http://www.fao.org/figis/servlet/TabSelector>. Acessado em 21 de outubro de 2015.

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

FOURNIER, V.; HUELVAN, C.; DESBRUYERES, E. Incorporation of a mixture of plant feedstuffs as substitute for fish meal in diets of juvenile turbot (*Psetta maxima*). **Aquaculture**, vol. 236, p. 451-465, 2004.

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

GARCIA GASCA, A.; GALAVIZ, M.; GUTIERREZ, J.; GARCIAORTEGA, A. Development of the digestive tract, trypsin activity and gene expression in eggs and larvae of the bullseye puffer fish *Sphoeroides annulatus*. **Aquaculture**, vol. 251, p. 366–376, 2006.

GLENCROSS, B. D., BLYTH, D., IRVIN, S., BOURNE, N., WADE, N. An analysis of the effects of different dietary macronutrient energy sources on the growth and energy partitioning by juvenile barramundi, *Lates calcarifer*, reveal a preference for protein-derived energy. **Aquaculture Nutrition**, vol. 20, p. 583–594, 2014.

GLENCROSS, B.D., WADE, N., MORTON, K. *Lates calcarifer* Nutrition and Feeding Practices. In: **Biologia and culture of Asina Seabass *Lates calcarifer***. Editor Dean R. Jerry. 318, 2014.

GLENCROSS, B.D., D. BLYTH, S.J. TABRETT, N. BOURNE, S. IRVIN, T. FOX-SMITH AND R.P. SMULLEN. An assessment of cereal grains and other starch sources in diets for barramundi (*Lates calcarifer*) – implications for nutritional and functional qualities of extruded feeds. **Aquaculture Nutrition**, vol. 18, p. 388–399, 2012.

GLENCROSS, B. D., RUTHERFORD, N. R. HAWKINS, W. E. A comparison of the growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) when fed soybean, narrow-leaf or yellow lupin kernel meals in extruded diets. **Aquaculture Nutrition**, vol. 17, p. 317–325, 2011.

GLENCROSS, B.D., BOOTH, M., ALLAN, G.L. A feed is only as good as its ingredients - A review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds. **Aquaculture Nutrition**, 13, 17–34, 2007.

GLENCROSS, B.D. Nutritional management of barramundi, *Lates calcarifer* – A review. **Aquaculture Nutrition**, 12, 291–309, 2006.

GISBERT, E., GIMENEZ, G., FERNANDEZ, I., KOTZAMANIS, Y., ESTEVEZ, A. Development of digestive enzymes in common dentex *Dentex dentex* during early ontogeny. **Aquaculture**, vol. 287, p. 381–387, 2009.

GIRI, S.S., SAHOO, S.K., LENKA, S., RANGACHARYULU, P.V., PUL, B.N., SAHU, A.K., MOHANTY, S.N., MUKHOPADHYAY, P.K. Effects of partial replacement of dietary fish-meal by meat-meal, goat liver and shrimp-meal on growth and survival of *Clarias batrachus* (Linn.). **Indian Journal of Animal Sciences**, vol. 75, n. 8, p. 977–981, 2005.

GÖHL, B. Tropical Feeds. Feeds information summaries and nutritive values. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), **Animal Production and Health Div.** (12), 665 p, Rome, 1981.

GOMINHO-ROSA, M. C.; RODRIGUES, A. P. O.; MATTIONI, B.; FRANCISCO, A.; MORAES, G.; FRACALOSSO, D. M. 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**, Amsterdam v. 435, n. 1, p. 92-99, 2015.

GONZALES, T. & ROBERT-BADOUY, J. Bacterial aminopeptidases: Properties and functions. **Microbiology Reviews**, 18, p. 319-344, 1996.

GUMARAES, I.G., PEZZATO, L.E. BARROS, M.M Amino acid availability and protein digestibility of several protein sources for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, **Aquaculture Nutrition**, vol. 14, p. 396-404, 2008.

GUPTA, R.; BEG, Q.K.; LARENZ, P. Bacterial alkaline proteases: molecular approaches and industrial applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 59, p. 15 32, 2002.

HARVEY, R. A., CHAMPE, P. C., FERRIER, D. R. **Bioquímica Ilustrada**. 4a. ed.: Artmed, 2009.

HERNÁNDEZ, C.; SANCHEZ-GUTIERRE, Y.; HARY, R. W.; BENITEZ-HERNÁNDEZ, A.; DOMÍNGUEZ-JIMENEZ, P.; GONZÁLEZ-RODRÍGUES, B.; OSUNA-OSUNA, L; TORTOLEDO, O. The potencial of pet-grade poultry by-product meal to replace fish meal in the diet the juvenile spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). **Aquaculture Nutrition**, v. 20, p. 623-631, 2014.

HERTRAMPF, J.W. AND PIEDAD-PASCUAL, F. Handbook on Ingredients for Aquaculture Feeds, **Kluwer Academic Publishers**, Dordrecht-Boston-London, 2000.

HEU, M.S.; KIM, J.S.; SHAHIDI, F. Components and nutritional quality of. Shrimp processing byproducts. **Food Chemistry**, v. 82, pp. 235-242, 2003.

HIGGS, D. A.; MARKET, J. R.; MACQUARRIE, D. W.; McBRIDE, J. R.; DOJANJH, C.; HOSKINS, G. Development of partial diets for coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, using poultry by-product meal, feather meal, soybean and rape seed meal as major protein sources.

Proc. **World Symposium on Finfish Nutrition and Fishfeed Technology**, Hamburg, Germany, vol. II, 20-23 June, 1978, p. 191-216, 1979.

JOHNSTON, D.; FREEMAN, J. Dietary preference and digestive enzyme activities as indicators of trophic resource utilization by six species of crabs. **Biol. Bull. [S.I.]**, v. 208, p. 36-46, 2005.

KARALAZOS, V. Sustainable alternatives to fish meal and fish oil in fish nutrition: effects on growth, tissue fatty acid composition and lipid metabolism. Tese de Doutorado (Aquaculture). Institute of Aquaculture, **University of Stirling, Escócia**. 190 p., 2007.

KAUSHIK, S.J., COVES, D., DUTTO, G., BLANE, D. Almost total replacement of fish meal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax*. **Aquaculture**, vol. 230, p. 391-404, 2004.

KISSIL, G.W., LUPATSCH, I. Successful replacement of fishmeal by plant proteins in diets for the gilthead seabream, *Sparus aurata* L. **The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh**, 56, 188-199, 2004.

KOMKLAO, S., BENJAKUL, S., VISESSANGUAN, W., KISHIMURA, H., SIMPSON, B. K. Purification and characterization of trypsins from the spleen of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). **Food Chemistry**, 100, p. 1580-1589, 2007.

KROGDAHL, A., PENN, M., THORSEN, J., REFSTIE, S. & BAKKE, A.M. Important antinutrients in plant feedstuffs for aquaculture: an update on recent findings regarding responses in salmonids. **Aquaculture Research**, vol. 41, p. 333-344, 2010.

KUZ'MINA, V.; GLATMAN, L.; DRABKIN, V.; GELMAN, A. Amynolytic activity in fish intestinal mucosa: temperature effects. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 134, p. 529-534, 2003.

LAZO, J.P., DAVIS, D.A. & ARNOLD, C.R. The effects of dietary protein level on growth, feed efficiency and survival of juvenile Florida pompano (*Trachinotus carolinus*). **Aquaculture**, vol. 169, p. 225-232, 1998.

LEE, S.M. Apparent digestibility coefficients of various feed ingredients for juvenile and grower rockfish (*Sebastes schlegeli*). **Aquaculture**, vol. 207, p. 79–95, 2002.

LEE, P.G., LAWRENCE, A.L. Digestibility. In: Crustacean Nutrition, advances in World Aquaculture (D'Abramo, L. R., Conklin, D.E. e Akiyama, D. M. eds), **World Aquaculture Society**, Baton Rouge, L.A. v. 6, p. 194-260, 1997.

LITI, D.M., WAIDBACHER, H., STRAIF, M., MBALUKA, R. K., MUNGUTI, J.M. & KYENZE, M.M. Effects of partial and complete replacement of freshwater shrimp meal (*Caridinea niloticus Roux*) with a mixture of plant protein sources on growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) in fertilized ponds. **Aquaculture Research**, vol. 37, n. 5, p. 477–483, 2006.

LU, F.; HAGA, Y.; SATOH, S. Effects of replacing fish meal with rendered animal protein and plant protein sources on growth response, biological indices, and amino acid availability for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Bull Jap. Soc. Sc. Fisheries**, vol. 81, p. 95–105, 2015.

MA, H.; CAHU, C.; ZAMBONINO, J.; YU, H.; DUAN, Q.; LE GALL, M.-M.; MAI, K. Activities of selected digestive enzymes during larval development of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). **Aquaculture**, vol. 245, p. 239–248, 2005.

MAIA, E. P. E-mail: enoxmaia@hotmail.com. **Comunicação Pessoal**. Aquarium-Aquicultura do Brasil Ltda., Mossoró-RN, 2015.

MARCUSCHI, M.; ESPOSITO, T. S.; MACHADO, M. F.M.; HIRATA, I.; MACHADO, M. F.M.; SILVA, M.V.; CARVALHO Jr, L. B.; OLIVEIRA, V.; BEZERRA, R. Purification, characterization and substrate specificity of a trypsin from the Amazonian fish tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 396, 667–673, 2010.

MANCHADO, M.; INFANTE, C.; ASENSIO, E.; CRESPO, A.; ZUASTI, E.; CAÑAVATE, J.P. Molecular characterization and gene expression of six trypsinogens in the flatfish Senegalese sole (*Solea senegalensis Kaup*) during larval development and in tissues. **Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.** vol. 149, p. 334–344, 2008.

MARTÍNEZ-LLORENS, S.; ESPERT, J.; MOYA, S.; CERDÁ M.J.; TOMÁS, A. Growth and nutrient efficiency of meagre (*Argyrosomus regius*, Asso 1801) fed extruded diets with different protein and lipid levels. **International Journal of Fisheries and Aquaculture**, vol.3 (10), p. 195-203, 2011.

MAYNARD, L.A. & LOOSLI, J.K. **Animal Nutrition**, 6th edn. McGraw-Hill Book Co, New York, NY, 1969.

MCGOOGAN, B.B. AND GATLIN, D.M., I. Effects of replacing fish meal with soybean meal in diets for red drum *Sciaenops ocellatus* and potential for palatability enhancement. **Journal of the World Aquaculture Society** vol. 28, p. 374–385, 1997.

McGOOGAN, B.B.; REIGH, R.C. Apparent digestibility of selected ingredients in red drum (*Sciaenops ocellatus*) diets. **Aquaculture**, v. 141, p. 233-244, 1996.

MELLO, G. L. Engorda do robalo-flecha, *Centropomus undecimalis*: Efeito da temperatura, da salinidade e da alimentação. Tese (Doutorado). **Universidade Federal de Santa Catarina**, Florianópolis, Brasil, 150 p., 2014.

MOREIRA, K. A.; ALBUQUERQUE, B. F.; TEIXEIRA, M. F. S.; PORTO, A. L. F.; LIMA FILHO, J. L. Application of protease from *Nocardiosis sp.* as a laundry detergent additive. **World Journal Microbiol Biotechnology**, v. 18, p. 307–312, 2002.

MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA (MPA). Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura 2012. Brasília-DF, 60 p.

MORAES, G.; ALMEIDA, L. C. Nutrição e aspectos funcionais da digestão de peixes. In: BALDISSEROTTO, B.; CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C. (Ed.). **Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce**. Jaboticabal: FUNEP, p. 233-252, 2014.

MUNDHEIM, H., AKSNES, A., HOPE, B. Growth, feed efficiency and digestibility in salmon (*Salmo salar* L.) fed different dietary proportions of vegetable protein sources in combination with two fish meal qualities. **Aquaculture**, vol. 237, p. 315-331, 2004.

SILVA JÚNIOR, R. F. Digestibilidade de ingredientes proteicos e energéticos para o robalo-flecha...

MURRAY, R. K.; Bender, D. A.; Botham, K. M.; Kennelly, P. J.; Rodwell, V. W.; Weil, P. A. **Harper: Bioquímica 9^a ed.** São Paulo: Editora Atheneu, 2002.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lenhinger: Princípios de Bioquímica.** 4 ed. São Paulo: Savier. 1119 p. 2004.

NEMATIPOUR, G.R.; BROWN, M.L.; GATLIN, D.M. Effects of dietary carbohydrate: lipid ratio on growth and body composition of hybrid striped bass. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.23, p. 128-132, 1992.

NENGAS, I. ALEXIS, M. N. & DAVIES, S. J. High inclusion levels of poultry meals and related by products in diets for gilthead seabream *Sparus aurata* L. **Aquaculture**, vol. 179, p. 13-23, 1999.

NEW, M. Feed and feeding of fish and shrimp – A manual on the preparation and presentation of compound feeds for shrimp and fish in aquaculture. **Aquaculture Development and Coordination Programme ADCP/REP/87/26.** United Nations Development Programme Food Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 1987.

NRC, 2011. **Nutrient Requirements of Fish and Shrimp.** Animal Nutrition Series. The National Academies Press, Washington, D.C.

OLIM, C.P.R. Apparent Digestibility Coefficient of Feed Ingredients for Juvenile Meagre (*Argyrosomus regius*, Asso 1801). (MSc Thesis) Faculdade de Ciências. **Universidade do Porto**, 79 p., 2012.

OLIVEIRA, S. M., FREITAS JR. J. O., ALVES, K. B. Rabbit kidney aminopeptidases: purification and some properties. **Immunopharmacology**, vol. 45, p. 215-221, 1999.

OVIEDO-PÉREZ, A., SÁNCHEZ-ZAMORA, A., OVIEDO-ACEVES, A., PINEDA-SANDOVAL, C. *Centropomus undecimalis* obtained in Lab: growth of juvenile in floating cages in Veracruz, México. **World Aquaculture 2013**, Nashville, Tennessee, 25th February 2013.

PASSINI, G.; CARVALHO, C.V.A.; STERZELECKI, F.C.; CERQUEIRA, V.R. Induction of sex inversion in common snook (*Centropomus undecimalis*) males, using 17 β -estradiol implants. **Aquaculture Research**, vol. 45, p. 1-10, 2014.

PELLETIER, N.; TYEDMERS, P. Feeding farmed salmon: is organic better? **Aquaculture**, v. 272, p. 399-416, 2007.

PEREIRA, T.G.; OLIVA-TELES, A. Evaluation of corn gluten meal as a protein source in diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) juveniles. **Aquaculture Research**, vol. 34, n. 13, p. 1111–1117, 2003.

PEREZ-CASANOVA, J.; MURRAY, H.; GALLANT, J.; ROSS, N.; DOUGLAS, S.; JOHNSON, S. Development of the digestive capacity in larvae of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) and Atlantic cod (*Gadus morhua*). **Aquaculture**, vol. 251, p. 377–401, 2006.

PETHIYAGODA, R., GILL, A. C. Taxonomy and distribution of Indo-Pacific Lates. In: **Biology and culture of Asian seabass *Lates calcarifer***. Editor Dean R. Jerry. 318., 2014.

PIROZZI, I., BOOTH, M.A., ALLAN, G.L. The interactive effects of dietary protein and energy on feed intake, growth and protein utilization of juvenile mullet (*Argyrosomus japonicus*). **Aquaculture Nutrition**, 16, 61-71, 2010.

PITZ, S. Especialista produz com sucesso alevinos de robalo-flecha. **Panorama da Aquicultura**, vol. 114, p. 58-59, 2009.

POPPI, D.A., QUINTON, V.M., HUA, K.; BUREAU, D.P. Development of a test diet for assessing the bioavailability of arginine in feather meal fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, vol. 314, p. 100–109, 2011.

PUJADAS, G.; RAMIREZ, F.M.; VALERO, R.; PALAU, J. Evolution of β -amylase: Patterns of variation and conservation in subfamily sequences in relation to parsimony mechanisms. **Proteins**, v.25, (4), pp. 456-472, 1996.

PSOCHIOU, E.; SARROPOULOU, E.; MAMURIS, Z.; MOUTOU, K. Sequence analysis and tissue expression pattern of *Sparus aurata* chymotrypsinogens and trypsinogen. **Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.** Vol 147, p. 367–377, 2007.

RANA, K.J., SIRIWARDENA, S., HASAN, M.R. Impact of rising feed ingredient prices on aquafeeds and aquaculture production. **FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper**, n. 541, Rome. URL: <http://www.fao.org/docrep/012/ill43e/ill43e00.htm>.

RAO, M.B.; TANKSALE, A.M.; GHATGE, M.S.; DESHPANDE, V.V., Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases - Reviews. **Microbiology and Molecular Biology**, v. 62, pp. 597-635, 1998.

RAUSCH, K. D.; C. I. THOMPSON, R. L. BELYA, T. E. CLEVINGER and M. E. TUMBLESON. Characterization of gluten processing streams. **Bioresource Technology**, vol. 89, p. 163-167, 2003.

RAWLES, S.D.; RICHE, M.; GAYLORD, T.G.; WEBB, J.; FREEMAN, D.W.; DAVIS, M. Evaluation of poultry by-product meal in commercial diets for hybrid striped bass (*Morone chrysops* ♀ × *M. saxatilis* ♂) in recirculated tank production. **Aquaculture**, vol. 259, p. 377–389, 2006.

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

REIGH, R.C.; ELLIS, S.C., 1992. Effects of dietary soybean and fish-protein ratios on growth and body-composition of red drum (*Sciaenops ocellatus*) fed isonitrogenous diets. **Aquaculture**, 104, 279-292.

RICHE, M. Nitrogen utilization from diets with refined and blended poultry by-products as partial fish meal replacements in diets for low-salinity cultured Florida pompano, *Trachinotus carolinus*, **Aquaculture**, vol. 435, p. 458–466, 2015.

SILVA JÚNIOR, R. F. Digestibilidade de ingredientes proteicos e energéticos para o robalo-flecha...

RINGO, E. Does chromic oxide (Cr₂O₃) affect faecal lipid and intestinal bacterial flora in Artic charr, *Salvelinus alpinus* (L.)? **Aquac. Fish. Manag.**, 24, 767–776, 1995.

ROBAINA, L.; CORRAZE, G.; AGUIRRE, P.; BLANC, D.; MELCION, J.P.; KAUSHIK, S. Digestibility, postprandial ammonia excretion and selected plasma metabolites in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed pelleted or extruded diets with or without wheat gluten. **Aquaculture**, 179, 45-56, 1999.

ROBINS, C.R.; RAY, G.C. **A field guide to Atlantic coast fishes of North America**. Houghton Mifflin Company, Boston, U.S.A. 354 p, 1986.

ROTTA, M. A. Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestório dos peixes relacionados à piscicultura. **1. ed. Corumbá: Embrapa Pantanal**, documentos 53, 2003.

RUAN, G.L.; LI, Y.; GAO, Z.X.; WANG, H.L.; WANG, W.M. Molecular characterization of trypsinogens and development of trypsinogen gene expression and tryptic activities in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) and topmouth culter (*Culter alburnus*). **Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.** vol. 155, p. 77–85, 2010.

RUST, M.B. **Nutritional physiology**. Fish Nutrition 3, p. 368–452, 2002.

SAADIAH, I.; ABOL-MUNAFI, A. M.; CHE-UTAMA, C. M. Replacement of fishmeal in cobia (*Rachycentron canadum*) diets using poultry by-product meal. **Aquaculture International** vol. 19, p. 637-648, 2011.

SALDAÑA, A. L.; LOPEZ, M. E. M. Formulación y evaluation de dietas para *Colossoma macropomum* en México. Anais IV Simpósio Latino Americano. **V Simpósio brasileiro de Aquicultura** – Florianópolis-SC. Brasil, p. 323-226, 1998.

SÁNCHEZ-ZAMORA A.; ROSAS VÁZQUEZ C.; DURUTY LAGUNES, C. V.; SUÁREZ BAUTISTA J. Reproducción em cautiverio de robalo, una necesidad inaplazable en el Sureste mexicano. **Panorama Acuicola Magazine**, v. 7, p. 24-25, 2002.

SANTOS, VANESSA SARDINHA DOS. "Teoria do encaixe induzido"; **Brasil Escola**. Disponível em <<http://brasilecola.uol.com.br/biologia/teoria-encaixe-induzido.htm>>. Acesso em 30 de março de 2016.

SARKER, M. S. A.; SATOH, S.; KAMATA, K.; HAGA, Y.; YAMAMOTO, Y. Partial replacement of fish meal with plant protein sources using organic acids to practical diets for juvenile yellowtail, *Seriola quinqueradiata*. **Aquaculture Nutrition**, vol. 18, p. 81-89, 2012.

SCHIPP G., BOSMANS J. & HUMPHREY J. Northern Territory Barramundi Farming Handbook. **Northern Territory Department of Primary Industry, Fisheries and Mines**. Technical Publication, 71p., 2007.

SCHIPP, G. Barramundi, *Lates calcarifer*, production in the Northern Territory, Australia. In: Conferencias de Peces Marinos, Mazatlán n18 de noviembre 2006, **Instituto Sinaloense de Acuicultura y Centro de Investigacion en Alimentacion y Desarrollo**, 2006.

SEVGILI, H.; KURTOGLU, A.; OIKAWA, M.; AKSOY, A.; KOCAKAYA, S.; OZTÜRK, E.; UYSAL, R.; GÜNDÜZ ORUÇ, H. A combination of corn gluten and soybean meal as a substitute for fishmeal in diets of turbot (*Scophthalmus maximus* Linnaeus, 1758) in brackish water. **Journal of Applied Ichthyology**, vol 31, 355–361, 2015.

SHAPAWIA, R., NGB, W.-K., MUSTAFAA, S. Replacement of fish meal with poultry by-product meal in diets formulated for the humpback grouper, *Cromileptes altivelis*. **Aquaculture**, vol. 273, p. 118–126, 2007.

SILVA, J.F.X.; Ribeiro, K.; SILVA, J. F.; CAHÚ, T.B.; BEZERRA, R. S. Utilization of tilapia processing waste for the production of fish protein hydrolysate. **Animal Feed Science and Technology (Print)**, v. 196, p. 96-106, 2014.

SILVA, T.S.C.; MORO, G.V. SILVA, T.B.A.; DAIRIKI, J.K.; CYRINO, J.E.P. Digestibility of feed ingredients for the striped surubim *Pseudoplatytoma reticulatum*. **Aquaculture Nutrition** 19, 491-498, 2013.

SILVA JÚNIOR, R. F. Digestibilidade de ingredientes proteicos e energéticos para o robalo-flecha...

SILVA, J. F.; ESPOSITO, T. S.; MARCUSCHI, M.; RIBEIRO, K.; CAVALLI, R. O.; OLIVEIRA, V.; BEZERRA, R. S. Purification and partial characterisation of a trypsin from the processing waste of the silver mojarra (*Diapterus rhombeus*). **Food Chemistry** 12, 777–782, 2011.

SILVA JÚNIOR, R. F.; Nova, Willy Vila; Farias, J. L.; COSTA-BONFIM, C. N.; TESSER, M. B.; Druzian, J. I.; CORREIA, E. S.; Cavalli, R. O. Substituição do óleo de peixe por óleo de soja em dietas para beijupirá (*Rachycentron canadum*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, p. 980-987, 2011.

SILVA, A. L. N.; PEREIRA, J. A. Controle do recrutamento de tilápia vermelha, híbrido de *Oreochromis spp.* por robalo-flecha *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792) em cultivo semi-intensivo. **Boletim do Instituto de Pesca**, Sao Paulo, vol. 24, p. 161-168, 1997.

SILVA, A. L. N. Tilápia vermelha (híbrido de *Oreochromis spp*) e robalo-flecha *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1972): Aspectos biológicos e cultivo associado na região Nordeste do Brasil. Tese de doutorado. **Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais de Universidade Federal de São Carlos**, 1996.

SMITH, D.M. & TABRETT, S.J. Accurate measurement of in vivo digestibility of shrimp feeds. **Aquaculture**, 232, 563–580, 2004.

SIMPSON, B. K. Digestive Proteases from Marine Animals. In: HAARD, N. F.; SIMPSON, B. K. (eds.), **Seafood Enzymes**. Marcel Dekker, New York, NY, p. 191– 213, 2000.

SINHA, A., KUMAR, V., MAKKAR, H., BOECK, G., BECKER, K. Non-starch polysaccharides and their role in fish nutrition — a review. **Food Chemistry** 127, 1409–1426, 2011.

SOLIGO, T., FERRAZ, E.M., CERQUEIRA, V.R., TSUZUKI, M.Y. Primeira experiência de indução hormonal, desova e larvicultura do robalo-flecha, *Centropomus undecimalis* no Brasil. In: Cyrino, J.E.P., Scorvo Filho, J.D., Sampaio, L.A., Cavalli, R.O. **Tópicos especiais em biologia aquática e aquicultura II. Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática**, Jaboticabal, SP. p. 143-152, 2008.

SOLIGO, T.A.; GARCIA, A.S.; CERQUEIRA, V.R. Weaning of the common snook (*Centropomus undecimalis*) early juveniles reared in laboratory using commercial and experimental diets. **Boletim do Instituto de Pesca**, vol. 37, n. 4, p. 367-374, 2011.

SOUZA-FILHO, J.J., CERQUEIRA, V.R. Influência da densidade de estocagem no cultivo de juvenis de robalo-flecha mantidos em laboratório. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, vol. 38, p. 1317-1322, 2003.

SUBHADRA, B.; LOCHMANN, R.; RAWLES, S., CHEN, R. Effect of fish meal replacement with poultry by-product meal on the growth, tissue composition and hematological parameters of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) fed diets containing different lipids. **Aquaculture** 260, p. 221–231, 2006.

SUGIURA, S.H., DONG, F.M., RATHBONE, C.K. & HARDY, R.W. Apparent protein digestibility and mineral availabilities in various feed ingredients for salmonid feeds. **Aquaculture**, vol. 159, p. 177–202, 1998.

SUN, H., TANG, J.W., YAOA, X. H., WUA, Y. F., WANG, X, LIUA, Y., LOUB, B. Partial substitution of fish meal with fermented cottonseed meal in juvenile black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*) diets. **Aquaculture**, vol. 446, p. 30–36, 2015.

TABRETT, S., DAVID BLYTH, NICHOLAS BOURNE, BRETT GLENCROSS. Digestibility of *Lupinus albus* lupin meals in barramundi (*Lates calcarifer*). **Aquaculture** 364–365, 1–5, 2012.

TACON, A. G. J. Fish replacers: Review of antinutrients within oilseeds and pulses. A limiting factor for the aquafeed Green Revolution? **FAO**, 1995.

TACON, A.G.J.; HASAN, M. R.; METIAN, M. Demand and Supply of Feed Ingredients for Farmed Fish and Crustaceans. **FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper**, n. 564, 87 p, Rome, Italy, 2009.

TAKEUCHI, T. A review of feed development for early life stages of marine finfish in Japan. **Aquaculture**, v. 200, p. 203-222, 2001.

TALENS-PERALES, D.; MARÍN-NAVARRO, J; POLAINA, J. Enzymes: Functions and Characteristics. **Reference Module in Food Science Encyclopedia of Food and Health**, p. 532-538, 2016.

TERRAZAS-FIERRO, M., CIVERA-CERECEDO, R., IBARRA-MARTÍNEZ, L., GOYTORTÚA-BORES, E, HERRERA-ANDRADE, M., REYES-BECERRA, A. Apparent digestibility of dry matter, protein, and essential amino acid in marine feedstuffs for juvenile whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture**, 308, 166–173, 2010.

TIBBETTS, S.M.; MILLEY, J.E.; LALL, S.P. Apparent protein and energy digestibility of common and alternative feed ingredients by Atlantic cod, *Gadus morhua* (Linnaeus, 1758). **Aquaculture**, vol. 261, p. 1314-1327, 2006.

TOMÁS-VIDAL, S.; MARTÍNEZ-LLORENS, S.; JAMBRINA, C.; GONZÁLEZ, R. S.; CERDÁ, M. J. Effects of dietary soybean meal on growth, nutritive efficiency and body composition of cultured tench (*Tinca tinca*). **Journal of Applied Ichthyology**, vol. 27, p. 892–896, 2011.

TUCKER, J.W. Jr. Snook culture. **American Fisheries Society Symposium**, vol. 46, p. 297-305, 2005.

TUCKER, J.W. Jr. Snook culture. **World Aquaculture Magazine**, vol. 34, p. 42-46, 2003.

TUCKER, J. W. JR. Research on coastal finfish aquaculture in Florida and Australia. **Gulf Caribbean Fisheries Institute**. Proceedings of the 39 th. p. 415-419, 1989.

TUCKER, J. W. Jr. Snook and tarpon culture and preliminar evaluation for commercial farming. **Progressive Fish Culturist**, v. 49, p. 49-57, 1987.

USDA, **United States Department of Agriculture 2015**. World Crop Production Summary. Disponível em: <http://www.fas.usda.gov/psdonline/psdreport.aspx?hidReportRetrievalName=BVS&hidReportRetrievalID=425&hidReportRetrievalTemplateID=2>. Acessado em 13 de novembro de 2015.

USDA, **United States Department of Agriculture 2010**. World Crop Production Summary. Website, disponível em: <http://www.usda.gov/wps/portal/usda/usdahome>. Acessado em 08 de dezembro de 2015.

VANDENBERG, G.W. & NOUE, J. Apparent digestibility comparison in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) assessed using three methods of faeces collection and three digestibility markers. **Aquaculture Nutrition**, vol. 7, p. 237–245, 2001.

VIDAL, L.V.O.; XAVIER, T.O.X.; MICHELATO, M.; MARTINS, E. N.; PEZZATO, L. E.; FURUYA, W. M. Apparent protein and energy digestibility and amino acid availability of corn and co-products in extruded diets for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, vol. 46, n. 2, 2015.

WANG, Y.; WANG, F.; JI, W-X; HAN, H; LI, PENG. Optimizing dietary protein sources for Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) with an emphasis on using poultry by-product meal to substitute fish meal. **Aquaculture Research**, vol. 46, p. 874–883, 2015.

WAGNER Jr., A.; CERQUEIRA, V. R.; CANDIDO, S.; DOS REIS, M. A.; NUNES, F. F. Cultivo de juvenis do robalo *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792) e *Centropomus parallelus* (Poey, 1860), em tanque-rede com dieta artificial e comercial. **Simpósio Brasileiro de Aquicultura**. Florianópolis/SC, CD-ROM, 2000.

WATANABE, T., AOKO, H., SHIMAMOTO, K., HADZUMA, M., MAITA, M., YAMAGATA, Y., KIRON, V., SATOH, S. A trial to culture yellowtail with non-fishmeal diets. **Fisheries Science**, vol. 64, p. 505-512, 1998.

WATANABE, T. Fish Nutrition and Mariculture. The general aquaculture course. Kanagawa International Fisheries Training Centre. **Japan International Cooperation Agency (JICA)**, 233 p, 1998.

WILLIAMS, K. C.; BARLOW, C. G. Dietary requirement and optimal feeding practices for barramundi (*Lates calcarifer*). Project 92/63, **Final Report to Fisheries R&D Corporation**, Canberra, Australia, 95 p., 1999.

WINNER, B.L., BLEWETT, D.A., MCMICHAEL, R.H.JR., GUENTHER C.B. Relative abundance and distribution of common snook along shoreline habitats of Florida estuaries. **Transactions of the American Fisheries Society**, 139, 62-79, 2010.

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

YU, H.-R., ZHANG, Q., CAO, H. WANG, X.-Z., HUANG, G.-Q, ZHANG, B.-R., FAN, J.-J., LIU, S.-W, LI, W.-Z, CUI, Y. Apparent digestibility coefficients of selected feed ingredients for juvenile snakehead, *Ophiocephalus argus*. **Aquaculture Nutrition**, vol. 19, p. 139-147, 2013.

YÚFERA, M.; DARIAS, M. The onset of exogenous feeding in marine fish larvae. **Aquaculture**, vol. 268, p. 53–63, 2007.

ZHOU, QI-CUN, TAN, BEI-PING, MAI, KANG-SENC, LIU, YONG-JIAN. Apparent digestibility of selected feed ingredients for juvenile cobia *Rachycentron canadum*. **Aquaculture**, vol. 241, p. 441–451, 2004.

4 - Artigos científicos

4.1 - Artigo científico I

Artigo científico a ser encaminhado a Revista Aquaculture.

Todas as normas de redação e citação, deste capítulo, atendem as estabelecidas pela referida revista (em anexo).

Coefficiente de digestibilidade aparente de ingredientes para juvenis de robalo-flecha
(*Centropomus undecimalis*)

Reginaldo Florêncio da Silva Júnior^(1, 2 e 4), Álvaro José de Almeida Bicudo^(1 e 3), Carlos Antônio Zarzar⁽⁴⁾, Nelson Gomes da Silva Neto⁽⁴⁾, Ronaldo Olivera Cavalli^(1 e 4)

⁽¹⁾Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE.

⁽²⁾Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, PE.

⁽³⁾Laboratório de Pesquisa em Piscicultura, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns, PE.

⁽⁴⁾Laboratório de Piscicultura Marinha, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE.

E-mail: rfsilvajunior@gmail.com, alvaro.bicudo@uag.ufrpe.br, ronaldocavalli@gmail.com

Resumo

Os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) de oito ingredientes utilizados na indústria aquícola foram determinados em termos de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fósforo (P), energia bruta (EB) e aminoácidos (AAs) em juvenis de robalo-flecha (*Centropomus undecimalis*). Foi utilizado óxido de cromo como marcado inerte. A coleta das fezes foi feita por sedimentação pelo método de Guelph modificado. Os ingredientes testes foram: farinha de peixe (FP), farinha de camarão (FC), farinha de vísceras de aves (FVA), farinha de penas hidrolisada (FPH), farelo de soja (FS), farelo de glúten de milho (FGM), farelo de trigo (FT) e farinha de milho (FM). Uma dieta referência (R) (56,7%PB, 22,7 MJ/kg ED) foi formulada em paralelo as dietas experimentais que incluiu 30% de cada ingrediente e 70% da dieta referência. Os resultados indicaram que o CDA dos nutrientes e energia bruta foram afetados ($P < 0,05$) pela composição dos ingredientes testes. A FGM e FPH, apresentaram semelhanças ($P > 0,05$) na digestibilidade dos nutrientes e da EB. A digestibilidade da matéria seca variou de 85 a 145%, sendo o FGM (145%) e FPH (141%) os mais altos, enquanto, o FS e FVA apresentaram valores de 83 a 85%, respectivamente. O extrato etéreo dos ingredientes de origem animal e vegetal, foram bem digeridas pelos juvenis de *C. undecimalis* com diferença ($P > 0,05$) entre os ingredientes. Os menores CDA de matéria mineral foram observados na FVA (37%) e FS (28%). Os CDA de energia bruta na FP (118%) e FC (117%) foram maiores ($P < 0,05$) que os demais ingredientes utilizados para os robalo-flecha. Os CDA do fósforo foram altos em todos os ingredientes. Os CDA dos AAs nos ingredientes FP, FC, FPH e FGM foi maior que FVA, FS e FM. A maior discrepância foi de 69% para histidina e 134% para o ácido aspártico no FM. Os resultados deste estudo indicam alta digestibilidade dos ingredientes proteicos e energéticos para juvenis de *C. undecimalis*. No entanto, a digestibilidade da matéria mineral para farinha de víscera de aves (37,4%), farelo de soja (28,8%) e farinha de milho (47,8%), foram bastante inferiores a farinha de peixe, farinha de camarão, farinha de pena

hidrolisado, farelo de glúten de milho e farinha de trigo, indiciando potencial uso desses ingredientes em rações para essa espécie. Estas informações serão úteis na formulação de dietas experimentais e comerciais para juvenis de robalo-flecha em uma base de nutrientes e energia digestíveis, a fim de minimizar os custos da produção, bem como reduzir a produção resíduos.

Palavras-chaves: digestibilidade, robalo-flecha, fontes proteica e energéticas.

Introdução

A aquicultura exige alta qualidade alimentar com alto teor de proteína para as espécies carnívoras. No entanto, o desafio enfrentado por nutricionistas aquícolas é aumentar a eficiência alimentar, diminuir os custos da alimentação e minimizar os impactos ambientais causados pelos efluentes ricos em nutrientes, produzidos pelas rações formuladas fornecidas (Lu et al., 2015). Especificamente na criação de peixes carnívoros marinhos, os gastos com a dieta podem representar de 50 a 70% da produção (Rana et al., 2009; Sinha et al. 2011).

A proteína é o nutriente de custo mais elevado nas dietas para animais aquáticos (NRC, 2011), utilizada pelos peixes na formação de tecido muscular e como fonte de energia, além de desempenhar outras funções essenciais ao organismo (Deng et al., 2011, Sun et al., 2015). A maior parte da proteína nas rações aquícolas é oriunda da farinha de peixe (FP), a qual possui elevado teor proteico, perfil balanceado de aminoácidos e ácidos graxos essenciais, excelente palatabilidade, alta digestibilidade e baixos níveis de fatores anti-nutricionais (NRC, 2011), sendo reconhecida como a melhor fonte proteica em dietas para peixes carnívoros, no qual exigem níveis mais elevados de proteína em comparação aos peixes onívoros e/ou herbívoros (Riche, 2015). No entanto, os estoques de peixes selvagens capturados para a produção de óleo e farinha de peixe se encontram sobrepescados ou em declínio (FAO, 2012), e apesar disto, faz com que a busca de alternativas adequadas para substituir total ou parcialmente a FP em rações de peixes seja uma constante tanto para as espécies que já estão em produção quanto para aquelas que apresentam potencial de criação.

A determinação da digestibilidade dos nutrientes dos ingredientes é uma das primeiras etapas no desenvolvimento de rações (Burr et al., 2011; NRC, 2011). No entanto, estudos sobre a utilização dos nutrientes e suas possíveis interferências (enzimas digestivas), palatabilidade, os efeitos sobre o estado imunológico e qualidades organolépticas dos ingredientes, requerem avaliação cuidadosa a fim de determinar o seu valor nutricional e níveis de utilização nas dietas,

uma vez que, na produção animal, as formulações das rações são feitas com base no conhecimento das exigências nutricionais da espécie alvo e no nutrientes disponíveis nos ingredientes (Glencross et al., 2007), pois apenas com este conhecimento será possível determinar o custo benefício dos ingredientes e utilizar todo potencial genético dos animais com os menores custo de produção (Fox et al., 2006).

A biodisponibilidade das proteínas, aminoácidos e energia nos alimentos é um fator importante a ser considerado, em parte porque estão relacionados com a quantidade de nitrogênio (N) e fósforo (P) a ser absorvido pelos peixes. Além disso, a baixa digestibilidade dos alimentos leva ao acúmulo de resíduos desses nutrientes na água e no solo, os quais, por sua vez, podem levar a poluição e eutrofização do ambiente, bem como aumentar a possibilidade de ocorrência de doenças e mortalidade (Glencross e Bermudes, 2011, 2012).

Dentre os diversos peixes marinhos nativos do Brasil, o *Centropomus undecimalis*, comumente chamado de camurim, robalo-flecha, ou robalo-branco é considerado de grande potencial para criação em cativeiro (Alvarez-Lajonchère e Tsuzuki, 2008; Winner et al., 2010). De acordo com o Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA), em 2012 foram capturados no Brasil mais 3.600 toneladas de robalo-flecha (*Centropomus* spp.), sendo as regiões Norte e Nordeste responsáveis por 95% da produção. São peixes eurialinos de hábito alimentar carnívoro oportunista (Silva et al., 1998), encontrados em rios, estuários, lagunas costeiras e próximos a costões rochosos (Pope et al., 2006), no qual pode ser produzido em mais dos 22 mil ha de viveiros de camarão marinho atualmente existentes no Brasil (ABCC e MPA, 2013).

Como a tecnologia básica de produção de formas jovens desta espécie já está disponível (Pitz, 2009; Carvalho et al., 2014; Passini et al., 2014), faz-se necessário estabelecer as bases científicas que permitirão a formulação de dietas balanceadas. Portanto, o objetivo deste estudo foi determinar o coeficiente de digestibilidade aparente da energia e nutrientes de ingredientes proteicos, farinha de peixe, farinha de camarão, farinha de vísceras de aves, farinha de penas hidrolisada, farelo de soja e farelo de glúten de milho, e energéticos, farelo de trigo e farinha milho, para juvenis de robalo-flecha.

2. Material e métodos

2. 1. Peixes e condições experimentais

O experimento foi conduzido no Laboratório de Piscicultura Marinha (LPM) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, PE. Os alevinos de robalo-flecha com peso médio ($0,66 \pm 0,12g$) foram obtidos do Laboratório de Piscicultura Marinha

(LAPIMAR) da UFSC (Florianópolis, SC). No LPM/UFRPE, os peixes foram mantidos em tanques circulares (500 L) por um período de oito meses na mesma salinidade e temperatura média de 28,5°C, sendo alimentados inicialmente com a ração comercial de 800-1200 µm (55,07% PB; 10,06% EE e 10,28% MM) e posteriormente, com 1200-2000 µm (52% PB; 9,5% EE e 18% MM), em quatro refeições diárias até a saciedade aparente.

O estudo de digestibilidade foi conduzido em tanques cilíndrico-cônicos de 300 L (Glencross, 2007), abastecidos (3 L/min) por um sistema de recirculação de água com filtro biológico, filtro de areia (Plaspiral, Bracker 800, Brasil) e filtro ultravioleta (duas lâmpadas de 95W; Sibrape, Pond Clean, Brasil). As concentrações de oxigênio dissolvido ($5,4 \text{ mg/L} \pm 0,39$), temperatura ($29,6^\circ\text{C} \pm 1,2$), pH ($8,0 \pm 0,2$) e salinidade ($22,0 \pm 1,7$) foram monitoradas diariamente com um medidor multiparâmetro modelo YSI 556 (Yellow Springs Instruments, EUA). As concentrações de amônia total ($0,12 \pm 0,13 \text{ mg/L}$), nitrito ($0,19 \pm 0,29 \text{ mg/L}$) e nitrato ($3,18 \pm 2,1 \text{ mg/L}$) foram estimadas a cada dois dias por colorimetria com um kit comercial (Alcon, Labcon Test, Brasil), considerados adequados para o cultivo da espécie (Alvarez-Lajonchère e Tsuzuki, 2008).

Antes do início do experimento, os juvenis ($51,29 \text{ g} \pm 15,24$) foram aclimatados aos tanques de digestibilidade por duas semanas. Os peixes (15 espécimes/tanque) eram alimentados com as dietas experimentais até a saciedade aparente quatro vezes ao dia (8:00, 11:00, 14:00 e 16:00 h). Diariamente, uma hora após a última refeição, os tanques foram limpos com uma esponja para remover os alimentos não consumidos e resíduos fecais e então, sifonados e drenados. Cerca de 15h após a última alimentação, as fezes foram coletadas por sedimentação em tubos Falcon de 50 mL refrigerados. As excretas foram então centrifugadas no próprio tubo e armazenadas em outro recipiente sob refrigeração (-20°C) até se obter a quantidade mínima para se proceder as análises químicas. Em seguida, as fezes eram liofilizadas, peneiradas em malha de 1,0 mm para retirada manual de escamas, armazenadas (-80°C) e enviadas para análise.

2.2. Dietas experimentais

Uma vez que não existem informações sobre as exigências nutricionais da espécie-alvo deste estudo, a dieta referência (Tabela 1) foi formulada com base nas exigências nutricionais do barramundi (*Lates calcarifer*), que, embora sejam espécie filogeneticamente distintas e distribuídas naturalmente em regiões diferentes, possuem sistemas digestórios e hábitos alimentares semelhantes, além da utilização do habitat estuarino-manguezal (Alvarez-Lajonchère e Tsuzuki, 2008; Pethiyagoda e Gill, 2014). Além da dieta referência, foram

formuladas outras oito dietas testes, as quais continham 70% da dieta referência e 30% do ingrediente a ser avaliado. A farinha de peixe (FP), farinha de camarão (FC), farinha de vísceras de aves (FVA), farinha de penas hidrolisada (FPH), farelo de soja (FS), farelo de glúten de milho (FGM), farelo de trigo (FT) e farinha milho (FM) foram testados (Tabela 2). Os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), matéria mineral (MM), energia bruta (EB), fósforo (P) e aminoácidos (AAs) foram determinados através do método indireto utilizando o óxido de cromo (Cr_2O_3) como marcador inerte ($1\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$). Para a confecção das dietas peletizadas, ± 3 mm, os ingredientes foram moídos (≤ 1 mm), misturados, umedecidos pela adição de 25 a 30% de água, dependendo da umidade do ingrediente, e granulados em moinho de rosca sem fim. As dietas foram secas em estufa de ventilação forçada (55°C por 24 h) e mantidas a -20°C em recipientes protegidos da luz até o momento do fornecimento aos animais (Tabela 3).

2.3. Análise químicas

A proteína bruta foi determinada pelo método de Dumas após digestão oxidativa do oxigênio a aproximadamente $900\text{-}1200^\circ\text{C}$ (AOAC, 2007); o extrato etéreo, por hidrólise ácida (AOAC, 2007) e a umidade por secagem em estufa a 105°C por 4-6 horas até o peso constante (IAL, 2005). A matéria mineral foi estimada pela queima da amostra em forno mufla a $550\text{-}600^\circ\text{C}$ (AOAC, 2007). A energia bruta foi medida diretamente em bomba calorimétrica (IKA modelo 5000, Staufen, Alemanha). Os aminoácidos foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa, utilizando detecção em UV a 254 nm por 30 min (Hagen et al., 1989). O óxido de cromo foi analisado por espectrofotometria de absorção atômica e o fósforo total por colorimetria I, ambos conforme IAL (2005).

2.4. Determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA).

Os CDA da MS, PB, EE, P, EB e AAs das dietas e ingredientes foram determinados com as equações de Nose (1960) e Bureau e Hua (2006), respectivamente.

$$\text{CDAN}_{(\text{DT/R})} = 100 - [100 (\text{Cr}_2\text{O}_3(\text{DT/R}) / \text{Cr}_2\text{O}_3(\text{F})) \times (\text{N}_{(\text{F})} / \text{N}_{(\text{R})})]$$

Onde: $\text{CDAN}_{(\text{DT/R})} = \%$ coeficiente da digestibilidade aparente dos nutrientes e/ou energia nas dietas testes e referência; $\text{Cr}_2\text{O}_3(\text{DT/R}) = \%$ de óxido de cromo nas dietas testes e referência; $\text{Cr}_2\text{O}_3(\text{F}) = \%$ de óxido de cromo nas fezes das dietas testes e referência; $\text{N}_{(\text{F})} = \%$ nutriente nas fezes das dietas testes e referência; $\text{N}_{(\text{R})} = \%$ nutriente das dietas testes e referência.

$$CDAN_{(IT)} = CDAN_{(DT)} + [(CDAN_{(DT)} - CDAN_{(DR)}) \times (0,7 \times N_{(DR)} / 0,3 \times N_{(IT)})]$$

Onde: $CDAN_{(IT)}$ = % digestibilidade aparente dos nutrientes e/ou energia nos ingredientes testes incluídos nas dietas teste em 30%. $CDAN_{(DT)}$ = % digestibilidade aparente do nutriente e/ou energia na dieta teste. $CDAN_{(DR)}$ = % digestibilidade aparente da dieta referência que compõe 70% da dieta referência. $N_{(DR)}$ = % do nutriente na mistura da dieta referência, $N_{(IT)}$ = % do nutriente no ingrediente teste.

2.5. Delineamento experimental e análise dos dados

O estudo foi conduzido em um delineamento experimental inteiramente casualizado com três repetições por tratamento ($n = 3$). Os dados obtidos foram testados para a distribuição normal (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variância (teste de Bartlett). Em seguida, submetidos à análise de variância (ANOVA) e, quando significativos ($P < 0,05$) aplicado o teste de Tukey, utilizando o software SysEapro (versão beta). Os valores são apresentados como média \pm intervalo de confiança (IC).

3. Resultados

A composição química e o perfil de aminoácidos dos diferentes ingredientes estão demonstrados na Tabela 2. A FPH, a FVA, a FP e a FGM tiveram os maiores conteúdos de PB, enquanto os níveis mais baixos foram observados para a FM (85 g.kg^{-1}), FT (167 g.kg^{-1}) e a FC (451 g.kg^{-1}). O teor de extrato etéreo foi maior em FVA (145 g.kg^{-1}); e menor no FS (26 g.kg^{-1}). As concentrações de MM foram 365 , 129 e 117 g.kg^{-1} para FC, FP e FVA, respectivamente. Todos os demais ingredientes tiveram concentrações de MM abaixo de 70 g.kg^{-1} . Semelhante à MM, as concentrações de P foram mais altas em FC, FP e FVA (entre 20 e 30 g.kg^{-1}), enquanto os demais ingredientes tiveram teores de P abaixo de 15 g.kg^{-1} . As mais altas concentrações de EB ocorreram em FPH, FVA, FGM e FP, todos acima de $20,0 \text{ MJ kg}^{-1}$. A FC teve a menor densidade energética, com apenas $13,3 \text{ MJ kg}^{-1}$.

Os três aminoácidos essenciais com concentrações mais elevadas foram arginina, leucina e lisina, em ordem decrescente, na maioria dos ingredientes. Dos aminoácidos sulfurados (metionina e cistina), a FP e a FVA continham concentrações relativamente altas, enquanto a FGM continha valores altos de metionina (14%) e a FPH, de cistina (9%). Os aminoácidos não-essenciais mais abundantes foram o glutamato e a glicina.

Os CDA da MS, PB, EE, MM, P e EB foram diferentes ($p < 0,05$) entre os ingredientes (Tabela 4). O CDA da MS variou de $82,9$ a $145,9\%$, tendo sido relativamente mais altos em

seis ingredientes (FP, FC, FPH, FGM, FT e M), cujos CDA variaram de 101 a 145%. A digestibilidade da MS para FS (82,9%) e FVA (85,5%) foram comparativamente as mais baixas.

A digestibilidade aparente da PB do FGM, FPH e FP foram maiores ($p < 0,05$) do que FT (97,1%), FM (96,0%), FC (96,6%) e FVA (94,4%). O CDA do EE da FGM, FP e FC foram maiores ($p < 0,05$) do que da FPH, FVA, FT e FM. Os CDA da PB e EE de todos os ingredientes testados ficaram acima de 90%. Os CDA da MM também apresentaram diferenças ($p < 0,05$), sendo que apenas a FGM e a FPH tiveram CDA acima de 90%. Cerca de 100 e 98% do fósforo presente na FGM e na FPH, respectivamente, foram digeridos pelos juvenis de robalo-flecha; o CDA do P mais baixo foram os da FC, FVA, FS e FM (abaixo de 85%). Os CDA da EB na FP (118%) e FC (117%) foram maiores ($p < 0,05$) que os demais ingredientes.

Os CDA dos aminoácidos dos ingredientes estão apresentados na Tabela 5. A disponibilidade de aminoácidos dos ingredientes FP, FC, FPH e FGM foi maior que FVA, FS e FM. O CDAaa's dos oito ingredientes testes variaram, porém, a maior discrepância foi na FM que variou de 69% para histidina e 134% para o ácido aspártico.

O CDA médio dos AAs na FC (97%), FS (97%) e FVA (94%) foram similares. A FP, FPH, FGM, FT, FM tiveram as médias mais altas, todas com 100%. Valores acima de 100% foram encontrados em todos os aminoácidos. Os coeficientes de aminoácidos mais altos foram no ácido aspártico (134%) FM, cistina (120%) FC e metionina (120%) FT. Não houveram diferenças ($p > 0,05$) nos aminoácidos arginina, glutamato, glicina, treonina, tirosina e valina. No entanto, houve diferença ($p < 0,05$) entre 12 aminoácidos. Por exemplo, a digestibilidade da metionina na FVA foi de 89% e no FT de 120%. Houve maior diferença entre o FM e FGM na digestibilidade da histidina (69% e 110%, respectivamente). A digestibilidade da leucina da FVA (81%) foi semelhante à da lisina (81%) e prolina (81%) do FM, apresentaram valores baixos comparados aos demais.

Discussão

De modo geral, os juvenis de robalo-flecha foram capazes de digerir, de forma bastante eficiente, os nutrientes de todos os ingredientes testados. Neste estudo, os resultados de matéria seca e energia bruta são comparativamente superiores aos encontrados para outras espécies de peixes marinhos carnívoros. No entanto, observa-se uma tendência na similaridade de alguns ingredientes proteicos e energéticos, estimados para outros peixes, como a proteína bruta e extrato etéreo. Por exemplo, a FP (97,2%PB e 99,0%EE) para “mulloway” *Argyrosomus japonicus* (Booth et al., 2013); trigo (100,2%PB) (Glencross et al., 2011) e FT (101,9%PB)

(McMeniman, 1998) para robalo asiático (*Lates calcarifer*), 96,0% (FGM) e 95,3% (FS) de extrato etéreo para beijupirá (*Rachycentron canadum*) (Zhou et al., 2004) (Tabela 6).

O CDA da MS foi superior a 80% em todos os ingredientes, o FS apresentou a menor digestibilidade. Este ingrediente geralmente possui de 45 a 50% de proteína bruta e a digestibilidade da MS fica entre 77 e 99% para alguns peixes marinhos (NRC, 2011), ou seja, próximo ao do presente estudo (82,9%). Embora os ingredientes vegetais constituam uma importante fonte de proteína nas dietas de humanos e animais, eles podem conter uma ampla variedade de fatores anti-nutricionais (FAN), como ácido fítico, polissacárideos não-amiláceos e inibidores de protease. A presença de FAN pode resultar em uma variedade de efeitos fisiológicos negativos nos peixes, como redução no crescimento e queda da imunidade (Yang et al., 2011, NRC, 2011; Fracalossi et al., 2013).

O efeito dos carboidratos (CHO) dietéticos permanece controverso nas espécies de peixes marinhos (Enes et al., 2011). Apesar do CHO não ter sido medido diretamente no presente estudo, pode-se inferir que as dietas FT e FM continham níveis elevados deste nutriente de 32 e 39%, respectivamente, em relação as demais dietas experimentais (Tabela 3) e apresentaram alta digestibilidade da energia bruta, FT (92,1%) e FM (89,7%) (Tabela 4). Estudos realizados por Fernández et al. (2007) relataram que o amido de milho gelatinizado pode ser utilizado em dietas para o “sea bream” (*Sparus aurata*) sem comprometer o crescimento até o nível de inclusão de 20%. Catacutan e Coloso (1997) observaram que o robalo Asiático (*Lates calcarifer*) alimentado com dietas contendo 20% de farinha de trigo ganhava mais peso do que os alimentados com 15%. Para esta mesma espécie, Glencross et al. (2012) estudaram uma variedade de cereais (trigo, aveia, sorgo, triticale, cevada, entre outros) e obtiveram coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes, variando de 49,1 a 93,9% na dieta, e nos ingredientes de 18,0 a 96,5%, demonstrando que há uma ampla variedade de fontes de CHO que podem ser utilizados em dietas para este peixe. Couto et al. (2016) sugeriram que até 225g.kg⁻¹ de gérmen de alfarroba pode ser utilizado como substituto a FP em dietas para juvenis de “meagre” (*Argyrosomus regius*). Porém, nos peixes alimentados com níveis elevados desse ingrediente, foi observada uma diminuição da atividade das enzimas digestivas (protease alcalina total, tripsina, lipase e α -amilase), juntamente com baixa retenção proteica. Outro carboidrato, a quitina, presente nos ingredientes oriundos de crustáceos também podem ser utilizados. Fines e Holt (2010) determinaram que o CDA da quitina está entre 67-78% para juvenis de beijupirá (*Rachycentron canadum*) alimentados com dietas contendo FC e de caranguejo, e demonstraram que este peixe possui capacidade em digerir a quitina por meio de uma forte ação de enzimas endógenas, com a transformação da quitina em N-acetilglicosamina.

A alta digestibilidade energética dos ingredientes FT e FM pode ser resultado do alto teor de CHO que estes ingredientes continham. No entanto, existem preferências de utilizar a FP como fonte de proteína em dietas formuladas para animais aquáticos, o que também é reforçado pela alta digestibilidade dos lipídios, da energia e da proteína bruta, e, conseqüentemente, a alta disponibilidade de aminoácidos (NRC, 2011). Ao verificar se os resultados de outras espécies poderiam ser aplicados ao robalo asiático, Glencross et al. (2011) avaliaram a digestibilidade por extrusão com truta arco-íris e *L. calcarifer* alimentados com a mesma dieta. Os resultados demonstraram que os valores de digestibilidade eram permutáveis, porém mais para alguns parâmetros do que outros (por exemplo, a digestibilidade de energia foi boa, mas a digestibilidade da proteína foi menor). Além disso, ao calcular os valores de digestibilidade entre espécies, foi necessário utilizar um fator de correção. Porém, há uma forte correlação da digestibilidade das dietas e dos ingredientes entre as duas espécies de peixes, indicando que existe um potencial considerável para a aplicação de dados de uma espécie carnívora para outra.

Semelhante à tendência de digestibilidade da matéria seca, o CDA da PB também foi alto em todos os ingredientes testados. Resultados similares foram observados para diferentes peixes marinhos (Tabela 6). Os peixes carnívoros tendem a utilizar os nutrientes de ingredientes de origem animal melhor do que os vegetais (Glencross et al, 2014; Trullàs et al., 2015). Porém, no presente estudo, altos CDA da PB foram observados no FT (98,1%) e FM (96,0%). Digestibilidade elevadas da PB no FT também foram observados em estudos realizados em híbridos de “striped bass” (*Morone saxatilis* ♀ X *Morone chrysops* ♂; Sullivan e Reigh, 1995) de 91,9%; 101,9% (McMeniman, 1998) e 100,2% (Glencross et al., 2011), ambos no robalo asiático; 87,4% em “red drum” (*Sciaenops ocellatus*) e no FM de 149,9% (Glencross et al., 2012) para o robalo asiático e 99,6% na corvina (Olim, 2012).

Durante a execução do experimento foi observado que a quantidade de fezes coletadas diariamente dos robalo-flecha alimentados com esses ingredientes eram superiores aos demais tratamentos. Embora as fezes tenham sido centrifugadas após a coleta, a quantidade de excreta variava de 85% a 98% para FT, e de 65% a 89% no FM, em relação a quantidade de dieta seca ofertada aos peixes. Então, para ambos os tratamentos, o período de coleta das fezes se estendeu por apenas três (FT) e quatro (FM) dias e foi dado por encerrado. O FT e o FM são ingredientes com alto teor de fibra. Este nutriente dietético é resistente a hidrólise pelas enzimas do intestino para animais monogástricos, possuindo alta capacidade de reter água e conseqüentemente, aumenta a viscosidade intestinal (Montagne et al., 2003). Os efeitos na digestão do alimento e absorção dos nutrientes são altamente influenciados pelas propriedades físicas e químicas da

fibra (Wenk, 2001). Vários estudos demonstram que a variação dos níveis de fibra bruta em dietas para peixes pode alterar a digestibilidade aparente, o desempenho, a velocidade do trato gastro intestinal, a morfologia do trato digestório, o rendimento e a composição da carcaça, metabolismo de lipídeos e atividades de enzimas (Gatlin et al., 2007; Hansen e Storebakken, 2007; Rodrigues et al., 2010; Krogdahl et al., 2010). No entanto, o FT e FM apresentaram alta digestibilidade dos nutrientes (Tabela 4).

Em geral, a disponibilidade de fósforo varia muito, dependendo da espécie de peixe e do ingrediente. Por exemplo, a FP com digestibilidade de 71,2%P para beijupirá (Zhou et al., 2004) e de 23,2%P para “red drum” (Li et al., 2004) (Tabela 6). Neste experimento, a digestibilidade aparente do P foi superior a 80% em todos os ingredientes testados. Na farinha de camarão (FC), o CDA foi de 80,6%. A FC continha o maior teor de P na sua composição química (30 g.kg⁻¹MS). Sabe-se que as farinhas de crustáceos contêm altas concentrações de quitina e, conseqüentemente, de nitrogênio (Goytortúa-Bores et al., 2006; Terrazas-Fierro et al., 2010), uma baixa digestibilidade poderia aumentar a quantidade de N a ser liberado. O ácido fítico, uma das formas utilizadas pelas plantas para o armazenamento de fósforo (NRC, 2011), é reconhecidamente indisponível para os peixes, visto que eles não contam com fitase endógena ou microbiana no trato gastrintestinal, o que é necessário para digerir o fitato (Lall, 1991). Porém, nos últimos anos, pesquisas em nutrição tem procurado aumentar a digestibilidade da proteína dos ingredientes de origem vegetal, que não foi o caso do presente estudo, utilizando tratamentos hidrotermais, como a extrusão, e a inclusão de enzimas exógenas nas dietas (Adeola e Cowieson, 2014; Castillo e Gatlin, 2015). Das nove dietas estudadas, a FPH continha o menor teor de fósforo na sua composição química (11 g.kg⁻¹MS), no entanto, sua digestibilidade foi maior (98%) de que todos os ingredientes. Segundo Zhou et al. (2004) isso pode indicar que, quanto menor a concentração de fósforo na dieta, maior é a sua digestibilidade, o que está de acordo com resultados apresentados para truta arco-íris (*Onconrhyinchus mykiss*) e “turbot” *Psetta maxima* (Burel et. al, 2000) e beijupirá (Zhou et al. 2004). Os peixes exigem entre 0,4 e 0,7% de fósforo nas suas dietas, mas em geral, o teor de fósforo de dietas excede as necessidades dos peixes (NRC, 2011).

A avaliação da qualidade protéica de fontes alimentares depende da composição em aminoácidos (AA) e a sua disponibilidade. Deficiência de um aminoácido essencial leva a má utilização da proteína dietética e, conseqüentemente, reduz o crescimento e diminui a eficiência alimentar (Lee, 2002). Neste estudo, a digestibilidade de AA tenderam a refletir a alta digestibilidade da proteína, tendo alta digestão em todos os ingredientes, mesmo nas dietas, FVA, FPH, FS, FGM, FT e FM, que são deficientes em alguns aminoácidos essenciais, como,

histidina, lisina, metionina e valina (HERTRAMPF e PIEDADE-PASCUAL, 2000, NRC, 2011). A FM apresentou digestibilidade de lisina de 81,7% entre os demais ingredientes testados. Os robalos-flecha também mostraram alta capacidade de digerir a metionina em todos os ingredientes testados, embora uma menor digestibilidade tenha sido observada para a FVA (88,9%) (Tabela 5). Estudos demonstram a utilização dos ingredientes proteicos e energéticos aqui testados nas rações de forma conjunta com a FP a fim de suprir possíveis carências de AA (Davies et al., 2009; Tomás-Vidal et al., 2011; Riche, 2015). A alta capacidade de digerir aminoácidos apresentada pelos juvenis de robalo-flecha está de acordo com o observado em outras espécies marinhas, como *Seriola quinqueradiata* (Masumoto et al., 1996), *Sparus aurata* (Lupatsch et al., 1997), *Oncorhynchus mykiss* e *Pagrus major* (Yamamoto et al., 1998), *Sebastes schlegeli* (Lee, 2002); *R. canadum* (Zhou et al., 2004), *Lateolabrax japonicus* (Wang et al., 2012) e *Ophiocephalus argus* (Yu et al., 2013).

Valores negativos (Carvalho, 2011) ou superiores a 100% (McMeniman, 1998; Terrazas-Fierro, 2010; Glencross et al, 2012) tem sido relatados nos estudos de digestibilidade. Essa aparente discrepância tem sido atribuída a erros nas análises dos nutrientes e marcadores, baixa homogeneidade do cromo nas dietas experimentais, amostras não representativas de fezes e a lixiviação (Glencross, 2007; Tabrett et al., 2012). Blyth et al. (2015) examinaram os efeitos do método de coleta (extrusão e sedimentação) e considerando a variável tempo (4 dias) desde a introdução da dieta e coleta para o robalo asiático, concluíram que o método de extrusão produziu amostras de fezes mais conservadoras e confiáveis. Cruz-Suárez et al. (2009) afirmam que a digestibilidade de alguns aminoácidos pode ser sobrestimada, já que eles são altamente solúveis em água. Coeficientes de digestibilidade inesperados também têm sido atribuídos a interações não identificadas entre os ingredientes de alimentos para animais ou à variação de material endógeno (Akiyama et al., 1989). Outro fator que pode afetar a digestibilidade aparente é a alta temperatura que às vezes são usadas durante a fabricação dos ingredientes. Isso pode danificar a estrutura dos AA e afetar a digestibilidade (reação de Maillard). Os AA podem ser eliminados na urina sem assimilação adequada pelas células (Terrazas-Fierro et al, 2005). Assim, AA alterados pelo processamento em altas temperaturas podem resultar na superestimação da digestibilidade.

Os resultados deste estudo indicam alta digestibilidade dos ingredientes proteicos e energéticos para juvenis de *C. undecimalis*. No entanto, a digestibilidade da matéria mineral para farinha de víscera de aves (37,4%), farelo de soja (28,8%) e farinha de milho (47,8%), foram bastante inferiores a farinha de peixe, farinha de camarão, farinha de pena hidrolisado, farelo de glúten de milho e farinha de trigo, indiciando potencial uso desses ingredientes em

rações para essa espécie. Estas informações serão úteis na formulação de dietas experimentais e comerciais para juvenis de robalo-flecha em uma base de nutrientes e energia digestíveis, a fim de minimizar os custos da produção, bem como reduzir a produção de resíduos.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) e ao pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento da pesquisa.

Referências

- ABCC (Associação Brasileira de Criadores de Camarão) e MPA (Ministério da Pesca e Aquicultura), 2013. Levantamento da infraestrutura produtiva e dos aspectos tecnológicos, econômicos, sociais e ambientais da carcinicultura marinha no Brasil em 2011. 82 p.
- Adeola, O., Cowieson, A.J., 2014. Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve non ruminant animal production. *Journal of American Science* 89, 3189 - 3218.
- Akiyama, D.M., Coelho, S.R., Lawrence, A.L., Robison, E.H., 1989. Apparent digestibility of feedstuffs by the marine shrimp *Penaeus vannamei* Boone. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55, 91-98.
- Alvarez-Lajonchère, L., Tsuzuki, M.Y., 2008. A review of methods for *Centropomus spp.* (snooks) aquaculture and recommendations for the establishment of their culture in Latin America. *Aquaculture Research*, 39, 684-700.
- AOAC, 2007. Official Methods of Analyses of the Association of Analytical Chemists, 18th ed., rev. 2. Crude protein in meat and meat products including pet foods, c. 39. Method 992, 15, 6-7.
- Blyth, D., S., Tabrett, N. Bourne, B. Glencross, 2015. Comparison of faecal collection methods, and diet acclimation times for the measurement of digestibility coefficients in barramundi (*Lates calcarifer*). *Aquaculture Nutrition* 21, 248-255.
- Booth, M., Allan, G., Smullen, R., 2013. Digestibility of common feed ingredients by juvenile mullet *Argyrosomus japonicus*. *Aquaculture* 414-415, 140-148.

- Burr, G.S., Barrows, F.T., Gaylord, G., Wolters, W.R., 2011. Apparent digestibility of macronutrients and phosphorus in plant-derived ingredients for Atlantic salmon, *Salmo salar* and Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. *Aquaculture Nutrition* 17, 570–577.
- Burel, C., Boujard, T., Tulli, F., Kaushik, S.J., 2000. Digestibility of extruded peas, extruded lupin, and rapeseed meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture* 188, 285–298.
- Bureau, D.P., Hua, K., 2006. Letter to the Editor of *Aquaculture*. *Aquaculture* 252, 103-105.
- Carvalho, R. A. P. L. F., 2011. Desenvolvimento de um sistema de recirculação para estudos sobre digestibilidade em condições de alto desempenho para camraões marinho: avaliação de ingredientes protéicos alternativos à farinha de peixe em diferentes níveis de inclusão em dietas para juvenis de *Litopenaeus vannamei*. Tese de doutorado apresentada ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo. São Paulo, SP.
- Carvalho, C.V.A.; Passini, G.; Costa, W.M.; Vieira, B.N.; Cerqueira, V.R., 2014. Effect of 17 β -estradiol on the sex ratio, growth and survival of juvenile common snook (*Centropomus undecimalis*). *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, vol. 36, n. 3, p. 239-245.
- Castillo, S., Gatlin, D.M., 2015. Dietary supplementation of exogenous carbohydrase enzymes in fish nutrition: A review. *Aquaculture*, 435, 286–292.
- Catacutan, M.R., R.M. Coloso, 1997. Growth of juvenile Asian seabass, *Lates calcarifer*, fed varying carbohydrate and lipid levels. *Aquaculture* 149, 137–144.
- Cruz-Suárez, L.E., Tapia-Salazar, M. Villarreal-Cavazos, D., Beltran-Rocha, J., Nieto-López, M.G., Lemme, A., Ricque-Marie, D., 2009. Apparent dry matter, energy, protein and amino acid digestibility of four soybean ingredients in white shrimp *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Aquaculture* 292, 87 – 94.
- Couto, A., Barroso, C., Guerreiro, I., Pousão-Ferreira, P., Matos, E., Peres, H., Oliva-Teles A., Enes, P., 2016 Carob seed germ meal in diets for meagre (*Argyrosomus regius*) juveniles: Growth, digestive enzymes, intermediary metabolism, liver and gut histology. *Aquaculture* 451, 396–404.
- Davies, S. J., Gouveia, A., Laporte, J., Woodgate, S. L., Nates, S, 2009. Nutrient digestibility profile of premium (category III grade) animal protein by-products for temperate marine fish species (European sea bass, gilthead sea bream and turbot). *Aquaculture Research* 40, 1759-1769.
- Deng, J.; Mai, K.; Qinghui, A.; Zhang, W.; Tan, B.; Xu, W.; Liufu, Z., 2011. Alternative protein sources in diets for Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* (Temminck and Schlegel):

- II. Effects on nutrient digestibility and digestive enzyme activity. *Aquaculture Research* 41, p. 861–870.
- Enes, P., Panserat, S., Kaushik, S. and Oliva-Teles, A., 2011. Dietary carbohydrate utilization by European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) and gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) juveniles. *Reviews in Fisheries Science* 19, 201–215.
- FAO (Food and Agriculture Organization), 2012. The State of World Fisheries and Aquaculture 2012. FAO Fisheries and Aquaculture Department, FAO of the United Nations, Rome.
- Fernández, F., Miquel, A.G., Córdoba, M., Varas, M., Metón, I., Caseras, A., Baanante, I.V., 2007. Effects of diets with distinct protein-to-carbohydrate ratios on nutrient digestibility, growth performance, body composition and liver intermediary enzyme activities in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) fingerlings. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 343, 1–10.
- Fines, B. C.; Holt, G. J., 2010. Chitinase and apparent digestibility of chitin in the digestive tract of juvenile cobia, *Rachycentron canadum*. *Aquaculture*, v. 303, p. 34-39.
- Fracalossi, D.M., Rodrigues, A.P.O., Gominho-Rosa, M.C, 2013. Carboidratos e fibra. In: *Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para aquicultura brasileira*. Fracalossi, D.M., Cyrino, J.E.P. 1ª edição, 101–120.
- Fox, J.M., Davis, D.A., Wilson, M., Lawrence, A. L., 2006. Current status of amino acid requirement research with marine penaeid shrimp. Em: Elizabeth Cruz Suárez, Denis Ricque Marie, Mireya Tapia Slazar, Martha G. Nieto López, David A. Vilareal Cavazos, Ana C. Puello, Cuz y Armando Garcia Ortega. *Avances en nutrición acuícola. VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*. 15 – 17 Noviembre. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, Nuevo León, México, 2006.
- Gatlin, D. G.; Barrows, F. T.; Brown, P.; Dabrowski, K.; Gaylord, G.T.; Hardy, R.W.; Herman, E.; Hu, G.; Krogh, A.; Nelson, R.; Overturf, K.; Rust, M.; Sealey, W.; Skonberg, D.; Souza, E.J.; Stone, D.; Wilson, R., Wurtele, E., 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture Research* 38, 551-579.
- Gaylord, T.G., Gatlin, D.M., 1996. Determination of digestibility coefficients of various feedstuffs for red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture* 139, 303-314.
- Glencross, B.D., Booth, M., Allan, G.L., 2007. A feed is only as good as its ingredients - A review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds. *Aquaculture Nutrition* 13, 17–34.

- Glencross, B.D., 2011. A comparison of the diet and raw material digestibilities between rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and barramundi (*Lates calcarifer*) - Implications for inferences of digestibility among species. *Aquaculture Nutrition* 17, 207 - 215.
- Glencross, B.D., M. Bermudes, 2011. Effect of high water temperatures on energetic allometric scaling in barramundi (*Lates calcarifer*). *Comp. Biochem. Physiol. Part A: Mol. Integr. Physiol* 159, 167–174.
- Glencross, B. D., Rutherford, N. R. Hawkins, W. E. 2011. A comparison of the growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) when fed soybean, narrow-leaf or yellow lupin kernel meals in extruded diets. *Aquaculture Nutrition* 17, 317–325.
- Glencross, B.D., M. Bermudes, 2012. Using a bioenergetic modelling approach to understand the implications of heat stress on barramundi (*Lates calcarifer*) growth, feed utilisation and optimal protein and energy requirements - Options for adapting to climate change? *Aquaculture Nutrition* 18, 411–422.
- Glencross, B.D., D. Blyth, S.J. Tabrett, N. Bourne, S. Irvin, T. Fox-Smith and R.P. Smullen, 2012. An assessment of cereal grains and other starch sources in diets for barramundi (*Lates calcarifer*) – implications for nutritional and functional qualities of extruded feeds. *Aquaculture Nutrition* 18, 388–399.
- Glencross, B. D., Blyth, D., Irvin, S., Bourne, N., Wade, N., 2014. An analysis of the effects of different dietary macronutrient energy sources on the growth and energy partitioning by juvenile barramundi, *Lates calcarifer*, reveal a preference for protein-derived energy. *Aquaculture Nutrition*, 20, 583–594.
- Glencross, B.D., Wade, N., Morton, K., 2014. *Lates calcarifer* Nutrition and Feeding Practices. In: *Biologia and culture of Asina Seabass Lates calcarifer*. Editor Dean R. Jerry. 318.
- Goytortúa-Bores, E., Civera-Cerecedo, R., Rocha-Meza, S., Green Yee, A., 2006. Partial replacement of red crab (*Pleuroncodes planipes*) meal for fish meal in practical diets for the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Effects on growth and in vivo digestibility. *Aquaculture* 256, 414–422.
- Hagen, S.R., Frost, B., Augustin, J., 1989. Precolumn phenylisothiocyanate derivatization and liquid-chromatography of amino acids in food. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 72 (6), 912-916.
- Hansen, J.O., Storebakken, T., 2007. Effects of dietary cellulose level on pellet and nutrient digestibility in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 272, 458-465.
- Hertrampf, J.W. and Piedad-Pascual, F., 2001. *Handbook on Ingredients for Aquaculture Feeds*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht-Boston-London.

- IAL, 2005. Instituto Adolfo Lutz: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 4. ed, São Paulo: IMESP, p. 748.
- Krogdahl, A., Penn, M., Thorsen, J., Refstie, S. & Bakke, A.M., 2010. Important antinutrients in plant feedstuffs for aquaculture: an update on recent findings regarding responses in salmonids. *Aquaculture Research* 41, 333–344.
- Lall, S.P. 1991. Digestibility, metabolism and excretion of dietary phosphorus in fish. In *Nutritional strategies and aquaculture waste*, ed. C.B. Cowey, C.Y. Cho, 21–36. Guelph, Canada: University of Guelph.
- Laining, A., Ahmad, T., Williams, K., 2003. Apparent digestibility of selected feed ingredient for humpback grouper *Cromileptes altivelis*. *Aquaculture* 218, 529–538.
- Lee, S. M., 2002. Apparent digestibility coefficients of various feed ingredients for juvenile and grower rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Aquaculture* 207, 79– 95.
- Li, P., Wang, X., Hardy, R.W., Gatlin, D.M., 2004. Nutritional value of fisheries by-catch and by-product meals in the diet of red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture* 236, 485–496.
- Lu, F.; Haga, Y.; Satoh, S., 2015 Effects of replacing fish meal with rendered animal protein and plant protein sources on growth response, biological indices, and amino acid availability for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Japanese Society of Fisheries Science*, vol. 81, p. 95–105.
- Lupatsch, L. I.; Kissil, G. W. M., 1997. Apparent digestibility coefficients of feed ingredients and their predictability in compound diets for gilthead seabream, *Sparus aurata*. National Center for Mariculture, Israel Oceanographic & Limnological Research, Eilat, Israel D. SKLAN Faculty of Agriculture, Hebrew University of Jerusalem, Rehovot, Israel E. PFEFFER Institut für Tierernährung der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Bonn, Germany *Aquaculture Nutrition* 3; 81–89.
- Masumoto, T., Ruchimat, T., I., Yoshiaki; Hosokawa, H., Shimeno, S., 1996. Amino acid availability values for several protein sources for yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) *Aquaculture* 146, 109-119.
- McMeniman, N. 1998. The apparent digestibility of feed ingredients based on stripping methods. In: *Fishmeal Replacement in Aquaculture Feeds for Barramundi* (K.C. Williams Ed.). Project 93/120-04. Final Report to Fisheries R&D Corporation. Canberra, Australia, pp. 46–70.
- McGoogan, B.B.; Reigh, R.C., 1996. Apparent digestibility of selected ingredients in red drum (*Sciaenops ocellatus*) diets. *Aquaculture* 141, 233-244.

- Montagne, L.; Pluske, J. R.; Hampson, D. J. A review of interaction between dietary fibre and the mucosa, and their consequences on digestive health in Young non-ruminant animals, 2003. *Animal Feed Science and Technology* 108, 95-117.
- MPA (2012) Ministério da Pesca e Aquicultura. Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura 2011. Brasília-DF, 60 p.
- Nose, T. On the digestion of food protein by gold-fish (*Carassius auratus* L.) and rainbow trout (*Salmo irideus* G.), 1960. *Bull. Freshw. Fish Res. Lab.*, 10, 11–22.
- NRC. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. Animal Nutrition Series. The National Academies Press, Washington, D.C, 2011.
- Olim, C.P.R., 2012. Apparent Digestibility Coefficient of Feed Ingredients for Juvenile Meagre (*Argyrosomus regius*, Asso 1801). (MSc Thesis) Faculdade de Ciências. Universidade do Porto 79.
- Passini, G.; Carvalho, C.V.A.; Sterzelecki, F.C.; Cerqueira, V.R., 2014. Induction of sex inversion in common snook (*Centropomus undecimalis*) males, using 17 β -estradiol implants. *Aquaculture Research*, vol. 45, p. 1-10, 2014.
- Pethiyagoda, R., Gill, A. C., 2014. Taxonomy and distribution of Indo-Pacific *Lates*. In: *Biology and culture of Asian seabass Lates calcarifer*. Editor Dean R. Jerry. 318.
- Pitz, S. Especialista produz com sucesso alevinos de robalo-flecha. *Panorama da Aquicultura*, vol. 114, p. 58-59, 2009.
- Pope, K.L., Blankinship, D.R., Fisher, M., Patino, R., 2006. Status of the common snook (*Centropomus undecimalis*) in Texas. *Texas Journal of Science* 58, 325-332.
- Rana, K.J., Siriwardena, S., Hasan, M.R., 2009. Impact of rising feed ingredient prices on aquafeeds and aquaculture production. *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper*. No. 541. Food and Agriculture Organization, Rome. URL:<http://www.fao.org/docrep/012/ill43e/ill43e00.htm>
- Riche, M., 2015. Nitrogen utilization from diets with refined and blended poultry by-products as partial fish meal replacements in diets for low-salinity cultured Florida pompano, *Trachinotus carolinus*, *Aquaculture*, 435, 458–466.
- Rodrigues, L. A., Fabregat, T. E. H. P., Fernandes, J. B.K., Nascimento, T. M.T., Sakomura, N. K., 2010. Digestibilidade e tempo de trânsito gastrointestinal de dietas contendo níveis crescentes de fibra bruta para pacu. *Acta Scientiarum*, 32 (2), 169-173.
- Silva, A. L. N.; Almeida, R. F. B.; Pereira, J. A., 1998. Comportamento predatório do robalo-flecha, *Cetropomus undecimalis* (Bloch, 1792) em condições de laboratório. *Trabalhos Oceanográficos da UFPE, Recife*, 26 (2), 85-97.

- Sinha, A., Kumar, V., Makkar, H., Boeck, G., Becker, K., 2011. Non-starch polysaccharides and their role in fish nutrition — a review. *Food Chem.* 127, 1409–1426.
- Sun, H., Tang, J.W., Yao, X. H., Wua, Y. F., Wang, X, Liua, Y., Loub, B., 2015. Partial substitution of fish meal with fermented cottonseed meal in juvenile black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*) diets. *Aquaculture* 446 30–36.
- Sullivan, J. A., Reigh, R. C., 1995. Apparent digestibility of selected feedstuffs in diets for hybrid striped bass (*Morone saxatilis* X *Morone chrysops*). *Aquaculture* 138, 313-322.
- Tabrett, S., David Blyth, Nicholas Bourne, Brett Glencross, 2012. Digestibility of *Lupinus albus* lupin meals in barramundi (*Lates calcarifer*). *Aquaculture* 364–365, 1–5.
- Terrazas-Fierro, M., Civera-Cerecedo, R., Ibarra-Martínez, L., Goytortúa-Bores, E, Herrera-Andrade, M., Reyes-Becerra, A., 2010. Apparent digestibility of dry matter, protein, and essential amino acid in marine feedstuffs for juvenile whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 308, 166–173.
- Terrazas-Fierro, M., Ávila-González, E., Cuca-García, M., Nolasco-Soria, H., 2005. Efecto de la incorporación de harina de pescado con distinto grado de cocción a dietas para pollos de engorda formuladas a un perfil de aminoácidos digestibles. *Téc. Pecu. Mex.* 43, 297–308.
- Tibbetts, S. M., Milley, J. E., Lall, S. P., 2006. Apparent protein and energy digestibility of common and alternative feed ingredients by Atlantic cod, *Gadus morhua* (Linnaeus, 1758) *Aquaculture* 261, 1314–1327.
- Tomás-Vidal, S.; Martínez-Llorens, S.; Jambrina, C.; González, R. S.; Cerdá, M. J., 2011. Effects of dietary soybean meal on growth, nutritive efficiency and body composition of cultured tench (*Tinca tinca*). *Journal of Applied Ichthyology* 27, 892–896.
- Trullàs, C., Fontanillas, R., Tres, A.; Sala, R., 2015. Vegetable re-esterified oils in diets for rainbow trout: Effects on fatty acid digestibility. *Aquaculture* 444, 28–35.
- Wang, J., Yun, B., Min Xue, M., Wu, X., Zheng, Y., Li, P., 2012. Apparent digestibility coefficients of several protein sources, and replacement of fishmeal by porcine meal in diets of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*, are affected by dietary protein levels. *Aquaculture Research*, 43, 117–127.
- Wenk, C. The role of fibre in digestive physiology of the pig, 2003. *Animal Feed Science and Technology*, 90, 21-33.
- Winner, B.L., Blewett, D.A., McMichael, R.H.Jr., Guenther C.B., 2010. Relative abundance and distribution of common snook along shoreline habitats of Florida estuaries. *Transactions of the American Fisheries Society*, 139, 62-79.

- Yang, Y.H., Wang, Y.Y., Lu, Y., Li, Q.Z., 2011. Effect of replacing fish meal with soybean meal on growth, feed utilization and nitrogen and phosphorus excretion on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture International*, 19, 405-419.
- Yamamoto, T., Akimoto, A., Kishi, S., Unuma, T., Akiyama, T., 1998. Apparent and True Availabilities of Amino Acids from Several Protein Sources for Fingerling Rainbow Trout, Common Carp, and Red Sea Bream. *Fisheries Science*, 64(3), 448-458.
- Yu, H.-R., Zhang, Q., Cao, H. Wang, X.-Z., Huang, G.-Q, Zhang, B.-R., Fan, J.-J., Liu, S.-W, Li, W.-Z, Cui, Y., 2013 Apparent digestibility coefficients of selected feed ingredients for juvenile snakehead, *Ophiocephalus argus*. *Aquaculture Nutrition*, 19, 139-147.
- Zhou, Qi-Cun, Tan, Bei-Ping, Mai, Kang-Senc, Liu, Yong-Jian, 2004. Apparent digestibility of selected feed ingredients for juvenile cobia *Rachycentron canadum*. *Aquaculture*, 241, 441–451.

Tabela 1 – Formulação (g.kg⁻¹ MS) da dieta referência e dietas-teste para a determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente de diferentes ingredientes para o robalo-flecha (*Centropomus undecimalis*).

	Dieta referência	Dietas teste
Farinha de peixe	640	448,0
Óleo de peixe ¹	100	70,0
Celulose ²	124	86,8
Glúten de trigo ³	130	91,0
Cr ₂ O ₃ ⁴	1	0,7
Premix vitaminas e minerais ⁵	5	3,5
Ingrediente teste	-	300,0

¹ Grupo Guabi, Goiana, PE, Brazil.

² Microfine Cellulose (98% purity), RHOSTER

³ Wheat gluten Vidal, Feed grade, Tradal Brazil, Jandira, SP, Brazil.

⁴ VETEC, Brazil.

⁵ Rovimix Fish (UI kg⁻¹ ou g kg⁻¹ de premix): vitamina A, 5,0 MUI; vitamina D3, 0,20 MIU; vitamina E, 5.000 UI; vitamina K3, 1,0g; vitamina B1, 1,5 g; vitamina B2, 1,5 g; vitamina B6, 1,5 g; vitamina B12, 4,0 g; biotina, 0,05 g; vitamina C, 50 g; colina, 40 g; inositol, 1,0 g; etoxiquina, 12,25 g; cobre, 0,5 g; magnésio, 1,5 g; zinco, 5,0 g; ácido fólico, 0,5 g; ácido pantotênico, 4,0 g; nicotinamida, 7,0 g; cobalto, 0,01 g; ferro, 5,0 g; iodo, 0,05 g; selênio, 0,01g.

Tabela 2 – Composição química (g.kg⁻¹ MS) e perfil de aminoácidos (g.kg⁻¹ MS) da farinha de peixe (FP), farinha de camarão (FC), farinha de vísceras de aves (FVA), farinha de pena hidrolisada (FPH), farelo de soja (FS), farelo de glúten de milho (FGM), farelo de trigo (FT) e farinha de milho (FM) utilizados na determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente do robalo-flecha (*Centropomus undecimalis*).

	FP ¹	FC ²	FVA ³	FPH ⁴	FS ⁵	FGM ⁶	FT ⁷	FM ⁸
Matéria seca	906	939	942	884	881	912	876	869
Proteína bruta	720	451	722	894	531	680	167	85
Extrato etéreo	90	69	145	75	26	73	49	47
Matéria mineral	129	365	117	30	69	33	54	12
Fósforo	24	30	20	4	8	5	13	3
⁺ Carboidratos	61	115	16	1	374	214	730	856
Energia bruta (MJ kg ⁻¹)	21,6	13,3	23,0	24,1	19,0	22,4	16,6	18,1
Alanina	50	30	47	42	22	64	9	7
Arginina*	50	27	57	68	45	25	15	4
Ácido aspártico	64	21	62	66	65	37	14	6
Cistina	10	4	8	9	6	6	3	1
Glutamato	94	43	104	106	103	147	32	16
Glicina	80	58	81	78	27	21	11	4
Histidina*	22	6	22	12	15	14	5	2
Isoleucina*	23	14	24	39	21	24	5	3
Leucina*	46	24	50	73	40	111	11	11
Lisina*	43	17	45	25	31	13	7	3
Metionina*	19	9	17	6	6	14	2	1
Fenilalanina*	24	15	26	42	26	40	6	4
Prolina	43	30	53	96	32	62	12	8
Serina	32	16	33	104	30	37	8	4
Taurina	12	5	3	1	1	1	1	1
Treonina*	30	13	28	43	20	20	5	3
Tirosina	19	10	21	26	18	35	5	3
Valina*	30	17	28	57	22	27	7	4

¹ Pesquera Pacific Star, Salmonoil S.A. Sector La Campana S/A, Calbuco, Chile.

² Nicoluzzi Rações Ltda., Penha, SC, Brasil.

³ IRCA Nutrição Animal, Carpina, PE, Brasil.

⁴ Nutreco Brasil. Avivar Alimentos – São Sebastião do Oeste, MG, Brasil.

⁵ Bunge, Luis Eduardo Magalhães – BA, Brasil.

⁶ Ingredion Brasil Ing. Ind. Ltda. Cabo de Santo Agostinho, PE, Brasil.

⁷ Pena Branca, Recife, PE, Brasil.

⁸ Supranor, Recife, PE, Brasil.

⁺Estimado pela diferença: 100 - (PB + EE + MM), no qual se inclui a fibra bruta.

*Aminoácidos essenciais

Tabela 3 – Composição química (g.kg^{-1} MS) e perfil de aminoácidos (g.kg^{-1} MS) das dietas referência (R) e testes (farinha de peixe - FP, farinha de camarão - FC, farinha de vísceras de aves - FVA, farinha de pena hidrolisada - FPH, farelo de soja - FS, farelo de glúten de milho - FGM, farelo de trigo - FT, e farinha de milho - FM) utilizados na determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente do robalo-flecha (*Centropomus undecimalis*).

Nutrientes/Dietas	R	FP	FC	FVA	FPH	FS	FGM	FT	FM
Matéria seca	950	960	970	950	965	962	970	958	966
Proteína bruta	567	589	474	612	620	520	564	442	400
Extrato etéreo	160	178	155	147	152	132	163	156	140
Matéria mineral	99	116	180	102	77	88	66	86	74
Fósforo	15	16	17	16	11	13	18	14	12
⁺ Carboidratos	17	12	19	14	15	26	21	32	39
Energia bruta (MJ kg^{-1})	23	23	21	23	23	22	23	22	22
Alanina	33	34	30	34	30	26	35	24	21
Arginina*	31	34	28	34	37	31	26	26	20
Ácido aspártico	39	44	30	38	47	47	39	31	30
Cistina	8	10	7	7	22	11	13	8	8
Glutamato	103	89	75	167	91	93	105	73	69
Glicina	62	54	50	61	48	37	34	36	31
Histidina*	16	13	10	17	12	12	12	10	9
Isoleucina*	20	22	18	19	29	24	24	16	17
Leucina*	40	39	33	39	46	38	58	29	28
Lisina*	36	35	27	38	29	32	25	24	22
Metionina*	11	16	13	8	12	11	14	10	10
Fenilalanina*	22	22	19	18	28	24	28	17	17
Prolina	54	40	37	49	48	34	42	31	28
Serina	27	26	21	25	42	23	26	19	17
Taurina	7	9	6	5	5	5	4	5	5
Treonina*	19	23	18	20	25	19	19	16	14
Tirosina	15	17	14	15	19	17	22	12	12
Valina*	20	28	34	18	37	26	28	21	20

⁺Estimado pela diferença: $100 - (\text{PB} + \text{EE} + \text{MM})$, no qual se inclui a fibra bruta.

*Aminoácidos essenciais

Tabela 4 – Médias (\pm IC) dos coeficientes da digestibilidade aparente (%) da matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), matéria mineral (MM), fósforo (P) e energia bruta (EB) da farinha de peixe (FP), farinha de camarão (FC), farinha de vísceras de aves (FVA), farinha de pena hidrolisada (FPH), farelo de soja (FS), farelo de glúten de milho (FGM), farelo de trigo (FT) e farinha de milho (FM) para juvenis de robalo-flecha (*Centropomus undecimalis*).

Dietas/Nutrientes	MS	PB	EE	MM	P	EB
FP	122,0 ^b (\pm 1,0)	100,1 ^b (\pm 0,3)	98,8 ^{ab} (\pm 0,2)	75,2 ^b (\pm 0,9)	88,3 ^b (\pm 0,3)	118,6 ^a (\pm 0,4)
FC	105,2 ^c (\pm 1,2)	96,6 ^{bc} (\pm 0,1)	98,3 ^b (\pm 0,1)	64,1 ^c (\pm 0,7)	80,6 ^c (\pm 2,2)	117,4 ^a (\pm 0,7)
FVA	85,5 ^d (\pm 18,1)	94,4 ^e (\pm 1,8)	93,5 ^d (\pm 3,2)	37,4 ^{de} (\pm 12,0)	80,7 ^c (\pm 2,8)	92,4 ^c (\pm 9,8)
FPH	141,5 ^a (\pm 3,3)	101,6 ^{ab} (\pm 0,3)	91,1 ^e (\pm 0,1)	90,3 ^a (\pm 0,6)	98,0 ^a (\pm 1,0)	102,7 ^b (\pm 1,1)
FS	82,9 ^d (\pm 5,9)	97,6 ^{bc} (\pm 1,4)	95,0 ^c (\pm 1,3)	28,8 ^e (\pm 5,4)	80,4 ^c (\pm 2,2)	86,8 ^{cd} (\pm 0,5)
FGM	145,9 ^a (\pm 0,2)	102,5 ^a (\pm 0,1)	99,8 ^a (\pm 0,1)	97,8 ^a (\pm 0,1)	99,8 ^a (\pm 0,0)	105,5 ^b (\pm 0,1)
FT	101,0 ^c (\pm 4,0)	98,1 ^c (\pm 0,2)	95,2 ^c (\pm 0,3)	66,2 ^{bc} (\pm 2,2)	88,5 ^b (\pm 0,6)	92,1 ^c (\pm 1,6)
FM	101,4 ^c (\pm 8,9)	96,0 ^{de} (\pm 1,7)	95,7 ^c (\pm 0,8)	47,8 ^d (\pm 13,0)	83,3 ^{bc} (\pm 3,0)	89,7 ^{cd} (\pm 3,5)
CV (%)	2,83	0,60	0,42	5,76	2,65	1,10

Letras sobrescritas em cada coluna indicam diferenças significativas (P<0,05).

CV = Coeficiente de variação de Person.

Tabela 5 - Médias (\pm IC) dos coeficientes de digestibilidade aparente (%) dos aminoácidos da farinha de peixe (FP), farinha de camarão (FC), farinha de vísceras de aves (FVA), farinha de pena hidrolisada (FPH), farelo de soja (FS), farelo de glúten de milho (FGM), farelo de trigo (FT) e farinha de milho (FM) para juvenis de camurim (*Centropomus undecimalis*).

	FP	FC	FVA	FPH	FS	FGM	FT	FM	CV (%)
Alanina*	101,1 \pm 0,3 ^{ab}	101,6 \pm 0,1 ^{ab}	93,4 \pm 0,3 ^{ab}	102,6 \pm 2,1 ^{ab}	97,7 \pm 2,3 ^{ab}	102,8 \pm 0,0 ^{ab}	106,6 \pm 1,7 ^a	88,1 \pm 19,0 ^b	5,22
Arginina	96,0 \pm 0,1	95,2 \pm 0,1	100,0 \pm 2,1	96,2 \pm 0,4	97,3 \pm 0,5	92,5 \pm 0,1	94,2 \pm 0,4	103,8 \pm 19,0	5,23
Ácido aspártico	108,2 \pm 0,6 ^{ab}	117,7 \pm 1,5 ^{ab}	89,2 \pm 9,9 ^b	110,4 \pm 3,1 ^{ab}	110,0 \pm 2,8 ^{ab}	122,5 \pm 0,6 ^{ab}	128,8 \pm 3,9 ^{ab}	134,2 \pm 48,0 ^a	9,00
Cistina	103,5 \pm 0,5 ^{ab}	120,3 \pm 1,2 ^a	81,5 \pm 7,8 ^b	108,8 \pm 0,1 ^{ab}	97,9 \pm 10,0 ^{ab}	116,3 \pm 0,2 ^{ab}	111,5 \pm 3,2 ^{ab}	115,2 \pm 40,0 ^{ab}	9,40
Glutamato	100,8 \pm 0,2	101,9 \pm 0,1	99,0 \pm 1,2	100,5 \pm 0,9	98,9 \pm 0,8	101,2 \pm 0,0	101,0 \pm 0,9	95,6 \pm 12,0	3,30
Glicina	101,6 \pm 0,4	101,7 \pm 0,4	93,5 \pm 2,9	102,6 \pm 1,2	96,2 \pm 2,0	102,7 \pm 0,2	101,5 \pm 1,0	85,5 \pm 25,0	5,50
Histidina*	99,5 \pm 2,5 ^a	102,4 \pm 0,7 ^a	88,3 \pm 1,2 ^{ab}	104,7 \pm 6,9 ^a	94,6 \pm 5,3 ^{ab}	109,5 \pm 0,1 ^a	106,8 \pm 3,4 ^a	69,3 \pm 33,0 ^b	9,00
Isoleucina*	101,7 \pm 1,6 ^{ab}	103,0 \pm 0,2 ^{ab}	88,9 \pm 0,1 ^b	102,1 \pm 1,5 ^{ab}	99,6 \pm 2,5 ^{ab}	105,5 \pm 0,1 ^a	112,8 \pm 2,5 ^a	99,1 \pm 18,0 ^{ab}	4,60
Leucina*	102,5 \pm 2,6 ^{abc}	105,2 \pm 0,4 ^{bc}	81,5 \pm 5,9 ^c	102,7 \pm 3,7 ^{abc}	97,7 \pm 4,8 ^{abc}	103,4 \pm 0,1 ^{abc}	111,3 \pm 2,7 ^a	88,3 \pm 26,0 ^{bc}	7,00
Lisina*	100,3 \pm 0,3 ^{ab}	101,9 \pm 0,3 ^{ab}	95,3 \pm 2,5 ^{ab}	102,6 \pm 2,7 ^{ab}	99,0 \pm 2,0 ^{ab}	109,5 \pm 0,0 ^a	103,3 \pm 1,5 ^{ab}	81,7 \pm 29,0 ^b	6,70
Metionina*	101,4 \pm 0,3 ^{ab}	104,4 \pm 0,4 ^{ab}	88,9 \pm 1,4 ^b	110,4 \pm 0,8 ^{ab}	106,5 \pm 3,0 ^{ab}	105,6 \pm 0,0 ^{ab}	120,7 \pm 2,0 ^a	109,5 \pm 29,0 ^{ab}	6,70
Fenilalanina*	100,4 \pm 1,7 ^{ab}	102,5 \pm 0,2 ^{ab}	86,2 \pm 3,5 ^b	101,9 \pm 1,7 ^{ab}	98,6 \pm 2,1 ^{ab}	103,5 \pm 0,0 ^{ab}	108,3 \pm 1,8 ^a	91,7 \pm 22,0 ^{ab}	5,88
Prolina	100,0 \pm 0,2 ^{ab}	100,4 \pm 0,2 ^{ab}	91,2 \pm 5,4 ^{ab}	100,3 \pm 1,1 ^{ab}	94,0 \pm 4,4 ^{ab}	102,7 \pm 0,1 ^a	101,0 \pm 1,3 ^{ab}	81,2 \pm 27,0 ^b	7,00
Serina	100,0 \pm 0,3	100,0 \pm 0,21	87,0 \pm 6,6	100,0 \pm 1,0	96,2 \pm 3,0	100,0 \pm 0,1	100,0 \pm 1,2	88,0 \pm 35,0	9,00
Taurina	102,0 \pm 0,0 ^c	101,2 \pm 0,8 ^c	91,7 \pm 5,2 ^d	108,2 \pm 1,2 ^{ab}	101,2 \pm 1,7 ^c	110,2 \pm 0,5 ^a	101,1 \pm 1,1 ^b	103,7 \pm 5,0 ^{cd}	1,44
Treonina*	103,0 \pm 0,4	105,0 \pm 0,5	89,7 \pm 3,4	102,0 \pm 0,2	99,3 \pm 1,9	108,0 \pm 0,2	118,0 \pm 2,0	100,0 \pm 40,0	12,00
Tirosina	100,0 \pm 3,4	100,0 \pm 4,3	88,6 \pm 1,5	100,0 \pm 1,6	99,2 \pm 2,9	100,0 \pm 2,7	106,0 \pm 10,0	89,7 \pm 25,0	7,60
Valina*	102,4 \pm 0,5	107,0 \pm 0,2	84,0 \pm 2,0	101,7 \pm 0,6	100,0 \pm 2,4	107,0 \pm 0,0	116,0 \pm 1,8	106,0 \pm 21,0	5,41

Letras sobrescritas em cada linha indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

CV = Coeficiente de variação de Person.

*Aminoácidos essenciais

Tabela 6 - Coeficientes de digestibilidade aparente (%) de ingredientes utilizados no presente estudo para outras espécies de peixes marinhos.

Ingredientes	Inclusão (%)	MS	PB	EE	EB	P	Método	Referência	Espécie
<i>Produtos de origem marinha</i>									
Farinha de peixe – Equador	50	96,8	97,2	99,6	97,2	n.a.	Sedimentação	Booth et al. (2013)	<i>Argyrosomus japonicus</i>
Farinha de peixe – Peru	50	95,2	96,4	99,0	97,8	n.a.	Sedimentação	Booth et al. (2013)	<i>Argyrosomus japonicus</i>
Farinha de peixe – Peru	30	n.a.	93,9	n.a.	92,8	n.a.	Sedimentação	Olim (2012)	<i>Argyrosomus regius</i>
Farinha de peixe - Skreting	30	n.a.	93,5	92,6	87,9	n.a.	Sedimentação	Davies et al. (2009)	<i>Dicentrarchus labrax</i>
Farinha de peixe - Skreting	30	n.a.	87,5	83,4	82,8	n.a.	Sedimentação	Davies et al. (2009)	<i>Sparus aurata</i>
Farinha de peixe - Skreting	30	n.a.	84,9	79,9	74,5	n.a.	Sedimentação	Davies et al. (2009)	<i>Psetta maxima</i>
Farinha de peixe - Herring	30	n.a.	93,3	n.a.	92,8	n.a.	Sedimentação	Tibbetts et al. (2006)	<i>Gadus morhua</i>
Farinha de peixe - Anchova	30	n.a.	92,2	n.a.	86,2	n.a.	Sedimentação	Tibbetts et al. (2006)	<i>Gadus morhua</i>
Farinha de peixe – Peru	30	87,5	96,3	95,8	95,5	71,2	Sedimentação	Zhou et al. (2004)	<i>Rachycentron canadum</i>
Farinha de peixe - Select Menhaden	30	83,9	81,5	95,1	81,9	23,2	Extrusão	Li et al. (2004)	<i>Sciaenops ocellatus</i>
Farinha de peixe - Sardinha	40	87,2	92,5	n.a.	85,2	n.a.	Sedimentação	Laining et al. (2003)	<i>Cromileptes altivelis</i>
Farinha de peixe - Select Menhaden	30	93,6	87,9	87,2	95,0	50,3	Extrusão	Gaylord e Gatlin (1996)	<i>Sciaenops ocellatus</i>
Farinha de peixe - Regular Menhaden	30	93,7	76,9	67,6	92,1	47,9	Extrusão	Gaylord e Gatlin (1996)	<i>Sciaenops ocellatus</i>
Farinha de peixe - Menhaden	30	n.a.	95,9	n.a.	60,1	n.a.	Extrusão	McGoogan e Reigh (1996)	<i>Sciaenops ocellatus</i>
Farinha de peixe - Menhaden	30	83,7	88,2	n.a.	95,5	n.a.	Extrusão	Sullivan e Reigh (1995)	Híbrido de <i>M. saxatilis</i> (♀) x <i>M. chrysops</i> (♂)
Farinha “rejeito” de camarão	30	73,2	63,9	83,6	87,0	35,1	Extrusão	Li et al., (2004)	<i>Sciaenops ocellatus</i>
Farinha de cabeça de camarão	40	58,5	78,0	n.a.	63,6	n.a.	Sedimentação	Laining et al. (2003)	<i>Cromileptes altivelis</i>
<i>Produtos de animais terrestres</i>									
Farinha de carne de aves	30	n.a.	85,5	79,2	71,5	n.a.	Sedimentação	Davies et al. (2009)	<i>Dicentrarchus labrax</i>
Farinha de carne de aves	30	n.a.	79,2	85,7	71,6	n.a.	Sedimentação	Davies et al. (2009)	<i>Sparus aurata</i>
Farinha de carne de aves	30	n.a.	78,4	52,6	45,2	n.a.	Sedimentação	Davies et al. (2009)	<i>Psetta máxima</i>

n.a. = não aplicável. MS = matéria seca, PB = proteína bruta, EE = extrato etéreo, EB = energia bruta.

Continuação Tabela 6 - Estimativas de coeficientes de digestibilidade aparente...

Farinha víscera de aves	30	n.a.	80,2	n.a.	71,0	n.a.	Sedimentação	Tibbetts et al. (2006)	<i>Gadus morhua</i>
Farinha víscera de aves	30	n.a.	39,7	n.a.	52,5	n.a.	Extrusão	McMeniman (1998)	<i>Lates calcarifer</i>
Farinha víscera de aves	30	75,6	48,7	59	71,7	26,5	Extrusão	Gaylord e Gatlin (1996)	<i>Sciaenops ocellatus</i>
Farinha de pena	50	62,6	57,3	60,5	61,5	n.a.	Sedimentação	Booth et al. (2013)	<i>Argyrosomus japonicus</i>
Farinha de pena hidrolisada	30	n.a.	74,8	n.a.	67,9	n.a.	Extrusão	Glancross et al. (2011)	<i>Lates calcarifer</i>
Farinha de pena tratada enzimaticamente	30	n.a.	68,2	49,5	61,4	n.a.	Sedimentação	Davies et al. (2009)	<i>Dicentrarchus labrax</i>
Farinha de pena tratada enzimaticamente	30	n.a.	21,7	33,4	34,7	n.a.	Sedimentação	Davies et al. (2009)	<i>Sparus aurata</i>
Farinha de pena tratada enzimaticamente	30	n.a.	36,0	n.a.	n.a.	n.a.	Sedimentação	Davies et al. (2009)	<i>Psetta maxima</i>
Farinha de pena hidrolisada	30	n.a.	62,4	n.a.	58,9	n.a.	Sedimentação	Tibbetts et al. (2006)	<i>Gadus morhua</i>
<i>Cereais e grãos</i>									
Trigo	30	n.a.	100,2	n.a.	65,2	n.a.	Extrusão	Glencross et al. (2011)	<i>Lates calcarifer</i>
Farelo de trigo	30	n.a.	101,9	n.a.	98,8	n.a.	Extrusão	McMeniman (1998)	<i>Lates calcarifer</i>
Farelo de trigo	30	n.a.	87,4	n.a.	33,7	n.a.	Extrusão	McGoogan e Reigh (1996)	<i>Sciaenops ocellatus</i>
Farelo de trigo	30	50,0	91,9	n.a.	60,7	n.a.	Extrusão	Sullivan e Reigh (1995)	Híbrido de <i>M. saxatilis</i> (♀) x <i>M. chrysops</i> (♂)
Milho	30	n.a.	149,9	n.a.	43,2	n.a.	Extrusão	Glencross et al. (2012)	<i>Lates calcarifer</i>
Milho	30	n.a.	99,6	n.a.	40,6	n.a.	Sedimentação	Olim (2012)	<i>Argyrosomus regius</i>
Farelo glúten de milho	30	n.a.	99,9	n.a.	91,4	n.a.	Sedimentação	Olim (2012)	<i>Argyrosomus regius</i>
Farelo glúten de milho	30	84,6	94,4	96,0	94,2	69,76	Sedimentação	Zhou et al. (2004)	<i>Rachycentron canadum</i>
Farelo glúten de milho	30	n.a.	99,9	n.a.	95,4	n.a.	Sedimentação	Tibbetts et al. (2006)	<i>Gadus morhua</i>
Farelo de soja (solvente extraído)	30	n.a.	103,4	n.a.	65,5	n.a.	Extrusão	Glencross et al. (2011)	<i>Lates calcarifer</i>
Farelo de soja	30	54,8	67,2	n.a.	51,1	n.a.	Sedimentação	Laining et al. (2003)	<i>Cromileptes altivelis</i>
Farelo de soja desengordurada (solvente extraído)	30	68,3	90,9	92,3	86,9	59,3	Sedimentação	Zhou et al. (2004)	<i>Rachycentron canadum</i>

n.a. = não aplicável.

Continuação Tabela 6 - Estimativas de coeficientes de digestibilidade aparente...

Farelo de soja desengordurada (tostado solvente extraído)	30	70,5	92,8	95,3	90,6	60,4	Sedimentação	Zhou et al. (2004)	<i>Rachycentron canadum</i>
Farelo de soja (solvente extraído)	30	n.a.	86,0	n.a.	69,4	n.a.	Extrusão	McMeniman (1998)	<i>Lates calcarifer</i>
Farelo de soja (“full-fat”)	30	n.a.	84,8	n.a.	75,9	n.a.	Extrusão	McMeniman (1998)	<i>Lates calcarifer</i>

n.a. = não aplicável.

4. 2- Normas da Revista Aquaculture

Section Editors: B. Austin, J. A. H. Benzie, B.A. Costa-Pierce, A.P. Farrell, D.M. Gatlin, G. Hulata, D.C. Little, M.T. Viana

ISSN: 0044-8486

<https://www.elsevier.com/journals/aquaculture/0044-8486/guide-for-authors>

Copyright © 2016 Elsevier B.V.

4.3 - Artigo científico II

Artigo científico a ser encaminhado a Revista Fish Physiology and Biochemistry.

Todas as normas de redação e citação, deste capítulo, atendem as estabelecidas pela referida revista (em anexo).

Avaliação das enzimas digestivas de juvenis de robalo-flecha (*Centropomus undecimalis*) alimentados com dietas contendo diferentes ingredientes proteicos e energéticos.

Reginaldo Florêncio da Silva Júnior^(1, 2 e 6), Janilson Félix da Silva^(3, 4), Renata C. P. França⁽⁴⁾, Marina Marcuschi⁽⁴⁾, Ranilson S. Bezerra⁽⁴⁾ Álvaro José de Almeida Bicudo⁽⁵⁾, Ronaldo Olivera Cavalli^(1 e 6)

⁽¹⁾Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura, Universidade Federal Rural de Pernambuco Recife, PE.

⁽²⁾Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, PE.

⁽³⁾Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, AM.

⁽⁴⁾Laboratório de Enzimologia, Departamento de Bioquímica e Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE.

⁽⁵⁾Laboratório de Pesquisa em Piscicultura, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns, PE.

⁽⁶⁾Laboratório de Piscicultura Marinha, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE.

E-mails: rfsilvajunior@gmail.com, ronaldocavalli@gmail.com

Resumo

O grande crescimento da aquicultura e a limitada oferta de farinha de peixe significa que fontes alternativas de alimentos precisam ser estudadas para tornar a indústria mais sustentável. Para melhorar a utilização das dietas em peixes, é importante que, além da digestibilidade dos ingredientes, se conheça o perfil de enzimas digestivas do animal cultivado. O presente trabalho investigou os efeitos de uma dieta comercial (I) e nove experimentais, que incluíam diferentes ingredientes proteicos – Farinha de peixe (FP), farinha de camarão (FC), farinha víscera de aves (FVA), farinha de pena hidrolisada (FPH), farelo de soja (FS) e farelo de glúten de milho (FGM) - e energéticos – farelo de trigo (FT) e farinha de milho (FM). Uma dieta referência (REF) foi formulada em paralelo as dietas experimentais que incluiu 30% de cada ingrediente e 70% da dieta referência. O perfil das enzimas digestivas foi avaliado em juvenis de *Centropomus undecimalis*, espécie marinha com grande potencial aquícola. As atividades das peptidases, ácidas e alcalinas, mostraram diferença ($P < 0,05$) entre os peixes alimentados com todas as dietas. A atividade proteolítica total do intestino diferiu ($P < 0,05$) entre os tratamentos com maior intensidade nas dietas I, FP e FPH. Nos estudos com a tripsina, observou-se diferença ($P < 0,05$), com maior atividade enzimática nos peixes alimentados com a dieta comercial. A quimotripsina, mostrou maior proporção de enzimas nas dietas com ingredientes proteicos, exceto para a FVA, em relação aos energéticos. A amilase, também se mostrou alta nos ingredientes proteicos, exceto FGM. Não houve diferença ($P > 0,05$) para atividade específica da pepsina. As diferentes concentrações de extrato etéreo na dieta referência (REF) e conseqüentemente nas demais dietas experimentais, inibiram as atividades proteolítica alcalina total e de tripsina nos juvenis de robalo-flecha.

Palavras-chave: Peixe marinho, proteases, amilase, aminopeptidase.

Introdução

Considerado uma espécie marinha com grande potencial para a aquicultura, o *Centropomus undecimalis*, comumente chamado de camurim, robalo-flecha ou robalo-branco, é a maior entre todas as espécies do gênero *Centropomus* (Tucker, 2005; Froese e Pauly, 2007). É um peixe diádromo e eurialino, distribuídos em áreas tropicais e subtropicais da costa Oeste do Oceano Atlântico, desde o Cabo Canaveral, na Flórida, EUA, até o sul do Brasil (Pope et al., 2006). Possui alto valor (CEAGESP, 2015) e grande demanda no mercado (Alvarez-Lajonchère, 2004; Barón-Aguilar et al., 2013). Além disso, apresenta características de produção relevantes, como aceitação de dietas artificiais, baixo fator de conversão alimentar (de 0,7 a 1,0; Tucker, 1987), ampla tolerância a salinidade ($0-35\text{gL}^{-1}$), temperatura ($10-35^{\circ}\text{C}$) e oxigênio dissolvido ($0,9-1\text{mgL}^{-1}$) (Alvarez-Lajonchère e Tsuzuki, 2008), além de uma produção de files sem pele com rendimento de até 60% (Tucker, 2003).

Apesar do reconhecido potencial e conseqüentemente de vários anos dedicados à pesquisa e desenvolvimento (Souza Filho e Cerqueira, 2003; Ferraz, 2013; Liebl, 2013), a produção comercial dessa espécie ainda não ocorre no Brasil (MPA, 2012). O baixo desempenho de *C. undecimalis* nos estudos realizados no país (Wagner Jr. et al., 2000; Souza-Filho e Cerqueira, 2003; Mello, 2014), apresentaram taxas de crescimento específico (TCE) estimadas entre 0,55 e $1,92\%.\text{dia}^{-1}$, o que pode estar relacionada à deficiências nutricionais e/ou a mudanças ontogenéticas no metabolismo das enzimas digestivas.

Por ser uma espécie de hábito alimentar carnívoro oportunista (Silva e Pereira, 1997), e devido ao grande crescimento da aquicultura mundial e da limitada oferta de óleo e farinha de peixe (FP) (FAO, 2014), faz com que os pesquisadores busquem fontes alternativas de alimentos para tornar a indústria mais sustentável (Bell e Waagbø, 2008; Turchini et al., 2009; Lu, 2015). Vários estudos relatam a substituição da FP por outros ingredientes proteicos e energéticos de origem animal ou vegetal (Sarker et al., 2012; Booth et al., 2013; Kou et al., 2015; Wang et al., 2015; Riche, 2015; Sevgili et al., 2015). Porém, pouco se conhece sobre as formas como os processos digestivos e de absorção são afetados por essas modificações dietéticas. A utilização de ingredientes diversificados pode alterar a atividade de determinadas enzimas digestivas, no entanto, os animais podem passar por adaptações para um melhor aproveitamento dos nutrientes.

Estudos têm relatado as propriedades das enzimas digestivas em peixes, como proteases, lipases e carboidrases (Espósito et al., 2009; Marcuschi et al., 2010; Silva et al., 2011; Santos et al., 2013; Bkhairia et al., 2015; Khangembam e Chakrabarti, 2015; Lassoued et al., 2015) e

a digestibilidade dos ingredientes em rações (Zhou, et al., 2004; Davies et al., 2009; Glencross et al., 2011, 2012; Booth et al., 2013). No entanto, poucos avaliaram de forma isolada a influência da digestibilidade de ingredientes na atividade das enzimas digestivas (Murashita et al., 2015). Como a tecnologia básica de produção de formas jovens do robalo-flecha está disponível (Soligo et al., 2008 e 2011; Pitz, 2009; Carvalho et al., 2014; Passini et al., 2014) e em resposta à limitação na oferta mundial da FP, o uso das enzimas e do entendimento da fisiologia digestiva como ferramenta irá permitir a formulação de dietas balanceadas para esta espécie. Este estudo tem como objetivo investigar a atividade de enzimas digestivas em juvenis de *C. undecimalis* submetidos a dietas contendo diferentes fontes de proteína e energia.

Material e métodos

Cultivo experimental

O experimento foi conduzido no Laboratório de Piscicultura Marinha (LPM) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, PE. Os alevinos de robalo-flecha com peso médio (\pm DP) de 0,66 g (\pm 0,12) foram obtidos junto ao Laboratório de Piscicultura Marinha (LAPIMAR), Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC. No LPM/UFRPE, os peixes foram mantidos em tanques circulares (500 L) por um período de oito meses em salinidade de 20‰ e temperatura média de 28,5°C. Eles foram alimentados inicialmente com uma ração comercial de 800-1200 μ m (55,07% proteína bruta - PB; 10,06% extrato etéreo - EE e 10,28% matéria mineral - MM) e, posteriormente, com 1200-2000 μ m (52% PB; 9,5% EE e 15% MM), em quatro refeições diárias até a saciedade aparente.

O estudo de avaliação de ingredientes foi conduzido em tanques cilíndrico-cônicos de 300 L (Lee, 2002; Zhou et al., 2004) abastecidos com um fluxo de 3 L/min por um sistema de recirculação de água composto por filtro biológico, filtro de areia (Plaspiral, Bracker 800, Brasil) e filtro ultravioleta (duas lâmpadas de 95W; Sibrape, Pond Clean, Brasil). Durante o período experimental não houveram mortalidades e as variáveis de qualidade de água foram consideradas adequadas para o cultivo da espécie (Silva e Pereira, 1997; Mello, 2014). As concentrações médias de oxigênio dissolvido ($5,4 \text{ mg.L}^{-1} \pm 0,39$), temperatura ($29,0^\circ\text{C} \pm 1,2$), pH ($8,0 \pm 0,2$) e salinidade ($22,0 \pm 1,7$) foram monitoradas diariamente com um medidor multiparâmetro modelo YSI 556 (Yellow Springs Instruments, EUA). As concentrações de amônia total ($0,12 \text{ mg.L}^{-1} \pm 0,13$), nitrito ($0,19 \text{ mg.L}^{-1} \pm 0,29$) e nitrato ($3,18 \text{ mg.L}^{-1} \pm 2,1$) foram estimadas a cada dois dias por colorimetria com um kit comercial (Alcon, Labcon Test, Brasil).

Antes do início do experimento, os juvenis ($51,29 \text{ g} \pm 15,24$) foram aclimatados aos tanques de digestibilidade por duas semanas. Quinze peixes foram mantidos em cada tanque, e foram alimentados até a saciedade aparente quatro vezes ao dia (8:00, 11:00, 14:00 e 16:00 h) com as dietas experimentais por um período de 15 dias.

Dietas experimentais

Foram formuladas uma dieta referência (REF) e oito dietas teste, sendo que estas continham 70% de REF e 30% do ingrediente a ser avaliado (Tabela 1). A farinha de peixe (FP), farinha de camarão (FC), farinha de vísceras de aves (FVA), farinha de penas hidrolisada (FPH), farelo de soja (FS), farelo de glúten de milho (FGM - protenose), farelo de trigo (FT) e farinha milho (FM) foram incluídos nas dietas de acordo com a Tabela 2. Na confecção das dietas, os ingredientes foram moídos ($\leq 1 \text{ mm}$), misturados, umedecidos pela adição de 25 a 30% de água e granulados em moinho de rosca sem fim. O óxido de cromo (Cr_2O_3) foi adicionado ($1\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) como marcador inerte. As dietas foram secas em estufa de ventilação forçada (55°C por 24 h) e mantidas a -20°C em recipientes protegidos da luz até o fornecimento aos animais.

Reagentes

Todos os reagentes utilizados nos ensaios foram de grau analítico obtidos junto à Sigma® (St. Louis, EUA) ou Merck® (Darmstadt, Alemanha).

Extração das enzimas digestivas

Antes do início do experimento, cinco peixes alimentados com a ração comercial foram capturados aleatoriamente, sendo denominados de amostra inicial (I). Ao final do período experimental, seis peixes por tratamento (dois por tanque) também foram amostrados. Todos os peixes foram anestesiados, com 5 ppm de óleo de cravo (AQUI-S, Bayer S.A., Chile), atordoados com água gelada e dissecados para remoção do estômago e intestino, de acordo com Bezerra et al. (2001). Posteriormente, os órgãos foram congelados a -80°C , para os ensaios enzimáticos subsequentes.

Os tecidos foram homogeneizados em solução tampão 0,01 M de Tris-HCl, pH 8,0, com a adição de 0,015 M de NaCl para o intestino e 0,015 M de NaCl para o estômago. Ambos os tecidos foram colocados a uma concentração de 200 mg/mL, usando um homogeneizador de tecidos. Em seguida, o homogeneizado foi centrifugado a 10.000 g durante 25 min a 4°C para remoção dos fragmentos de tecido. Os sobrenadantes (extrato bruto) foram recolhidos e

armazenados a -25°C para análise posterior (Bezerra et al., 2005). A medição da proteína total solúvel nos extratos brutos foi determinada como descrito por Bradford (1976) utilizando albumina de soro bovino como padrão.

Atividades enzimáticas

Atividade proteolítica alcalina total

As atividades enzimáticas das proteases alcalinas presentes nos extratos brutos dos cecos pilóricos e intestino, foram realizadas em tubos de microcentrífuga, utilizando 1% de azocaseína como substrato, preparado em 0,01 M de Tris-HCl, pH 8,0. Alíquotas contendo 30 µL do extrato bruto foram incubadas com 50 µL da solução substrato durante 1 hora a 25°C. Em seguida, foi adicionado 240 µL de ácido tricloroacético (TCA) a 10% para parar a reação. Após 15 minutos a mistura foi centrifugada a 8.000 g durante 5 minutos. O sobrenadante foi recolhido e 70 µL foi misturado na solução de 130 µL 1 M de hidróxido de sódio (solução reveladora) em microplacas. A absorbância foi medida num leitor de microplacas (Bio-Rad X-Mark™ spectrophotometer, California, EUA) num comprimento de onda de 450 nm. Um controle negativo (branco) foi realizado, substituindo o extrato da enzima pelo tampão usado na sua preparação. As atividades foram realizadas em triplicatas e uma unidade (U) de atividade enzimática foi definida como a quantidade de enzima necessária para hidrolisar azocaseína e produzir uma mudança de 0,001 unidades de absorbância por minuto por miligrama de proteína (Bezerra et al., 2005).

Atividade proteolítica ácida total

As atividades foram processadas usando hemoglobina (Hb) como substrato do seguinte modo: em tubos de microcentrífuga, 100 µL de Hb 2% em 0,06 M de glicina-HCl pH 3,0, foi misturada com 50 µL de extrato bruto do estômago e 350 µL 0,5 M de glicina-HCl pH 3,0, durante 60 min a 25°C. 500µL de TCA a 10% foram adicionados para parar a reação. Após 15 minutos, a centrifugação foi realizada a 8.000 g durante 10 min. A absorbância do sobrenadante (70 µL) foi medida a 280 nm (Bio-Rad X-Mark™ spectrophotometer, California, USA) em comparação com um branco preparado de maneira semelhante em que 0,01 M de glicina-HCl pH 3,0 substituiu a amostra do extrato bruto, com base numa metodologia adaptada de Díaz-López et al. (1998). Uma unidade (U) de atividade enzimática foi definida como a quantidade de enzima capaz de hidrolisar a hemoglobina para produzir uma alteração na absorbância de 0,001 por minuto por miligrama de proteína.

Atividade proteolítica específica

As atividades enzimáticas de tripsina e quimotripsina do intestino, foram determinadas em microplacas com o uso de $N\alpha$ -benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida (BApNA) e succinilo prolina fenilalanina alanina aminotransferase *p*-nitroanilide (SApNA), respectivamente (Bezerra et al., 2005). Estes substratos foram dissolvidos em sulfóxido de dimetilo (DMSO) a uma concentração final de 8 mM. Todos os ensaios foram realizados em triplicatas. Os extratos de enzima (30 μ L) foram incubados com 140 μ L de tampão Tris-HCl 0,1 M, pH 8,0, e 30 μ L de seus respectivos substratos por um período de 15 minutos. Logo depois, as leituras de absorbância foram medidas e registradas utilizando um leitor de microplacas (Bio-Rad X-MarkTM spectrophotometer, California, USA). O comprimento de onda usado nas medições foi de 405 nm. Uma unidade (U) de atividade foi definida como a quantidade de enzima necessária para produzir um mole de *p*-nitroanilina por minuto. A atividade específica foi expressa em unidades por miligrama de proteína ($U\ mg^{-1}$).

Atividade das aminopeptidases

As atividades das aminopeptidases para os aminoácidos, alanina, arginina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, prolina, serina e tirosina foram avaliadas usando aminoacil de β -naftilamida como substrato. O procedimento adaptado por Oliveira et al. (1999) foi realizado em triplicata, através da incubação de substrato de 4,2 mM (50 μ L), 50,0 mM de tampão fosfato de sódio pH 7,0 (600 μ L) e H₂O desionizada (50 μ L) a 37°C. Depois de alcançado o equilíbrio térmico, o extrato de intestino bruto (50 μ L) foi adicionado, e 30 minutos mais tarde, a reação foi interrompida pela adição de 1 mg mL⁻¹ do reagente Garnet (250 μ L) em tampão de acetato de sódio 0,2 M pH 4,2 contendo 10% de Tween 20 (v/v). Após 10 min., a absorbância foi medida a 525 nm (Bio-Rad X-MarkTM spectrophotometer, California, USA), e a quantidade de β -naftilamida foi determinada utilizando uma curva padrão de β -naftilamida. Uma unidade de atividade enzimática foi definida como a quantidade de enzima necessária para hidrolisar um μ mol de *p*-nitroanilina por minuto por miligrama de proteína.

Atividade amilolítica

A atividade total da amilase foi baseada no método de Bernfeld (1955), utilizando uma solução de amido a 2% (p/v) como substrato. A reação consistiu na incubação de 20 μ L do extrato bruto do intestino com 125 μ L de tampão de 0,1 M de Tris-HCl, pH 8,0 e 125 μ L de substrato a 37°C durante 10 minutos. Em seguida, 30 μ L da solução incubada foi adicionada à

300 mL de 3,5-dinitrossalicílico ácido (DNSA) a 100°C durante 10 minutos para parar a reação. Logo após o seu arrefecimento, 200 µL da solução foram transferidos para microplacas e a absorvância foi medida a 570 nm utilizando um leitor de microplacas (Bio-Rad X-Mark™ spectrophotometer, California, USA). Uma unidade de atividade da enzima foi expressa em mg de maltose libertada a 37°C por minuto por miligrama de proteína. Para determinar a concentração de maltose, uma curva de calibração foi preparada utilizando maltose comercial.

Zimogramas

Proteases alcalinas (intestino)

O zimograma proteolítico foi iniciada por uma SDS-PAGE não redutora sob imersão num banho de gelo (Garcia-Carreño et al., 1993). O gel de separação foi usado em 12,5% (p/v) e gel de concentração de 4% (p/v). Os extratos brutos liofilizados de cada tratamento (15 µg de proteína) foram aplicados ao gel de concentração. Após a eletroforese, os géis foram imersos em 100 mL de Triton X-100 2,5%, diluído em Tris-HCl 0,1 M, pH 8,0, durante 30 min a 4°C para remover o SDS. Em seguida, o Triton X-100 foi removido por lavagem do gel com Tris-HCl 0,1 M, pH 8,0. Depois, o gel foi incubado em 100 mL de caseína 3% (p/v) diluída em Tris-HCl 0,1 M, pH 8,0, durante 30 minutos a 4°C passando para 25°C durante 90 minutos para permitir a digestão da caseína por frações ativas. Finalmente, o gel foi corado com uma solução contendo 0,01% de Coomassie Brilliant Blue, 25% de metanol, 10% de ácido acético e após 24 horas foi clareada em uma solução com a mesma composição sem a presença do corante.

Amilase

O zimograma amilolítico foi iniciada por uma SDS-PAGE não redutora sob imersão num banho de gelo (Garcia-Carreño et al., 1993). O gel de separação foi usado em 12,5% (p/v) e gel de concentração de 4% (p/v). Preparações enzimáticas de cada tratamento (30 µg de proteína) foram aplicadas ao gel de concentração. Após a eletroforese, os géis foram imersos em 100 mL de Triton X-100 2,5%, diluído em Tris-HCl 0,1 M, pH 8,0, durante 30 min a 4°C para remover o SDS. Em seguida, o Triton X-100 foi removido por lavagem do gel com Tris-HCl 0,1 M, pH 8,0. Em seguida, o gel foi incubado com uma solução de amido 2% (p/v) contendo 10 mM de tampão fosfato pH 8,0 e CaCl₂ durante 60 min a 37°C, para permitir a digestão do amido por frações ativas livres. Finalmente, o gel foi lavado com água destilada e corados com uma solução de iodo/KI (10%) durante 5 minutos. Gel foi lavado com água destilada para parar a reação e, em seguida, com uma solução de ácido acético (13%).

Proteases ácidas (estômago)

Pepsina

O zimograma proteolítico do estômago foi iniciado por uma PAGE nativa sob imersão num banho de gelo (Garcia-Carreño et al., 1993). O gel de separação foi usado em 12,5% (p/v) e gel de concentração de 4% (p/v). Preparações enzimáticas de cada tratamento (60 µg de proteína) foram aplicadas ao gel de concentração. Após a eletroforese, os géis foram incubado em 100 mL de hemoglobina a 3% (p/v) diluída em 0,1 M Glicina-HCl, pH 3,0, durante 30 minutos a 4°C para determinar a atividade proteolítica. Depois disso, o gel foi mantido na mesma solução de hemoglobina a 25°C durante 90 minutos para permitir a digestão da hemoglobina por frações ativas. Finalmente, o gel foi corado com uma solução contendo 0,01% de Coomassie Brilliant Blue, 25% de metanol, 10% de ácido acético e após 24 horas foi branqueada em uma solução com a mesma composição mas sem a presença do corante.

Análise estatística

As análises foram realizadas em triplicatas. Os dados obtidos foram testados para a distribuição normal (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variância (teste de Bartlett). Em seguida, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, quando significativos ($P < 0,05$) foi aplicado ao teste de Tukey, utilizando o software SysEapro (versão beta). Os valores são apresentados como média \pm intervalo de confiança (IC).

Resultados e Discussão

O valor nutritivo de uma dieta não está baseado simplesmente na sua composição química, mas também sobre a capacidade fisiológica dos peixes em digerir e absorver os nutrientes (Santos et al., 2013; García-Meilán et al., 2013). O processo de digestão começa no estômago, com a ação da pepsina (Yúfera et al., 2004; Wu et al., 2009), e prossegue nos cecos pilóricos e intestino, com a atuação de enzimas pancreáticas, incluindo proteases (Krogdahl et al., 1999; Pivnenko et al., 1997), α -amilase e lipases (Kurtovic et al., 2009). A quantidade e atividade das enzimas secretadas varia de acordo com a espécie e/ou sua preferência alimentar e com a composição de nutrientes e digestibilidade dos alimentos ingeridos (Buddington et al., 1997). A figura 1 mostra as atividades das proteases, ácidas e alcalinas e amilase nos juvenis de *C. undecimalis* submetidos a dieta comercial (I) e experimentais – REF, FP, FC, FVA, FPH, FS, FGM, FT e FM.

As atividades das proteases ácidas (pepsina) do presente estudo foi alta em todos os extratos brutos dos peixes alimentados com as diferentes dietas (Figuras 1A) e não apresentaram diferença ($P>0,05$). Estes resultados foram semelhantes aos encontrados por Campeche (2016), que avaliou a atividade de enzimas digestivas em híbridos de surubim (*Pseudoplatystoma fasciatum* x *Leiarius marmoratus*) utilizando diferentes concentrações de proteína:carboidratos.

As atividades de amilase (Figura 1B) apresentaram as maiores atividades tanto nos ingredientes de origem animal como vegetal, sendo em maior proporção nas dietas de ingredientes proteicos - I, REF, FP, FP, FC, FPH, exceto FGM, em relação aos energéticos, FT e FM, mostrando diferença significativa ($P<0,05$). O efeito dos carboidratos (CHO) dietéticos permanece controverso nas espécies de peixes marinhos (Enes et al., 2011). Wilson (1994), qual cita que as espécies carnívoras possuem capacidade limitada de hidrolisarem e/ou digerirem CHO complexos em função da reduzida atividade amilolítica no trato digestivo. Apesar dos CHO não terem sido medido diretamente no presente estudo, pode-se inferir que a FT e FM, que continham níveis elevados de CHO (31,6 e 38,6%, respectivamente, Tabela 2) em relação as demais dietas experimentais, apresentaram alta digestibilidade da energia bruta, FT (92,1%) e FM (89,7%) (Tabela 3).

Fernández et al. (2007) relataram que o amido de milho gelatinizado pode ser utilizado em dietas para o “sea bream” (*Sparus aurata*) sem comprometer o crescimento até o nível de inclusão de 20%. Catacutan e Coloso (1997) observaram que o robalo Asiático (*Lates calcarifer*) alimentado com dietas contendo 20% de farinha de trigo ganhava mais peso do que os alimentados com 15%. Para esta mesma espécie, Glencross et al. (2012) estudaram uma variedade de cereais (trigo, aveia, sorgo, triticale, cevada, entre outros) e obtiveram coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes variando de 49,1 a 93,9% na dieta, e nos ingredientes de 18,0 a 96,5%, demonstrando que há uma ampla variedade de fontes de CHO que podem ser utilizados em dietas para este peixe. Couto et al. (2016) sugeriram que até 225g.kg⁻¹ de gérmen de alfarroba pode ser utilizado como substituto a FP em dietas para juvenis de “meagre” (*Argyrosomus regius*). Porém, nos peixes alimentados com níveis elevados desse ingrediente, foi observada uma diminuição da atividade das enzimas digestivas (protease alcalina total, tripsina, lipase e α -amilase), juntamente com baixa retenção proteica. Outro carboidrato, a quitina, presente nos ingredientes oriundos de crustáceos, também pode ser utilizado. Fines e Holt (2010) determinaram que o CDA da quitina está entre 67-78% para juvenis de beijupirá (*Rachycentron canadum*) alimentados com dietas contendo FC e de caranguejo, e demonstraram que este peixe possui capacidade em digerir a quitina por meio de

uma forte ação de enzimas endógenas, com a transformação da quitina em N-acetilglicosamina. Isso abre a possibilidade de utilização de ingredientes ricos em quitina como substituição de fontes de CHO e até mesmo como substituto parcial da FP (Giri et al., 2005; Liti et al., 2006).

A análise da atividade proteolítica total de substrato de cadeia longa (azocaseína) diferiu ($P < 0,05$) entre os tratamentos (Figura 1C), com maior intensidade nas dietas I, FP e FPH. Nos estudos com a tripsina, utilizando substrato BApNA, também observam-se diferenças ($P < 0,05$), com maior atividade enzimática nos peixes alimentados com a dieta comercial (I). Porém, nos ingredientes proteicos – FP, FPH e FS, não são constatadas diferenças ($P > 0,05$) de 0,53, 0,63 e 0,50 $U \cdot mg^{-1}$, respectivamente (Figura 1D). A quimotripsina, com substrato SApNA, mostrou maior proporção de enzimas nas dietas com ingredientes proteicos (I, REF, FP, FP, FC, FPH, FGM), exceto para a FVA, em relação aos energéticos (FT e FM) (Figura 1E).

A relação entre os níveis de nutrientes e a secreção de enzimas é bastante complexa (Infante e Cahu, 2007; Borgevik et al., 2009; Santigosa et al., 2011a). García-Meilán et al. (2013), por exemplo, demonstraram um aumento progressivo da atividade proteolítica alcalina total (APAT) em *S. aurata* quando o teor de proteína na dieta aumentou de 35 para 41%, mas houve uma diminuição da APAT na dieta com 50%. No presente trabalho, uma maior atividade proteolítica alcalina total foi verificada nas dietas I, FP, FGM e FPH (Figura 1C), as quais também apresentaram maior digestibilidade proteica (Tabela 3). A FVA, continha o segundo maior teor de proteína (61%) (Tabela 2), no entanto, apresentou uma baixa atividade proteolítica alcalina total (Figura 1C). Estes dados corroboram a ideia de que a atividade proteolítica irá depender não apenas da concentração de proteína na ração (Bakke et al., 2011), mas também da qualidade, digestibilidade, biodisponibilidade de nutrientes e de compostos anti-nutricionais (FAN) do ingrediente, bem como das diferenças ambientais, como temperatura e salinidade da água, fatores bióticos, como as espécies, e/ou suas preferências alimentares (Buddington et al., 1997). Entre as dietas experimentais, a FP resultou em uma maior atividade proteolítica alcalina total, e isto pode ser atribuído ao fato desta conter uma excelente fonte de proteína, a farinha de peixe, que além de possui alta qualidade, possui perfil de balanceado de aminoácidos e ácidos graxos essenciais, excelente palatabilidade, alta digestibilidade e baixos níveis de fatores anti-nutricionais para peixes carnívoros (Riche, 2015; Bowzer et al., 2015).

Os valores de atividade da tripsina e quimotripsina estão apresentados nas figuras 1D e 1E, respectivamente. Entre as dietas experimentais, não houveram diferenças significativas ($P > 0,05$) para a atividade de tripsina. Para a quimotripsina, uma maior atividade enzimática foi observada nas dietas com ingredientes proteicos, exceto para a FVA, em relação aos

energéticos, FT e FM. As baixas atividades nos peixes alimentados com FT e FM também podem estar relacionados com a presença dos FAN, que inibem as proteases alcalinas, principalmente a tripsina e quimotripsina (Francis et al., 2001; Gatlin et al., 2007; Santigosa et al., 2008), o que pode prejudicar a saúde (Kissil et al., 2000; Olsen et al., 2007) e crescimento dos peixes (Venou et al., 2003; Knudsen et al., 2006) quando em níveis elevados. Baixa atividade enzimática foi atribuída aos FAN em estudo de digestibilidade realizado por Murashita et al. (2015), observando a secreção das enzimas digestivas em “red seabream” (*Pagrus major*) e “yellowtail” (*Seriola quinqueradiata*) alimentados com FP e FS, identificaram uma maior atividade tripsina, quimotripsina, lipase e amilase nos peixes alimentados com FP. No entanto, Papoutsoglou e Lyndon (2006) encontraram um aumento na atividade da quimotripsina em “spotted wolffish” (*Anarhichas minor*) quando a concentração da proteína foi reduzida, o que indica a adaptação da espécie a baixa concentração de proteína, como forma de absorver melhor os nutrientes da dieta.

Dietas com baixo teor de proteína e altas concentrações de extrato etéreo (EE) e carboidratos (CHO) inibiram a atividade proteolítica alcalina total e tripsina em dietas para o “sea bream” (García-Meilán et al., 2013) e “meagre” (Couto et al., 2016). O mesmo foi observado para a tripsina em salmão do Atlântico (*Salmo salar* L.) (Krogdahl et al., 2003) e “sea bass” (*Dicentrarchus labrax*) (Peres et al., 1999). No presente estudo, esta inibição é observada em todas as dietas, exceto a comercial (I) (Figuras 1C e 1D). É provável que isto esteja relacionado à quantidade de extrato etéreo na dieta referência (REF), que era de 160 g.Kg⁻¹MS de EE, enquanto a dieta I continha a menor concentração de EE, com apenas 95 g.Kg⁻¹MS de EE (Tabela 2). A dieta REF foi formulada com base nas exigências nutricionais do robalo asiático que, embora seja uma espécie filogeneticamente distinta e distribuída naturalmente em regiões diferentes, possui sistemas digestórios e hábitos alimentares semelhante ao robalo-flecha, além da preferência pelo habitat estuarino-manguezal (Glencross et al., 2006; Alvarez-Lajonchère e Tsuzuki, 2008; Pethiyagoda e Gill, 2014). Mudanças nas atividades enzimáticas digestivas são observadas em peixes quando alteram a composição da dieta e consequentemente, a capacidade de absorção dos nutrientes (Fountoulaki et al., 2005; García-Meilán et al., 2013; Murashita et al., 2015).

A capacidade de transporte dos aminoácidos (AA) pode ser regulada para compensar o déficit nutricional causado pela composição da dieta ou curtos períodos de fome (Santigosa et al., 2011b). Para que os AA possam ser absorvidos pelo animal, é necessário que estejam em sua forma livre ou como di-tripeptídeos (Rodiles et al., 2012; García-Meilán et al., 2013). Para tanto, faz necessário a atividade de aminopeptidases capazes de liberar esses AA,

principalmente os essenciais. Neste âmbito, as análises das aminopeptidases permitiram a avaliação do perfil de digestão individual de alguns aminoácidos (Tabela 4), na qual se observa diferença ($P < 0,05$) entre as dietas. Nota-se que, para todas as aminopeptidases, incluindo arginina, histidina, isoleucina e leucina, as maiores atividades foram encontradas nas dietas com maior inclusão da farinha de peixe, REF ($640 \text{ g.kg}^{-1}\text{MS}$) e FP ($748 \text{ g.kg}^{-1}\text{MS}$) (Tabela 1). Estes resultados estão de acordo com os estudos realizados por Santigosa et al. (2008) em “sea bream” e truta arco-íris; Jutfelt et al. (2007) e Refstie et al. (2006) em salmão. Sabe-se que os ingredientes FVA, FPH, FS, FGM, FT e FM são deficientes em alguns aminoácidos essenciais, como, histidina, lisina, metionina e valina (f Hertrampe Piedade-Pascual, 2000, NRC, 2011). No entanto, o FM que continha menor teor de PB e alta digestibilidade dos aminoácidos, teve uma alta atividade das aminopeptidases em comparação as dietas com maior teor de proteína (FC, FVA, FPH, FS, FGM e FT), exceto para REF e FP (Tabela 4).

Além dos ensaios enzimáticos, foram realizados zimogramas para se determinar o perfil eletroforético das formas ativas das proteases ácidas (Figuras 2), alcalinas (Figuras 3) e amilase (Figura 4). Os zimogramas parecem ser a ferramenta bioquímica mais sensível em comparação com outros métodos para a detecção da composição de proteinase em extratos bruto dos tecidos e por permitir a determinação das zonas de atividade das enzimas (Garcia-Carreño et al., 1993). Na Figura 4, atividades caseinolítica revelaram alta atividade nos extratos brutos nos peixes de todos os tratamentos. Na Figura 2, são observadas bandas com atividade das peptidases ácidas nos peixes submetidos aos tratamentos de FS, FGM, FP, FC, FVA e REF. Apesar da atividade da pepsina não apresentar diferença ($P < 0,05$) entre os tratamentos (Figura 1A), foi observado alta intensidade no perfil de enzimas no FGM, FP e FC. A Figura 3 revela a baixa atividade da amilase nos extratos brutos dos peixes submetidos aos tratamentos FM e FVA. Nos animais alimentados com FT, FC e I não foram encontradas bandas amilolíticas. No entanto, na figura 1A se observa atividade enzimática no extrato bruto dos animais alimentados com esses ingredientes.

Idealmente, as avaliações da digestibilidade e consequentemente das enzimas dos ingredientes deveriam ser feitas através de uma alimentação simples. No entanto, isso raramente é possível, pois os animais aquáticos se recusam a comer muitas dietas constituídas por um único ingrediente (Glencross, 2007). Em vez disso, uma abordagem na substituição de um ingrediente é normalmente utilizada, na qual as dietas experimentais compreendem o ingrediente teste adicionado dos componentes da dieta referência (Zhou et al., 2004; Davies et al., 2009; Booth et al., 2013). As diferentes concentrações de extrato etéreo na dieta referência (REF) e consequentemente nas demais dietas experimentais, influenciaram a inibição das

atividades proteolítica alcalina total e tripsina nos juvenis de robalo-flecha. A tripsina é uma das principais enzimas digestivas em peixes (Bezerra, 2001), principalmente em desenvolvimento (Ma et al., 2005; Perez-Casanova et al., 2006; Garcia Gasca et al., 2006; Manchado et al., 2008). Sua ausência ou baixa atividade na alimentação de animais aquáticos, resulta em uma variedade de efeitos fisiológicos, como redução no crescimento e queda da imunidade (Tacon, 2009; Yang et al., 2011). Além disso, esta protease alcalina tem a função de ativar outras enzimas digestivas, tais como a elastase, colagenase, quimotripsina e lipase (Ruan et al., 2010; Rungruangsak-Torrisen, 2010). A identificação e caracterização das proteases ácidas e alcalinas em estudos de digestibilidade de peixe é uma importante ferramenta para a compreensão dos mecanismos digestivos e formulação de rações. No entanto, futuros estudos devem ser realizados para permitir o uso criterioso desses ingredientes em dietas para *C. undecimalis*.

Agradecimentos

Ao Laboratório de Enzimologia, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, pelo assistências nas análises. À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) e ao pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento da pesquisa.

Referências bibliográficas

- Alvarez-Lajonchère L. (2004) Cultivo de robalos: potencialidades e resultados. *Panorama da Aquicultura* 14, 15-21.
- Alvarez-Lajonchère, L.S. & Tsuzuki, M.Y. (2008) A review of methods for *Centropomus* spp. (snooks) aquaculture and recommendations for the establishment of their culture in Latin America. *Aquaculture Research* 39, 684-700.
- Barón-Aguilar, C.C., Rhody, N.R., Brennan, N.P., Main, K.L., Peebles, E.B. & Muller-Karger, F.E. (2013) Influence of temperature on yolk resorption in common snook *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792) larvae. *Aquaculture Research*, 46, 1679–1687.
- Bernfeld, P. (1955) Amylases, a and b. In: Colowick SP, Kaplan NO (eds) *Methods in enzymology* 1. Academic Press, New York.
- Bakke, A.M., Glover, C. & Krogdahl, A. (2011) Feeding, digestion and absorption of nutrients. In: Grossel, M., Farrel, A.P., Brauner, C.J. (Eds.), *The Multifunctional Gut of Fish*. Academic Press Elsevier, London, p. 57–75.

Bell, J.G., Waagbo, R. (2008) Safe and nutritious aquaculture produce: benefits and risks of alternative sustainable aquafeeds. In *Aquaculture in the ecosystem* (eds Holmer M., Black K., Duarte C. M., Marba N., Karakassis I., editors.), p 185–225, Berlin, Germany: Springer.

Bezerra, R.S.; Santos, J.F.; Paiva, P.M.G.; Correia, M.T.S.; Coelho, L.C.B.B.; Vieira, V.L.A.; Carvalho Jr, L.B. (2001) Partial purification and characterization of a thermostable trypsin from pyloric caeca of tambaqui (*Colossoma macropomum*). *J Food Biochem*, 25, 199–210.

Bezerra, R.S., Lins, E.J.F., Alencar, R.B., Paiva, P.M.G., Chaves, M.E.C. & Coelho Jr, L.B.C. (2005). Alkaline proteinase from the intestine of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Process Biochemistry* 40, 1829–1834.

Bkhairia, I; Ktari, N; Younes, I; Kammoun, M; Nasri, M. & Ghorbel, S. (2015) Golden Grey Mullet (*Liza aurata*) Alkaline Proteases: Biochemical Characterization, Application in the Shrimp Wastes Deproteinization, Laundry Commercial Detergents, and Preparation of Antioxidant Protein Hydrolysate. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, vol. 24, ed. 6; p. 597-613.

Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein binding. *Anal. Biochem* 72, 248-254.

Bogevik, A.S., Tocher, D.R., Langmyhr, E., Waagbø, R. & Olsen, R.E. (2009) Atlantic salmon (*Salmo salar*) postsmolts adapt lipid digestion according to elevated dietary wax esters from *Calanus finmarchicus*. *Aquaculture Nutrition* 15, 94–103.

Booth, M., Allan, G. & Smullen, R. (2013) Digestibility of common feed ingredients by juvenile mullet *Argyrosomus japonicus*. *Aquaculture* 414-415, 140-148.

Bowzer, J.; Trushenski, J.; Rawles, S.; Gaylord, T. G.; Barrows, F. T. (2015). Apparent digestibility of Asian carp-and common carp-derived fish meals in feeds for hybrid striped bass *Morone saxatilis* x *M. chrysops* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Nutrition* 21, 43-53.

Buddington, R.K., Krogdahl, A. & Bakke-Mckellep, A.M. (1997). The intestine of carnivorous fish: structure and functions and the relations with diet. *Acta Physiologica Scandinavica* 161 (Suppl. 638), 67–80.

Campeche, D. F. B. (2016) Crescimento, enzimas digestivas e respostas metabólicas de surubim híbrido (*Pseudoplatystoma* sp) alimentados com diferentes relações proteína:energia. Tese apresentada a Universidade Federal de Pernambuco para grau de Doutor em Ciências Biológicas. Departamento de Biologia, Recife, 160p.

Carvalho, C.V.A.; Passini, G.; Costa, W.M.; Vieira, B.N.; Cerqueira, V.R. (2014). Effect of 17 β -estradiol on the sex ratio, growth and survival of juvenile common snook (*Centropomus undecimalis*). *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, vol. 36, n. 3, p. 239-245.

Catacutan, M.R. & Coloso, R.M. (1997) Growth of juvenile Asian seabass, *Lates calcarifer*, fed varying carbohydrate and lipid levels. *Aquaculture* 149, 137–144.

CEAGESP (2015) *Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo*. Website, disponível em: <http://www.ceagesp.gov.br/entrepósitos/serviços/cotacoes/#cotacao>. Acessado em 05 de novembro de 2015.

Couto, A., Barroso, C., Guerreiro, I., Pousão-Ferreira, P., Matos, E., Peres, H., Oliva-Teles A., Enes, P. (2016) Carob seed germ meal in diets for meagre (*Argyrosomus regius*) juveniles: Growth, digestive enzymes, intermediary metabolism, liver and gut histology. *Aquaculture* 451, 396–404.

Davies, S.J., Gouveia, A., Laporte, J., Woodgate, S.L. & Nates, S. (2009) Nutrient digestibility profile of premium (category III grade) animal protein by-products for temperate marine fish species (European sea bass, gilthead sea bream and turbot). *Aquaculture Research* 40, 1759-1769.

Díaz-López, M., Moyano-López, F.J., Alarcón-López, F.J., García-Carreño, F.L. & Navarrete Del Toro, M.A. (1998) Characterization of fish acid proteases by substrate-gel electrophoresis. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part B: Biochemistry & Molecular Biology* 121, 369–377.

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. *Reviews in Fisheries Science* 19, 201–215.

Espósito, T.S., Amaral, I.P.G., Marcuschi, M., Carvalho Jr, L.B. & Bezerra, R. S. (2009) Surfactants- and oxidants-resistant alkaline proteases from common carp (*Cyprinus carpio* L.) processing waste. *Journal of Food Biochemistry*, 33 (5), 821-834.

FAO (2014) *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. The State of World Fisheries and Aquaculture. Fisheries and Aquaculture Department of the United Nations, Rome.

Fernández, F., Miquel, A.G., Córdoba, M., Varas, M., Metón, I., Caseras, A., Baanante, I.V., (2007) Effects of diets with distinct protein-to-carbohydrate ratios on nutrient digestibility, growth performance, body composition and liver intermediary enzyme activities in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) fingerlings. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 343, 1–10.

Ferraz, E.M., Petersen, R.L., Passini, G. & Cerqueira, V.R. (2013) Híbridos recíprocos obtidos por cruzamentos entre os robalos *Centropomus parallelus* e *Centropomus undecimalis*. *Boletim do Instituto de Pesca* 39(1), 53-61.

Fines, B.C., Holt, G.J. (2010) Chitinase and apparent digestibility of chitin in the digestive tract of juvenile cobia, *Rachycentron canadum*. *Aquaculture* 303, p. 34–39.

Fountoulaki, E., Alexis, M.N., Nengas, I. & Venou, B. (2005) Effect of diet composition on nutrient digestibility and digestive enzyme levels of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture Research* 26, 1243–1251.

Francis, G.; Makkar, H.P.S.; Becker, K. (2001) Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture* 199, 197-227.

Froese, R. & Pauly, D. (2007). Fishbase. website: www.fishbase.org, disponível em http://fishbase.org/country/CountrySpeciesSummary.php?c_code=388genusname=Centropomus&speciesname=undecimalis. Acessado em 03 de março de 2015.

García-Carreño, F.L., Dimes, L.E. & Haard, N.F. (1993) Substrate-gel electrophoresis for composition and molecular weight of proteinases or proteinaceous proteinase inhibitors. *Anal Biochem* 214, p 65–69.

García Gasca, A.; Galaviz, M.; Gutierrez, J.; García-Ortega, A. (2006). Development of the digestive tract, trypsin activity and gene expression in eggs and larvae of the bullseye puffer fish *Sphoeroides annulatus*. *Aquaculture* 251, 366–376.

García-Meilán, I., Valentín, J.M.; Fontanillas, R. & Gallardo, M.A. (2013) Different protein to energy ratio diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata*): Effects on digestive and absorptive processes. *Aquaculture* 412-413, 1-7.

Gatlin, D. G.; Barrows, F. T.; Brown, P.; Dabrowski, K.; Gaylord, G.T.; Hardy, R.W.; Herman, E.; Hu, G.; Kroghdahl, A.; Nelson, R.; Overturf, K.; Rust, M.; Sealey, W.; Skonberg, D.; Souza, E.J.; Stone, D.; Wilson, R., Wurtele, E. (2007) Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture Research* 38, 551-579.

Glencross, B.D. (2006) Nutritional management of barramundi, *Lates calcarifer* – A review. *Aquaculture Nutrition*, 12, 291–309.

Glencross, B.D., Booth, M., Allan, G.L. (2007). A feed is only as good as its ingredients - A review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds. *Aquaculture Nutrition* 13, 17–34.

Glencross, B.D., Rutherford, N.R. & Hawkins, W.E. (2011) A comparison of the growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) when fed soybean, narrow-leaf or yellow lupin kernel meals in extruded diets. *Aquaculture Nutrition* 17, 317–325.

Glencross, B.D. & Bermudes, M. (2012) Using a bioenergetic modelling approach to understand the implications of heat stress on barramundi (*Lates calcarifer*) growth, feed utilisation and optimal protein and energy requirements - Options for adapting to climate change? *Aquaculture Nutrition* 18, 411–422.

Hertrampf, J.W. and Piedad-Pascual, F. (2000). Handbook on Ingredients for Aquaculture Feeds, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht-Boston-London.

Infante, Z.J.L. & Cahu, C.L. (2007) Dietary modulation of some digestive enzymes and metabolic processes in developing marine fish: applications to diet formulation. *Aquaculture* 268, 98–105.

Jutfelt, F., Olsen, R.E., Björnsson, B. T., Sundell, K. (2007). Parr–smolt transformation and dietary vegetable lipids affect intestinal nutrient uptake, barrier function and plasma cortisol levels in Atlantic salmon. *Aquaculture* 273, 298–311.

Khangembam, B. K. & Chakrabarti, R. (2015) Trypsin from the digestive system of carp *Cirrhinus mrigala*: Purification, characterization and its potential application. *Food Chemistry* 175, 386–394.

Kissil, G.W.; Lupatsch, I.; Higgs, D.A.; Hardy, R.W. (2000) Dietary substitution of soy and rapeseed protein concentrates for fishmeal, and their effects on growth and nutrient utilization in gilthead seabream *Sparus aurata* L. *Aquacult. Res.*, 31:595-601

Kou, H-Y, Xu, S-Y, Wang, A-L (2015) Effect of replacing canola meal for fish meal on the growth, digestive enzyme activity, and amino acids, of ovate pompano, *Trachinotus ovatus*. *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh* 67, p. 1-10.

Krogdahl, A. & Sundby, A. (1999) Characteristics of pancreatic function in fish. In: *Pierzynowski, S.G., Zabielski, R. (Eds.), Biology of the Pancreas in Growing Animals*. Elsevier Science, Amsterdam, 437–458.

Krogdahl, A., Bakke-McKellep, A.M. & Baeverfjord, G. (2003) Effects of graded levels of standard soybean meal on intestinal structure, mucosal enzyme activities, and pancreatic response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture Nutrition* 9, 361–371.

Kurtovic, I., Marshall, S.N., Zhao, X. & Simpson, B.K. (2009). Lipases from mammals and fishes. *Reviews in Fisheries Science* 17, 18–40.

Lassoued, I, Hajji, S., Mhamdi, S., Jridi, M., Bayouhd, A., Barkia, A. & Nasri, M. (2015) Digestive alkaline proteases from thornback ray (*Raja clavata*): Characteristics and applications. *International Journal of Biological Macromolecules* 80, 668–675.

Lee, S.M. (2002) Apparent digestibility coefficients of various feed ingredients for juvenile and grower rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Aquaculture* 207, 79–95.

Liebl, F. (2013) Desempenho de juvenis de robalo-peva (*Centropomus parallelus*) e robalo-flecha (*Centropomus undecimalis*) cultivados em água doce. Dissertação apresentada à Univesidade Federal de Santa Catarina para o grau de Doutor em Aquicultura. *Univesidade Federal de Santa Catarina*. Florianópolis, 46p.

Lu, F., Haga, Y. & Satoh, S. Effects of replacing fish meal with rendered animal protein and plant protein sources on growth response, biological indices, and amino acid availability for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Japanese Society of Fisheries Science* 81, 95–105, 2015.

Ma, H., Cahu, C., Zambonino, J., Yu, H., Duan, Q., Le Gall, M.M., Mai, K. (2005). Activities of selected digestive enzymes during larval development of large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). *Aquaculture* 245, 239–248.

Manchado, M.; Infante, C.; Asensio, E.; Crespo, A.; Zuasti, E.; Cañavate, J.P. (2008). Molecular characterization and gene expression of six trypsinogens in the flatfish Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup) during larval development and in tissues. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* 149, 334–344.

Marcuschi, M.; Esposito, T. S.; Machado, M. F.M.; Hirata, I.; Machado, M. F.M.; Silva, M.V.; Carvalho Jr, L. B.; Oliveira, V.; Bezerra, R. (2010) Purification, characterization and substrate specificity of a trypsin from the Amazonian fish tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 396, 667–673.

Mello, G.L. Engorda do robalo-flecha, *Centropomus undecimalis*: Efeito da temperatura, da salinidade e da alimentação (2014). Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal de Santa Catarina para o grau de Doutor em Aquicultura. *Universidade Federal de Santa Catarina*, Florianópolis, 150p.

MPA (2012) *Ministério da Pesca e Aquicultura*. Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura 2011. Brasília-DF, 60 p.

Murashita, K., Fukada, H., Takahashi, N., Hosomi, N., Matsunari, H., Furuita, H., Oku, H. & Yamamoto, T. (2015) Effect of Feed Ingredients on Digestive Enzyme Secretion in Fish. *Bulletin of Fisheries Research Agency* 40, 69-74.

NRC (2011) *Nutrient Requirements of Fish and Shrimp*. Animal Nutrition Series. The National Academies Press, Washington, D.C.

Oliveira, S.M., Freitas, J.O. & Alves, K.B. (1999) Rabbit kidney aminopeptidases: purification and some properties. *Immunopharmacology*, 45, 215–221.

Olsen, R.E., Hansen, A.C., Roselund, G., Hemre, G.I., Mayhew, T.M., Knudsen, D.L., Eroldogan, O.T., Myklebust, R., Karlsen, O. (2007). Total replacement of fish meal with plant proteins in diets for Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) II—health aspects. *Aquaculture* 272, 612–624.

Papoutsoglou, E.S., Lyndon, A. R. (2006) Digestive enzymes of *Anarhichas minor* and the effect of diet composition on their performance. *Journal of Fish Biology* 69, p. 446–460.

Passini, G., Carvalho, C.V.A., Sterzelecki, F.C. & Cerqueira, V.R. (2014) Induction of sex inversion in common snook (*Centropomus undecimalis*) males, using 17 β -estradiol implants. *Aquaculture Research*, vol. 45, p. 1-10.

Peres, A., Zambonino Infante, J.L. & Cahu, C. (1998) Dietary regulation of activities and mRNA levels of trypsin and amylase in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Fish Physiology and Biochemistry* 19, 145–152.

Peres, H., Gonçalves, P. & Oliva-Teles, A. (1999) Glucose tolerance in gilthead seabream (*Sparus aurata*) and European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 179, 415–423.

Perez-Casanova, J., Murray, H., Gallant, J., Ross, N., Douglas, S., Johnson, S. (2006). Development of the digestive capacity in larvae of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) and Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture* 251, 377–401.

Pethiyagoda, R., Gill, A. C. (2014). Taxonomy and distribution of Indo-Pacific Lates. In: *Biology and culture of Asian seabass Lates calcarifer*. Editor Dean R. Jerry. 318.

Pitz, S. (2009) Especialista produz com sucesso alevinos de robalo-flecha. *Panorama da aquicultura* 114, 58-59.

Pivnenko, T.N., Epstein, L.M. & Okladnikova, S.V. (1997). Comparative analysis of substrate specificity of pancreatic serine proteinases of different origin. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology* 33, 540–544.

Refstie, S., Førde-Skjærvik, O., Rosenlund, G., Rørvik, K.-A. (2006). Feed intake, growth, and utilisation of macronutrients and amino acids by 1- and 2-year old Atlantic cod (*Gadus morhua*) fed standard or bioprocessed soybean meal. *Aquaculture* 255, 279–291.

Riche, M. (2015) Nitrogen utilization from diets with refined and blended poultry by-products as partial fish meal replacements in diets for low-salinity cultured Florida pompano, *Trachinotus carolinus*. *Aquaculture* 435, 458–466.

Rodiles, A., Santigosa, E., Herrera, M., Hachero-Cruzado, I., Cordero, M.L., Martínez-Llorens, S., Lall, S.P. & Alarcón, F.J. (2012). Effect of dietary protein level and source on digestive proteolytic enzyme activity in juvenile Senegalese sole, *Solea senegalensis* Kaup1850. *Aquaculture International* 20, 1053–1070.

Ruan, G.L., Li, Y., Gao, Z.X., Wang, H.L., Wang, W.M. (2010). Molecular characterization of trypsinogens and development of trypsinogen gene expression and tryptic activities in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) and topmouth culter (*Culter alburnus*). *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* 155, 77–85.

Rungruangsak-Torrissen, K., Engkagul, A., Aeidnoie, Y., Kovitvadhi, S. Kovitvadhi, U., Siruntawineti, J., Choowongkomon, k. Unajak, S., Preprame, P. Ternet, E. Meeswad., and Sunthornchot, J. (2010). Development of suitable feed for commercial production of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Kasetsart University Technical Report, 184 p. *Biochemical Research Unit for Feed Utilization Assessment*, Kasetsart University, Bangkok, Thailand. [in Thai].

Santigosa, E., Sánchez, J., Médale, E., Kaushik, S., Pérez-Sánchez, J. & Gallardo, M.A. (2008) Modifications of digestive enzymes in trout (*Oncorhynchus mykiss*) and sea bream (*Sparus aurata*) in response to dietary fish meal replacement by plant protein sources. *Aquaculture* 252, 68–74.

Santigosa, E., García-Meilán, I., Valentín, J.M., Navarro, I., Pérez-Sánchez, J. & Gallardo, M.A. (2011a) Plant oils' inclusion in high fish meal substituted diets. Effect on digestion and nutrient absorption in sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture Research* 42, 962–974.

Santigosa, E., García-Meilán, I., Valentin, J.M., Pérez-Sanchez, J., Médale, F., Kaushik, S. & Gallardo, M.A. (2011b). Modifications of intestinal nutrient absorption in response to dietary fish meal replacement by plant protein sources in sea bream (*Sparus aurata*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 317, 146–154.

Santos, J. F., Castro, P. F., Leal, A. L. G., Freitas Jr, S. C. V., Lemos, D., Carvalho Jr, L. B. & Bezerra, R. S. (2013) Digestive enzyme activity in juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L) submitted to different dietary levels of shrimp protein hydrolysate. *Aquaculture International* 21, 563–577.

Sarker, M.S.A., Satoh, S., Kamata, K., Haga, Y. & Yamamoto, Y. (2012) Partial replacement of fish meal with plant protein sources using organic acids to practical diets for juvenile yellowtail, *Seriola quinqueradiata*. *Aquaculture Nutrition* 18, p 81–89.

Sevgili, H., Kurtoglu, A., Oikawa, M., Aksoy, A., Kocakaya, S., Oztürk, E., Uysal, R. & Gündüz Oruç, H. (2015) A combination of corn gluten and soybean meal as a substitute for fishmeal in diets of turbot (*Scophthalmus maximus* Linnaeus, 1758) in brackish water. *Journal of Applied Ichthyology* 31, 355–361.

Silva, J.F., Espósito, T.S., Marcuschi, M., Ribeiro, K., Cavalli, R.O., Oliveira, V. & Bezerra, R. S. (2011) Purification and partial characterisation of a trypsin from the processing waste of the silver mojarra (*Diapterus rhombeus*) Food Chemistry 129, p. 777–782.

Silva, A.L.N. Da. & Pereira, J.A. (1997) Controle do recrutamento de tilapia vermelha, híbrido de *Oreochromis spp.* por robalo-flecha *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792) em cultivo semi-intensivo. *Boletim do Instituto de Pesca* 24, 161-168.

Soligo, T., Ferraz, E.M., Cerqueira, V.R. & Tsuzuki, M.Y. (2008). Primeira experiência de indução hormonal, desova e larvicultura do robalo-flecha, *Centropomus undecimalis* no Brasil. In: Cyrino, J.E.P., Scorvo Filho, J.D., Sampaio, L.A., Cavalli, R.O. *Tópicos especiais em biologia aquática e aquicultura II*. Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, Jaboticabal, SP. p. 143-152.

Soligo, T.A., Garcia, A.S., Cerqueira, V.R. (2011) Weaning of the common snook (*Centropomus undecimalis*) early juveniles reared in laboratory using commercial and experimental diets. *Boletim do Instituto de Pesca* 37, 367-374.

Souza-Filho, J.J. & Cerqueira, V.R. (2003) Influência da densidade de estocagem no cultivo de juvenis de robalo-flecha mantidos em laboratório. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 38, 1317-1322.

Tacon, A.G.J., Metian, M., Hasan, M.R. (2009) Feed ingredients and fertilizers for farmed aquatic animals Sources and composition. *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

Turchini, G. M. Torstensen, B. E. Ng, W.K. (2009) Fish oil replacement in finfish nutrition Reviews in Aquaculture 1, p 10–57.

Tucker J.W.Jr. (1987) Snook and tarpon culture and preliminar evaluation for commercial farming. *Progressive Fish Culturist* 49, 49-57.

Tucker J.W. Jr. (2003) Snook culture. *World Aquaculture Magazine* 34, 42-46.

Tucker, J.W. Jr. (2005) Snook culture. *American Fisheries Society Symposium* 46, 297-305.

Venou, B., Alexis, M.N., Fountoulaki, E., Nengas, I., Apostolopoulou, M., Castritsi-Cathariou, I. (2003). Effect of extrusion of wheat and corn on gilthead sea bream (*Sparus aurata*) growth, nutrient utilization efficiency, rates of gastric evacuation and digestive enzyme activities. *Aquaculture* 225, 207–223.

Wagner Jr., A., Cerqueira, V. R., Candido, S., Dos Reis, M. A., Nunes, F. F. (2000) Cultivo de juvenis do robalo *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792) e *Centropomus parallelus* (Poey, 1860), em tanque-rede com dieta artificial e comercial. *Simpósio Brasileiro de Aquicultura*. Florianópolis/SC, CD-ROM.

Wang, Y.; Wang, F.; Ji, W-X; Han, H; Li, P. (2015) Optimizing dietary protein sources for Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) with an emphasis on using poultry by-product meal to substitute fish meal. *Aquaculture Research* 46, 874–883.

Wilson, R. P. (1994) Utilization of dietary carbohydrate by fish. *Aquaculture* 124, 67-80.

Wu, T., Sun, L.C., Du, C.H., Cai, Q.F., Zhang, Q.B., Su, W.J. & Cao, M.J. (2009) Identification of pepsinogens and pepsins from the stomach of European eel (*Anguilla anguilla*). *Food Chemistry* 115, 137–142.

Yang, Y.H.; Wang, Y.Y., Lu, Y.; Li; Q.Z. (2011) Effect of replacing fish meal with soybean meal on growth, feed utilization and nitrogen and phosphorus excretion on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture International* 19, 405-419.

Yúfera, M., Fernández-Díaz, C., Vidaurreta, A., Cara, J.B. & Moyano, F.J. (2004) Gastrointestinal pH development of the acid digestion in larvae in early juveniles of *Sparus aurata* (Pisces: Teleostei). *Marine Biology* 144, 863–869.

Zhou, Q-C., Tan, B-P., Mai, K-S., Liu, Y-J. (2004) Apparent digestibility of selected feed ingredients for juvenile cobia *Rachycentron canadum*. *Aquaculture*, 241, 441–451.

Tabela 1 – Formulação (g.kg⁻¹ MS) das dietas referência e teste de diferentes ingredientes para o robalo-flecha (*Centropomus undecimalis*).

	Dieta referência	Dietas teste
Farinha de peixe	640	448,0
Óleo de peixe ¹	100	70,0
Celulose ²	124	86,8
Glúten de trigo ³	130	91,0
Cr ₂ O ₃ ⁴	1	0,7
Premix vitaminas e minerais ⁵	5	3,5
Ingrediente teste	-	300,0

¹ Grupo Guabi, Goiana, PE, Brazil.

² Microfine Cellulose (98% purity), RHOSTER

³ Wheat gluten Vidal, Feed grade, Tradal Brazil, Jandira, SP, Brazil.

⁴ VETEC, Brazil.

⁵ Rovimix Fish (UI kg⁻¹ ou g kg⁻¹ de premix): vitamina A, 5,0 MUI; vitamina D3, 0,20 MIU; vitamina E, 5.000 UI; vitamina K3, 1,0g; vitamina B1, 1,5 g; vitamina B2, 1,5 g; vitamina B6, 1,5 g; vitamina B12, 4,0 g; biotina, 0,05 g; vitamina C, 50 g; colina, 40 g; inositol, 1,0 g; etoxiquina, 12,25 g; cobre, 0,5 g; magnésio, 1,5 g; zinco, 5,0 g; ácido fólico, 0,5 g; ácido pantotênico, 4,0 g; nicotinamida, 7,0 g; cobalto, 0,01 g; ferro, 5,0 g; iodo, 0,05 g; selênio, 0,01 g.

Tabela 2 – Composição química (g.kg⁻¹ MS) e perfil de aminoácidos (g.kg⁻¹ MS) das dietas comercial e experimentais ofertadas para juvenis de robalo-flecha (*Centropomus undecimalis*).

	I*	REF	FP ¹	FC ²	FVA ³	FPH ⁴	FS ⁵	FGM ⁶	FT ⁷	FM ⁸
Matéria seca	901	950	960	970	950	965	962	970	958	966
Proteína bruta	520	567	589	474	612	620	520	564	442	400
Extrato etéreo	95	160	178	155	147	152	132	163	156	140
Matéria mineral	150	99	116	180	102	77	88	66	86	74
Fósforo	25	15	16	17	16	11	13	18	14	12
Carboidratos ⁺⁺	23,5	17,4	11,7	19,1	13,9	15,1	26,0	20,7	31,6	38,6
Energia bruta (MJ kg ⁻¹)	20,1 ^{**}	22,7	22,9	20,6	22,7	23,2	21,9	23,3	22,0	21,6
Alanina		33	34	30	34	30	26	35	24	21
Arginina ⁺		31	34	28	34	37	31	26	26	20
Ácido aspártico		39	44	30	38	47	47	39	31	30
Cistina		8	10	7	7	22	11	13	8	8
Glutamato		103	89	75	167	91	93	105	73	69
Glicina		62	54	50	61	48	37	34	36	31
Histidina ⁺		16	13	10	17	12	12	12	10	9
Isoleucina ⁺		20	22	18	19	29	24	24	16	17
Leucina ⁺		40	39	33	39	46	38	58	29	28
Lisina ⁺		36	35	27	38	29	32	25	24	22
Metionina ⁺		11	16	13	8	12	11	14	10	10
Fenilalanina ⁺		22	22	19	18	28	24	28	17	17
Prolina		54	40	37	49	48	34	42	31	28
Serina		27	26	21	25	42	23	26	19	17
Taurina		7	9	6	5	5	5	4	5	5
Treonina ⁺		19	23	18	20	25	19	19	16	14
Tirosina		15	17	14	15	19	17	22	12	12
Valina ⁺		20	28	34	18	37	26	28	21	20

⁺Aminoácidos essenciais

⁺⁺Estimado pela diferença: 100 – (PB + EE + MM), no qual se inclui a fibra bruta (NRC, 2011).

^{**}Estimado pela equação: (5,44 x PB) + (9,44 x EE) + (4,11 x CHO)

¹ Pesquera Pacific Star, Salmonoil S.A. Sector La Campana S/A, Calbuco, Chile.

² Nicoluzzi Rações Ltda., Penha, SC, Brasil.

³ IRCA Nutrição Animal, Carpina, PE, Brasil.

⁴ Nutreco Brasil. Avivar Alimentos – São Sebastião do Oeste, MG, Brasil.

⁵ Bunge, Luis Eduardo Magalhães – BA, Brasil.

⁶ Ingredion Brasil Ing. Ind. Ltda. Cabo de Santo Agostinho, PE, Brasil.

⁷ Pena Branca, Recife, PE, Brasil.

⁸ Supranor, Recife, PE, Brasil.

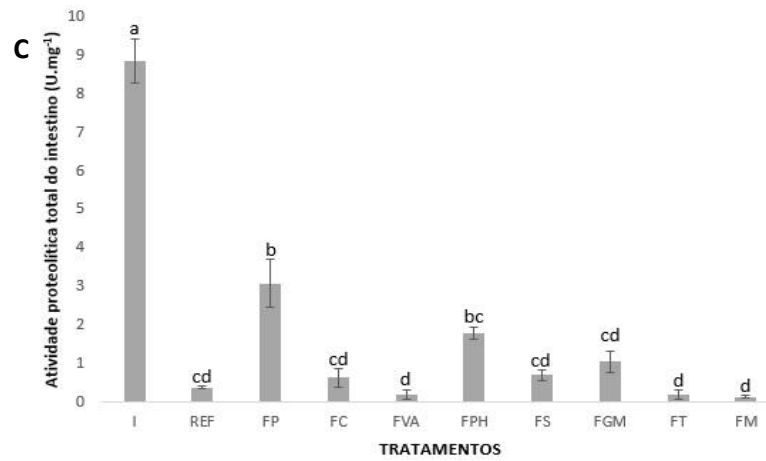
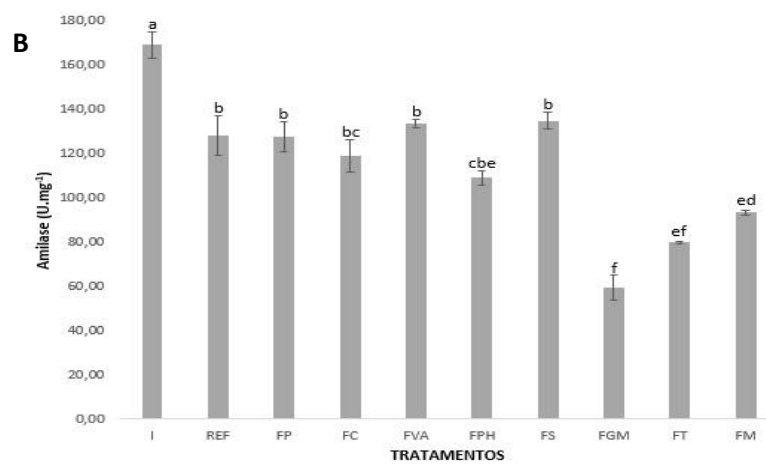
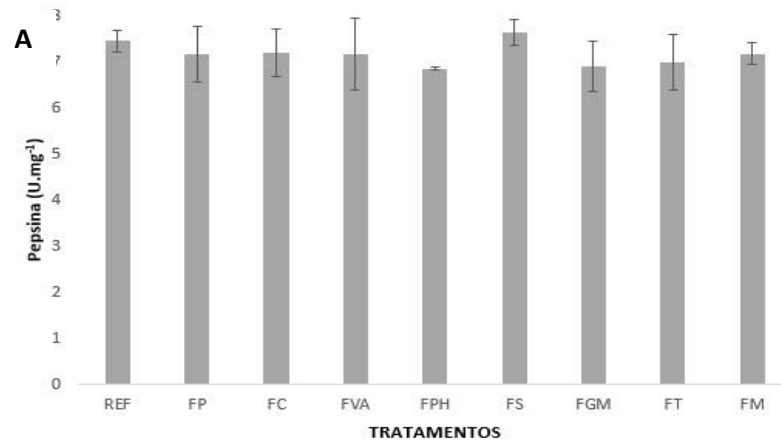
I*: Ração comercial ofertada inicialmente para os peixes. Farinha de peixe (58%), farelo de soja, óleo de peixe, premix mineral (óxido de ferro, carbonato e cobalto, diglicinato de cobre, iodato de cálcio, diglicinato de manganês, fosfato monossódico, sulfato de magnésio, óxido de magnésio, selenometionina, didlicinato de zinco), premix vitamínico (vitaminas: A, D3, E, C, K3, B1, B2, B12, ácido pantotênico, ácido fólico, biotina, niacina, cloreto de colina, inositol); antioxidante (BHT, propilgalato, etoxiquina, proplanato de cálcio); lecitina de soja; pigmentantes; óleo vegetal.

Tabela 3 – Médias (\pm IC) dos coeficientes da digestibilidade aparente (%) da matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), matéria mineral (MM), fósforo (P) e energia bruta (EB) da farinha de peixe (FP), farinha de camarão (FC), farinha de vísceras de aves (FVA), farinha de pena hidrolisada (FPH), farelo de soja (FS), farelo de glúten de milho (FGM), farelo de trigo (FT) e farinha de milho (FM) para juvenis de robalo-flecha (*Centropomus undecimalis*).

Dietas/Nutrientes	MS	PB	EE	MM	P	EB
FP	122,0 ^b (\pm 1,0)	100,1 ^b (\pm 0,3)	98,8 ^{ab} (\pm 0,2)	75,2 ^b (\pm 0,9)	88,3 ^b (\pm 0,3)	118,6 ^a (\pm 0,4)
FC	105,2 ^c (\pm 1,2)	96,6 ^{bc} (\pm 0,1)	98,3 ^b (\pm 0,1)	64,1 ^c (\pm 0,7)	80,6 ^c (\pm 2,2)	117,4 ^a (\pm 0,7)
FVA	85,5 ^d (\pm 18,1)	94,4 ^e (\pm 1,8)	93,5 ^d (\pm 3,2)	37,4 ^{de} (\pm 12,0)	80,7 ^c (\pm 2,8)	92,4 ^c (\pm 9,8)
FPH	141,5 ^a (\pm 3,3)	101,6 ^{ab} (\pm 0,3)	91,1 ^e (\pm 0,1)	90,3 ^a (\pm 0,6)	98,0 ^a (\pm 1,0)	102,7 ^b (\pm 1,1)
FS	82,9 ^d (\pm 5,9)	97,6 ^{bc} (\pm 1,4)	95,0 ^c (\pm 1,3)	28,8 ^e (\pm 5,4)	80,4 ^c (\pm 2,2)	86,8 ^{cd} (\pm 0,5)
FGM	145,9 ^a (\pm 0,2)	102,5 ^a (\pm 0,1)	99,8 ^a (\pm 0,1)	97,8 ^a (\pm 0,1)	99,8 ^a (\pm 0,0)	105,5 ^b (\pm 0,1)
FT	101,0 ^c (\pm 4,0)	98,1 ^c (\pm 0,2)	95,2 ^c (\pm 0,3)	66,2 ^{bc} (\pm 2,2)	88,5 ^b (\pm 0,6)	92,1 ^c (\pm 1,6)
FM	101,4 ^c (\pm 8,9)	96,0 ^{de} (\pm 1,7)	95,7 ^c (\pm 0,8)	47,8 ^d (\pm 13,0)	83,3 ^{bc} (\pm 3,0)	89,7 ^{cd} (\pm 3,5)
CV (%)	2,83	0,60	0,42	5,76	2,65	1,10

Letras sobrescritas em cada coluna indicam diferenças significativas ($P < 0,05$).

CV = Coeficiente de variação de Person.



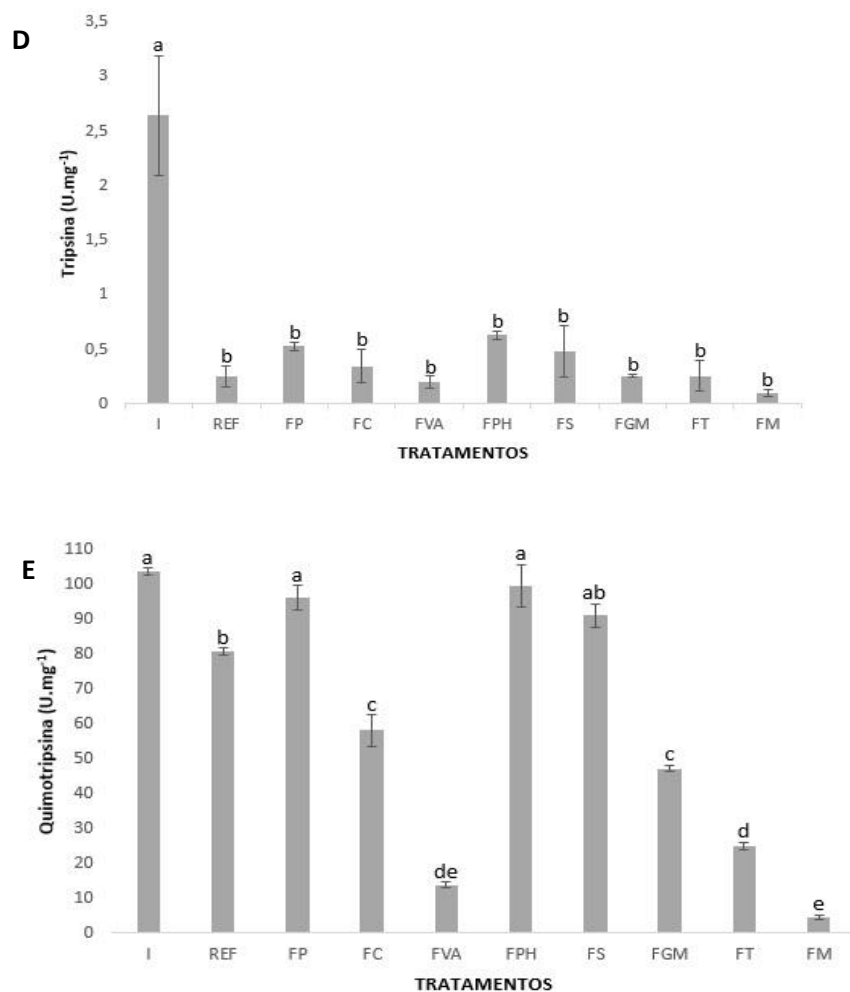


Figure 1. Atividade enzimática do estômago e intestino dos juvenis de *Centropomus undecimalis* submetidos a diferentes dietas – I, REF, FP, FC, FVA, FPH, FS, FGM, FT e FM: A – Atividade proteolítica total do intestino usando azocasaína 1%, B – Atividade da tripsina usando 8 mM BApNA, C – atividade da quimotripsina usando 8 mM SApNA, D – Atividade da pepsina, E – Atividade da amilase. Médias ± IC obtidos a partir de ensaios in vitro, em triplicatas. Letras sobrescritas diferentes indicam diferença estatística na atividade enzimática entre os tratamentos (Tukey, P <0.05).

Tabela 4 – Médias (\pm IC) das atividades das aminopeptidases ($\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$) do extrato de enzimas do intestino de juvenis do robalo-flecha (*Centropomus undecimalis*), alanina, arginina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, prolina, serina e tirosina, tendo aminoacilo de β -naftilamida como

	Alanina	Arginina	Glicina	Histidina	Isoleucina	Leucina	Prolina	Serina	Tirosina
I	35,22 \pm 0,2 ^c	15,01 \pm 0,4 ^b	6,28 \pm 1,0 ^{bc}	2,33 \pm 0,1 ^b	2,10 \pm 0,1 ^c	23,55 \pm 0,5 ^b	7,66 \pm 0,3 ^d	3,66 \pm 0,0 ^a	6,73 \pm 0,2 ^b
REF	36,59 \pm 0,3 ^b	21,12 \pm 0,3 ^a	7,14 \pm 0,4 ^b	3,42 \pm 0,1 ^a	3,29 \pm 0,1 ^b	28,31 \pm 1,1 ^a	9,00 \pm 0,4 ^c	3,78 \pm 0,3 ^a	8,55 \pm 0,2 ^a
FP	45,52 \pm 0,6 ^a	20,32 \pm 0,5 ^a	10,72 \pm 0,7 ^a	3,38 \pm 0,1 ^a	4,07 \pm 0,2 ^a	26,21 \pm 0,9 ^a	16,86 \pm 0,1 ^a	4,30 \pm 0,4 ^a	8,09 \pm 0,1 ^a
FC	17,93 \pm 0,1 ^d	6,42 \pm 0,1 ^{de}	3,34 \pm 0,1 ^{de}	1,14 \pm 0,1 ^{de}	1,39 \pm 0,1 ^{de}	10,68 \pm 0,1 ^d	5,33 \pm 0,1 ^f	1,89 \pm 0,0 ^{cb}	3,79 \pm 0,0 ^d
FVA	18,59 \pm 0,2 ^d	7,37 \pm 0,2 ^d	4,73 \pm 0,1 ^{cd}	3,38 \pm 0,1 ^a	1,76 \pm 0,1 ^{cd}	9,03 \pm 0,8 ^{de}	6,74 \pm 0,3 ^e	1,54 \pm 0,0 ^c	3,89 \pm 0,4 ^d
FPH	14,90 \pm 0,2 ^e	6,35 \pm 0,0 ^{de}	3,24 \pm 0,2 ^{de}	1,13 \pm 0,1 ^{de}	1,45 \pm 0,0 ^d	8,67 \pm 0,4 ^{de}	3,19 \pm 0,0 ^g	2,21 \pm 0,1 ^b	4,00 \pm 0,1 ^d
FS	12,16 \pm 0,2 ^f	4,74 \pm 0,1 ^f	2,88 \pm 0,2 ^e	0,82 \pm 0,1 ^e	0,85 \pm 0,1 ^e	7,30 \pm 0,1 ^e	4,01 \pm 0,1 ^g	1,44 \pm 0,0 ^c	2,75 \pm 0,0 ^{ef}
FGM	14,46 \pm 0,1 ^e	5,69 \pm 0,1 ^{ef}	3,50 \pm 0,5 ^{de}	0,75 \pm 0,1 ^e	1,37 \pm 0,0 ^{de}	9,21 \pm 0,1 ^{de}	6,64 \pm 0,1 ^e	1,70 \pm 0,0 ^{cb}	2,67 \pm 0,1 ^f
FT	17,79 \pm 0,7 ^d	6,94 \pm 0,1 ^d	0,73 \pm 0,4 ^f	1,03 \pm 0,1 ^{de}	2,02 \pm 0,2 ^c	10,89 \pm 0,1 ^d	12,34 \pm 0,1 ^b	1,43 \pm 0,0 ^c	3,43 \pm 0,1 ^{de}
FM	19,84 \pm 1,2 ^d	8,54 \pm 0,2 ^c	4,25 \pm 0,1 ^{cde}	1,80 \pm 0,2 ^c	2,22 \pm 0,0 ^c	14,78 \pm 0,2 ^c	12,21 \pm 0,2 ^b	2,23 \pm 0,1 ^b	5,10 \pm 0,1 ^c
CV (%)	4,98	5,70	15,23	14,16	14,36	7,80	5,36	13,02	6,78

substrato.

Peixes alimentados com: ração comercial (I, inicial), dietas referência (REF), farinha de peixe (FP), farinha de camarão (FC), farinha de vísceras de aves (FVA), farinha de pena hidrolisada (FPH), farelo de soja (FS), farelo de glúten de milho (FGM), farelo de trigo (FT) e farinha de milho (FM).

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre os tratamentos ($P < 0,05$).

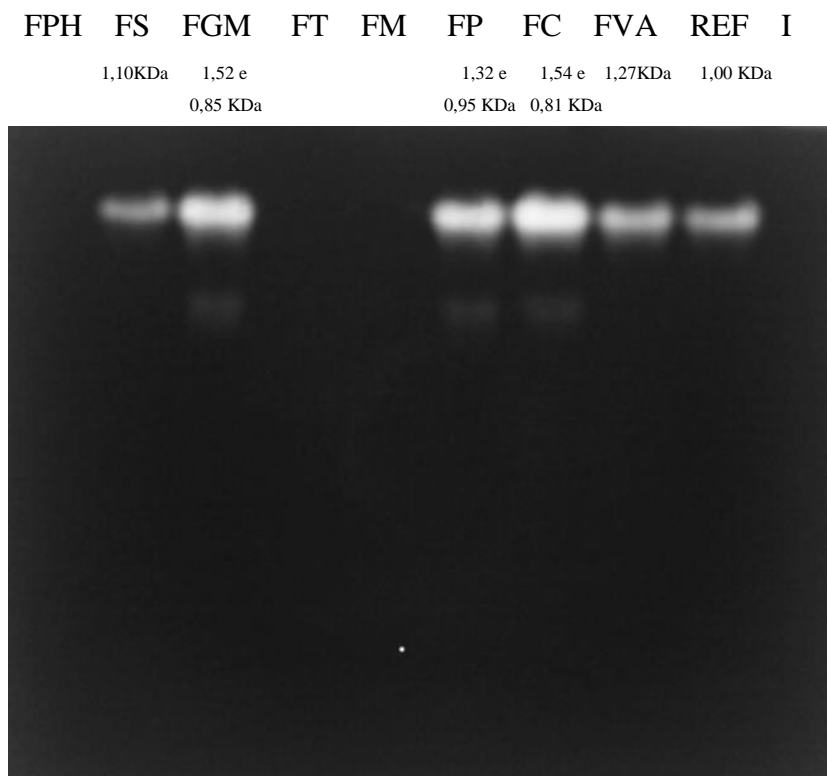


Figure 2. Zimograma de proteases digestivas, usando 3% hemoglobina como substrato, do extrato bruto do estômago de juvenis de *Centropomus undecimalis* alimentados com dietas contendo diferentes ingredientes proteicos e energéticos: dieta inicial (I), referência (REF), farinha de peixe (FP), farinha de camarão (FC), farinha de vísceras de aves (FVA), farinha de pena hidrolisada (FPH), farelo de soja (FS), farelo de glúten de milho (FGM), farelo de trigo (FT) e farinha de milho (FM).

FT FC FP FPH FM FGM FVA REF I FS



Figure 3. Zimograma de proteases digestivas, usando 2% amido como substrato, do extrato bruto do intestino de juvenis de robalo-flecha (*Centropomus undecimalis*) contendo diferentes alimentos proteicos e energéticos.: dieta inicial (I), Referência (REF), farinha de peixe (FP), farinha de camarão (FC), farinha de vísceras de aves (FVA), farinha de pena hidrolisada (FPH), farelo de soja (FS), farelo de glúten de milho (FGM), farelo de trigo (FT) e farinha de milho (FM).

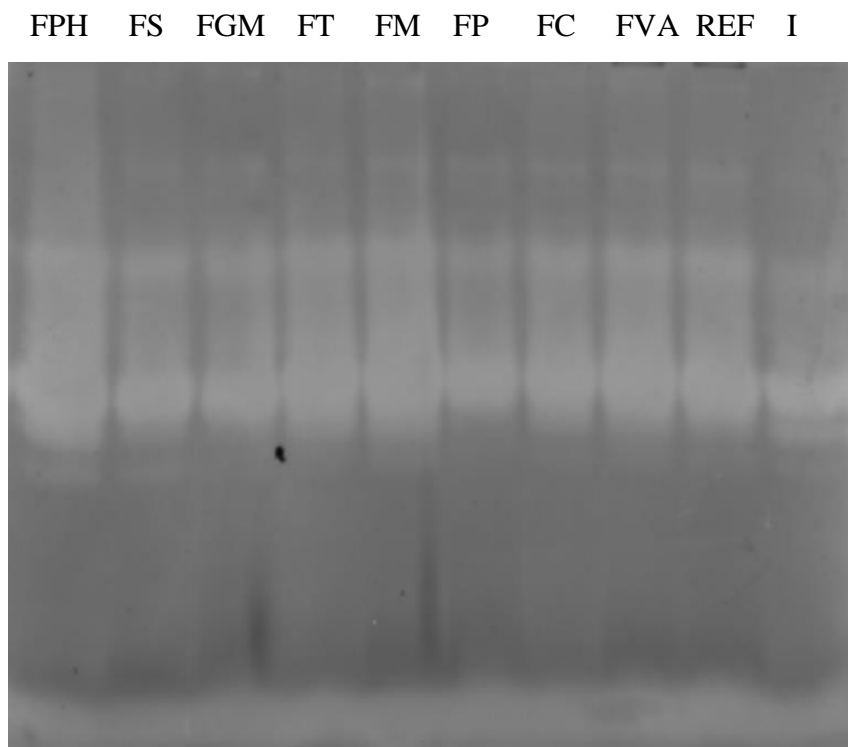


Figure 4. Zimograma de proteases digestivas, usando 3% caseína como substrato, do extrato bruto do intestino de juvenis de *Centropomus undecimalis* alimentados com dietas contendo diferentes ingredientes proteicos e energéticos: dieta inicial (I), referência (REF), farinha de peixe (FP), farinha de camarão (FC), farinha de vísceras de aves (FVA), farinha de pena hidrolisada (FPH), farelo de soja (FS), farelo de glúten de milho (FGM), farelo de trigo (FT) e farinha de milho (FM).

4. 4- Normas da Fish Physiology and Biochemistry

Editor-in-Chief: Patrick Kestemont

ISSN: 1573-5168 (versão eletrônica)

http://www.springer.com/life+sciences/ecology/journal/10695?detailsPage=pltc_1060339

© Springer, Part of Springer Science+Business Media Privacy Policy, General Terms & Conditions, 2016