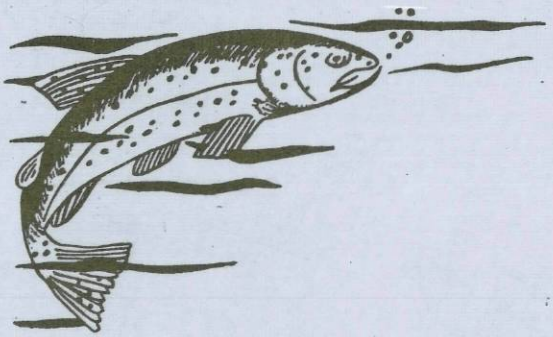
Emídio Ferreira dos Santos Gomes

A PROTEÍNA E A ENERGIA NA ALIMENTAÇÃO DA TRUTA ARCO-ÍRIS *(Oncorhynchus mykiss)*.

EFEITO DO TIPO E QUALIDADE DAS MATÉRIAS-PRIMAS UTILIZADAS



Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar
UNIVERSIDADE DO PORTO

Porto, 1991

Emídio Ferreira dos Santos Gomes

A PROTEÍNA E A ENERGIA NA ALIMENTAÇÃO DA TRUTA ARCO-ÍRIS *(Oncorhynchus mykiss)*.

EFEITO DO TIPO E QUALIDADE DAS MATÉRIAS-PRIMAS UTILIZADAS

DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS DE ABEL SALAZAR DA UNIVERSIDADE DO PORTO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ESPECIALIDADE DE NUTRIÇÃO

Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar
UNIVERSIDADE DO PORTO

Porto, 1991

AGRADECIMENTOS

Ao terminarmos esta tese de doutoramento queremos aqui deixar expresso o nosso reconhecimento a um conjunto de pessoas e instituições pelo auxílio que nos prestaram, o qual contribuiu de forma decisiva para a realização deste trabalho. A todos sem excepção o nosso muito obrigado.

Ao Doutor Sadasivam Kaushik, Director do Laboratório de Nutrição do INRA de St-Pée/Nivelle, França e responsável pela orientação desta tese, o nosso reconhecimento profundo por todo o apoio que nos prestou. Para além de todo o interesse e disponibilidade que sempre teve ao longo deste trabalho e do acolhimento magnífico que nos dispensou no seu laboratório, é também motivo de enorme gratidão a amizade com que nos tem distinguido.

Ao Professor Doutor João Coimbra, co-orientador deste trabalho e responsável do Sector de Produção Aquática do ICBAS, agradecemos todo o apoio que nos tem dispensado ao longo de todo o trabalho. A ajuda e solidariedade demonstradas num momento particularmente difícil da nossa carreira académica merecem um reconhecimento especial.

Ao Conselho Directivo do ICBAS presidido pelo Prof. Paulo Mendo e ao qual tive a honra de pertencer, queremos agradecer todo o apoio que sempre nos prestaram todos os seus

membros. É justa também uma palavra especial de reconhecimento ao Sector Administrativo do ICBAS, nas pessoas do Dr. Aníbal Cunha, D. Cândida Lobo, D. Jeci Pereira e D. Fernanda Melo. A todos os funcionários deste sector o nosso agradecimento pelo auxilio prestado.

Ao meu colega Eng. Óscar Pereira, queremos agradecer a ajuda sempre pronta e desinteressada que nos dispensou ao longo deste trabalho, em especial toda a disponibilidade para a utilização do equipamento da Divisão de Piscicultura da UTAD.

Ao Exmo Director do Centro Aquícola do Rio Ave, Eng. Eduardo Lencastre, o nosso agrdecimento por todo o apoio que sempre nos prestou de forma desinteressada durante este trabalho. Ainda da estação aquícola, uma palavra especial de reconhecimento ao auxílio do Eng. Carlos Pereira. A todos os restantes funcionários deste centro o nosso obrigado.

Ao Laboratório Do INRA de St-Pée/Nivelle nas pessoas da Drª Françoise Medale, Mme Denise Blanc, Mme Peyrotte e Drª Corraze, o nosso agradecimento pelo magnífico acolhimento e auxílio dispensados.

Ao meu colega e amigo Eng. Paulo Rema, quero agradecer a colaboração magnífica que me tem prestado desde que iniciou o seu trabalho como aluno estagiário. A amizade sincera será sempre o meu melhor agradecimento.

Ao Professor Doutor Arnaldo Silva, Catedrático da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, uma palavra especial de reconhecimento, pelos incentivos que sempre me dispensou ao longo de todo o trabalho. É um orgulho ter sido seu aluno estagiário e a forma brilhante como me orientou e ajudou, muito contribuiu para criar as bases necessárias ao trabalho posteriormente desenvolvido.

À Junta Nacional de Investigação Científica e Tecnológica, pelo financiamento do projecto Nº 87/421 área mar, o qual foi um contributo decisivo para a realização deste trabalho.

O mesmo agradecimento à empresa SORGAL, na pessoa do seu presidente, pelo protocolo de investigação celebrado com o ICBAS, o qual foi também um contributo importante.

À Angelina Marques, técnica do laboratório de nutrição da UTAD o nosso obrigado pela ajuda prestada a parte do trabalho analítico desta tese.

De igual modo às Drªs Laura Ribeiro, Teresa Sequeira, Lília Amaral e D. Sara Gomes, o meu reconhecimento pelo auxílio prestado. A Prof. Dr. Rogério Monteiro uma palavra de agradecimento pela disponibilidade sempre manifestada para nos auxiliar.

Ao colega e amigo Dr. José Fernando agradeço com sinceridade todo o apoio que me tem dispensado.

Ao meu colega Dr. Bento Sousa quero agradecer todo o auxílio prestado.

Ao Eng. António Castro pela ajuda e incentivo que sempre nos tem dispensado.

O mesmo agradecimento é devido aos amigos Drs. António Afonso e Dr. Vítor Carvalho.

Aos Srs. Anselmo Carraça do gabinete de desenho e Gualter da secção de reprografia pela execução gráfica e impressão deste trabalho.

Aos Profs. Aires Oliva Teles e António Gouveia e Drª Ana Maria Rodrigues, do Instituto de Zoologia Augusto Nobre, o meu agradecimento pelos esclarecimentos e auxílio dispensado.

Finalmente, devo agradecer à minha família, particularmente à minha mulher, pais e avó, a ajuda e compreensão dispensada e que foi fundamental para a realização deste trabalho.

Um agradecimento final a todos os meus amigos e aqueles que por qualquer forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Á MINHA MULHER ANABELA

AOS MEUS PAIS E AVÓ

ÍNDICE

I. INTRODUÇÃO GERAL.....1

1. INTRODUÇÃO.....1

2. FONTES DE PROTEÍNA UTILIZADAS NA ALIMENTAÇÃO DOS PEIXES

2.1. Proteínas de origem animal.....5

2.2. Proteínas de origem vegetal.....17

3. FACTORES ANTI-NUTRICIONAIS COMO RESTRIÇÃO PRINCIPAL À UTILIZAÇÃO DE MATÉRIAS-PRIMAS DE ORIGEM VEGETAL

3.1. Introdução.....24

3.2. Inibidores de enzimas proteolíticas.....26

3.3. Hemaglutininas.....29

3.4. Alcalóides.....30

3.5. Compostos polifenólicos.....31

3.6. Ácido fítico.....32

3.7. Glucosinolatos.....34

3.8. Gossipol.....35

3.9. Factores anti-vitamínicos.....36

II - TRABALHO EXPERIMENTAL

CAPÍTULO I. METODOLOGIA GERAL UTILIZADA

1. Material animal utilizado.....38

2. Ensaios de crescimento.....38

2.1. Instalações experimentais.....38
2.2. Protocolo experimental.....40
3. Ensaios de digestibilidade.....41
3.1. Instalações experimentais.....41
3.2. Protocolo experimental.....42
4. Preparação das dietas experimentais.....44
5. Métodos analíticos.....45
5.1. Recolha e preparação das amostras.....45
5.2. Humidade.....49
5.3. Proteína bruta.....49
5.4. Cinzas.....49
5.5. Gordura bruta.....49
5.6. Energia bruta.....50
5.7. Ácidos aminados.....50
5.8. Ácidos gordos.....50
5.9. Constituintes da parede celular.....51
5.10. Amido.....51
5.11. Óxido de crómio.....51
5.12. Cálcio, zinco e magnésio.....52
5.13. Ácidos aminados livres.....52
5.14. Glucose.....52
5.15. Amónia.....52
6. Análise estatística.....53
7. Definição dos termos utilizados.....53

CAPÍTULO II. ESTUDOS SOBRE O VALOR NUTRITIVO DE TRÊS PROTEAGINOSAS, TREMOÇO (*Lupinus angustifolius*), ERVILHA (*Pisum sativum*) e FEVEROL (*Vicia faba*)

1. Introdução.....55
2. Material e métodos.....56
3. Resultados.....64
3.1. Crescimento e eficiência de utilização dos alimentos..64
3.2. Coeficientes de utilização digestiva aparentes.....71
3.3. Comparação do óxido de crómio, ADF e celulose como marcadores utilizados na determinação dos coeficientes de utilização digestiva.....74
3.4. Composição corporal e índice hepato-somático das trutas no início e fim das experiências.....77
3.5. Balanços energéticos e azotados.....82
4. Discussão.....87

CAPÍTULO III. EFEITO DOS TRATAMENTOS DE COZEDURA E COZEDURA-EXTRUSÃO NA UTILIZAÇÃO DE FONTES DE ENERGIA E PROTEÍNA/ENERGIA DE ORIGEM VEGETAL

1. ESTUDO DA UTILIZAÇÃO DO TRITICALE EM DIETAS PARA TRUTA ARCO-ÍRIS : EFEITO DO NÍVEL DE INCORPORAÇÃO E DA COZEDURA

1.1. Introdução.....94
1.2. Material e métodos.....96
1.3. Resultados.....100
1.3.1. Crescimento e eficiência de utilização alimentar...100
1.3.2. Composição corporal, índice hepato-somático e retenção de nutrientes.....103

1.3.3. Coeficientes de digestibilidade aparentes e balanços energético e azotado.....106
1.3.4. Glucose e ácidos aminados livres totais no plasma..109
1.4. Discussão.....112

2. ESTUDO DA UTILIZAÇÃO DA "COLZAPRO" COMO UMA FONTE DE PROTEÍNA/ENERGIA NAS DIETAS PARA TRUTA ARCO-ÍRIS

2.1. Introdução.....117
2.2. Material e métodos.....119
2.3. Resultados.....126
2.3.1. Composição química dos alimentos.....126
2.3.2. Crescimento e eficiência de utilização dos alimentos.....126
2.3.3. Coeficientes de utilização digestiva das dietas usadas para o estudo da "colzapro".....127
2.3.4. Composição corporal e índice hepato-somático.....131
2.3.5. Balanços energéticos e azotados e excreção de amónia.....133
2.3.6. Composição em ácidos gordos do músculo.....137
2.3.7. Histologia da tiróide.....138
2.4. Discussão.....141

CAPÍTULO IV. ESTUDO DO EFEITO DA SUBSTITUIÇÃO DO ZINCO INORGÂNICO DA DIETA POR ZINCO/METIONINA NA UTILIZAÇÃO DE PROTEÍNAS ANIMAIS E VEGETAIS NA ALIMENTAÇÃO DA TRUTA ARCO-ÍRIS

1. Introdução.....149
2. Material e métodos.....152

3. Resultados.....157
3.1. Composição química dos alimentos.....157
3.2. Crescimento e eficiência de utilização dos alimentos.158
3.3. Coeficientes de utilização digestiva.....162
3.4. Evolução dos teores em zinco, cálcio e
magnésio no plasma.....163
3.5. Teores em zinco, cálcio e magnésio na carcaça.....174
3.6. Teores em zinco, cálcio e magnésio nas vísceras.....185
4. Discussão.....196

CAPÍTULO V. EFEITO DA UTILIZAÇÃO DE PROTEÍNAS ANIMAIS OU VEGETAIS NO CRESCIMENTO DE TRUTAS ARCO-ÍRIS ESTIMADO A PARTIR DA DETERMINAÇÃO DA PROTEÍNA E ENERGIA DIGESTÍVEIS

1. Introdução.....202
2. Material e métodos.....204
3. Resultados.....208
3.1. Coeficientes de utilização digestiva
das matérias-primas.....208
3.2. Crescimento e eficiência de utilização dos alimentos.211
4. Discussão.....214

III. CONCLUSÕES GERAIS.....221

III. SUMMARY.....226

IV. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....230

I - INTRODUÇÃO GERAL

1. INTRODUÇÃO

A aquacultura intensiva é uma actividade de desenvolvimento relativamente recente no âmbito da Produção Animal e pressupõe, por definição, a ocupação do meio aquático com densidades elevadas de peixe, produzido através do recurso a dietas completas artificiais, suporte biológico da indústria de alimentos compostos comerciais (Hastings, 1970). Sendo certo que a alimentação dos monogástricos convencionais, aves e suínos, com recurso exclusivo à utilização de concentrados, representa desde há várias décadas uma actividade vincadamente industrial e de grande impacto económico, a utilização deste tipo de prática alimentar nos peixes é muito mais recente no seu desenvolvimento (Millán et al., 1987). A exploração comercial da cultura de salmonídeos teve um papel pioneiro no desenvolvimento da aquacultura industrial, não admirando assim que tenha sido nas diversas espécies de trutas, que se tenham efectuado os primeiros trabalhos sobre nutrição de peixes. A referência ao aparecimento do primeiro alimento composto comercial em Portugal, destinado a truta arco-íris, data de 1973 (informação pessoal obtida junto do Centro Aquícola de Vila do Conde), sendo a prática utilizada até essa altura comum à generalidade de outros países, ou seja, o recurso à utilização de pastas de fígado, fresco ou congelado (Hastings e Dickie, 1972), ou a pastas de carne, ingrediente de referência fundamental nos vários trabalhos desenvolvidos pelo grupo de

investigação da estação experimental de Cortland-USA, durante as décadas de cinquenta e sessenta. No entanto, a utilização de pastas de alimento fresco ou congelado, para além de todos os inconvenientes de natureza sanitária, colocava sérios problemas de maneio ás pisciculturas tendo, por isso mesmo, sido efectuados numerosos estudos, visando a obtenção de alimentos compostos completos para todo o ciclo de produção piscícola. Assim, Phillips et al., (1957), referem que a limitação principal à utilização de granulos secos completos na alimentação de truta fario, seria a obrigatoriedade periódica de uma suplementação com pasta de carne fresca. Pese embora ter sido possível alimentar trutas com recurso exclusivo a alimento seco durante doze meses, os peixes apresentavam no final uma grande debilidade e, por outro lado, os ovos recolhidos para a reprodução representaram uma perda absoluta (Phillips et al., 1960). Em trabalho idêntico realizado posteriormente por estes mesmos autores, durante um período de dezoito meses, os resultados foram já satisfatórios, mas o alimento utilizado não é ainda considerado como correctamente balanceado, com algumas carências que afectaram negativamente o crescimento (Phillips et al., 1962). Finalmente, Phillips et al., (1964), referem que: "ao fim de 24 meses, o peixe pode ser perfeitamente manuseado sem perdas, e apresenta uma aparência geral satisfatória. Este lote, em nada é inferior ao outro lote, produzido com recurso à utilização da suplementação das misturas de carne tradicionais". Este trabalho referencia, segundo Hastings (1972), o primeiro alimento granulado completo, utilizado com sucesso na cultura de duas gerações sucessivas de trutas. Sendo

certo que Orme (1970), refere que a formulação de gránulos secos completos para trutas, seria ainda uma tentativa provida de vários factores de erro, é a partir do início dos anos setenta que a alimentação dos peixes sofre um impulso decisivo, benificiando em grande parte da metodologia e conhecimento adquiridos com as aves e suínos (Millikin, 1982; NRC, 1981, 1983; Millán et al., 1987). Se bem que se possam considerar algumas semelhanças com os outros vertebrados superiores nos requisitos básicos em nutrientes, os dois grupos apresentam, no entanto, claras diferenças do ponto de vista de requisitos quantitativos (Tacon e Cowey, 1985).

A grande maioria dos animais que têm sido domesticados com vista ao seu aproveitamento zootécnico, são omnívoros ou herbívoros. Em contraste, uma grande parte das espécies de peixes que se conhece são carnívoras, em especial aquelas que apresentam maior interesse económico para a aquacultura intensiva. Os requisitos elevados em proteína apresentados por estas espécies, obrigam assim à formulação de dietas com alta concentração proteica, capazes de proporcionar boas taxas de produtividade (Tacon e Cowey, 1985; De la Higuera e Cardenete, 1987).

Na cultura intensiva de peixes em cativeiro, nada é mais importante que a utilização de dietas correctamente balanceadas, e uma prática alimentar adequada. A existência de sub-nutrição nunca será capaz de manter animais em bom estado sanitário e produtivo, com consequências negativas óbvias no ambiente circundante (Cho et al., 1985). A forma tradicional de

satisfazer em termos práticos as restrições impostas à formulação destas dietas, tem sido o recurso sistemático a farinhas de peixe de elevado valor biológico. O desenvolvimento exponencial da aquacultura nos últimos anos, associado às crises do mercado mundial de produção de farinha de peixe (Fowler and Banks, 1976), acabou por motivar toda uma série de estudos, relativos à procura de matérias-primas alternativas (De La Higuera et al., 1988; Kaushik, 1989). Por outro lado, revisões críticas aos requisitos proteicos dos peixes (Luquet e Kaushik, 1980; Tacon e Cowey, 1985; Cowey e Luquet, 1983; Bowen, 1987), evidenciaram que, em termos absolutos, os peixes não requerem maior quantidade de proteína que os vertebrados superiores, sendo a eficácia de utilização proteica sensivelmente idêntica.É também bem conhecida a utilização pelos peixes de uma boa parte da proteína alimentar para fins energéticos. A tentativa de baixar o teor em proteína das dietas, através da incorporação de outras fontes de energia, nomeadamente de teores elevados de lípidos ou glícidos digestíveis na dieta, tem sido outra das grandes linhas de estudo da nutrição de peixes dos últimos anos, em grande parte sintetizada na tentativa de optimização da relação proteína/energia (Cho et al., 1982; Cho and Kaushik, 1985; Cho and Kaushik, 1990).

Em Portugal, como na maioria dos países que têm um desenvolvimento acentuado da aquacultura, a produção de salmonídeos é a mais importante, com uma estimativa de 2000 toneladas de truta arco-íris prevista para 1990, produção esta que se prevê venha a ser duplicada a curto prazo, com a inclusão

da cultura do salmão. Por outro lado, sendo a produção nacional de farinhas de peixe escassa e de má qualidade, a necessidade de uma caracterização rigorosa das matérias-primas, consideradas como não convencionais na alimentação dos peixes, tais como as proteínas de origem vegetal e os cereais, habitualmente utilizados como componentes básicos principais da formulação de dietas para os vertebrados superiores, levou à implementação deste trabalho de doutoramento. A importância económica atribuída nos últimos anos pela CEE, à produção de algumas proteaginosas, foi outro dos factores considerados para a sua inclusão nesta dissertação, em que se irá procurar complementar os estudos de natureza mais clássica e aplicada da zootecnia, com o recurso a outros que permitam a compreeensão de alguns factores de origem mais fundamental.

2. FONTES DE PROTEÍNA UTILIZADAS NA ALIMENTAÇÃO DOS PEIXES

2.1. Proteínas de origem animal

Sendo reconhecido o facto de a farinha de peixe, representar a fonte de proteína que melhor poderá satisfazer os requisitos nutricionais dos peixes, será correcto que, antes de se considerar e discutir os diferentes aspectos da sua substituição por fontes proteicas alternativas, sejam revistos de forma cuidada os parâmetros que definem a qualidade potencial da sua utilização em aquacultura (Kaushik, 1989). De facto, são mais raros os estudos que se tentam debruçar sobre a avaliação

da qualidade das farinhas de peixe, quando comparados com a grande quantidade de outros trabalhos efectuados sobre as suas possibilidades de redução ou substituição.

De entre os factores que influenciam de forma mais directa a qualidade das farinhas de peixe, o tipo de peixe a partir do qual é obtida a matéria-prima, o estado de frescura do pescado aquando da sua laboração, as porções da carcaça utilizadas para o fabrico das farinhas e as condições tecnológicas utilizadas, são geralmente considerados como os mais importantes (KaushiK, 1989; Pike et al., 1990; Gulbrandsen, 1986; Gouveia, 1989; De La higuera e Cardenete, 1987 e Watanabe et al., 1983).

As farinhas de peixe obtidas a partir da laboração de pescado branco, com realce para algumas espécies de bacalhau de menor valor comercial, foram consideradas como as de valor nutritivo mais elevado para incorporar nas dietas a utilizar em aquacultura, quando em comparação com as farinhas escuras, produzidas a partir de peixes mais gordos como a anchova e a sardinha (Nomura et al., 1972; Fowler e Banks, 1976; De La Higuera e Cardenete, 1987). No entanto, esta diferença não parece ser comprovada pela variação da composição em ácidos aminados (tabela 1.). Watanabe et al. (1983), testando cinco tipos diferentes de fainhas escuras, demonstraram claramente que estas possuíam valor nutritivo idêntico ás farinhas de peixe branco, sendo a deterioração da proteína por secagem excessiva e a

oxidação da gordura presente em maior quantidade nas farinhas escuras, as razões apontadas para os resultados negativos obtidos anteriormente. Por outro lado, watanabe et al. (1983), referem ainda que, para além da boa qualidade da proteína das farinhas de peixe escuras, estas têm ainda a vantagem de representar uma fonte de ácidos gordos essenciais. Nas farinhas obtidas a partir de peixe branco, onde a maior quantidade de gordura se acumula a nível do fígado, a extracção prévia deste orgão origina a obtenção de um produto final com um teor mais baixo neste nutriente.

O estado de frescura do peixe utilizado, é outro dos factores que influí directamente na qualidade do produto final obtido (Goldhor and Regenstein, 1987). De facto, a partir do momento em que é efectuada a captura do peixe, este pode começar a ser afectado por processos de degradação autolíticos, ou por acção das bactérias presentes na sua superfície exterior. A degradação progressiva das proteínas, origina a formação de peptídeos de cadeia mais curta, ácidos aminados livres, aminas e amónia (Pike et al., 1990). As aminas são formadas a partir da descarboxilação dos ácidos aminados (aminas biogénicas), estando algumas delas apresentadas na tabela 2.

Outra indicação do estado de frescura do peixe, é normalmente fornecida pelo teor em azoto básico volátil, que aumenta proporcionalmente com o grau de degradação existente. O ritmo a que esta degradação se processa, depende de factores como a espécie, o tempo de armazenamento e a temperatura (Klausen

e Lunde, 1986). Assim, o ritmo de deterioração aumenta directamente com a temperatura, bem como com o facto de o tracto gastro-intestinal se encontrar, ou não, cheio na altura da captura e haver ou não maceração da carcaça durante esta fase. Por outro lado, durante o processamento das farinhas, a fase líquida que é gerada promove o arrastamento de parte das aminas biogénicas, que deixam assim de representar um critério rigoroso de avaliação da frescura do produto final. Usando o azoto básico volátil, como critério de estimativa da frescura da matéria-prima utilizada, o seu valor deverá ser inferior a 90 mg de azoto por 100 gramas de peixe fresco (Pike et al., 1990).

As farinhas de peixe podem ser obtidas a partir da transformação de peixe inteiro, directamente da pesca ou, muito frequentemente, de resíduos provenientes das indústrias transformadoras de pescado, com evidência para a indústria conserveira. Em rigor, neste último tipo de farinhas seria mais correcto utilizar a terminologia de "farinha de resíduos", do que a designação usual de farinha de peixe (Satoh et al., 1983; Toyama et al., 1984). Satoh et al. (1983), encontraram uma variação clara do valor nutricional das farinhas de resíduos de peixe de diferentes proveniências, ao longo do ano, em que as farinhas de pior qualidade seriam apenas um substituto parcial

Tabela 1. Composição em ácidos aminados de farinhas de peixe

	Arenque	Anchova	Brancas	Sardinha*	Portugal
	---------- % da proteína ----------				
Arginina	5.84	5.82	6.37	5.90	3.38
Histidina	2.41	2.43	2.01	3.00	4.61
Isoleucina	4.49	4.68	3.70	4.50	6.15
Leucina	7.50	7.62	7.30	7.30	3.66
Lisina	7.73	7.75	6.90	7.9	7.25
Metionina	2.86	2.95	2.60	2.70	3.83
Fenilalanina	3.91	4.21	3.29	3.90	1.49
Treonina	4.26	4.31	3.85	4.40	5.22
Valina	5.41	5.29	4.47	5.40	1.73
Alanina	6.25	6.31	6.31	6.20	1.84
Ác. Aspártico	9.10	9.49	8.54	9.40	8.15
Cistina	0.97	0.94	0.93	1.10	1.65
Ác. Glutâmico	12.77	12.96	12.79	11.50	6.70
Glicina	5.97	5.62	9.92	6.90	14.57
Prolina	4.15	4.17	5.34	4.50	9.44
Serina	3.82	3.84	4.75	4.30	5.66
Tirosina	3.13	3.40	2.60	2.00	2.59
Triptofano	1.15	1.20	0.94	1.00	----
% Proteína	73.16	65.40	65.01	66.80	63.55

Fonte: Barlow e Windsor, (1984); Gouveia, (1989); * Marrocos

das farinhas de peixe de alta qualidade, em percentagens situadas entre os 10 e os 20%. Por outro lado, Toyoma et al.(1984), demonstraram que essa variação era acompanhada por outra, muito clara e acentuada, da composição química desses resíduos. Assim, os teores de proteína bruta podem variar dos 49 aos 68 % para farinhas com a mesma origem. Sendo os teores em gordura um pouco mais estáveis, verifica-se novamente um aumento da variação para os níveis de cinzas determinados. Avaliando a composição química e o valor nutricional das farinhas de peixe Portuguesas, Gouveia (1989 a, b), encontrou um tipo de variação semelhante à verificada pelos autores japoneses. De facto, para além da inconstância da composição química ao longo do ano, comum a todos os locais de obtenção de amostras, o valor nutritivo das farinhas de peixe nacionais revelou-se, nos ensaios de crescimento efectuados em truta arco-íris, bastante aquém do desejado para uma farinha de peixe com um mínimo de qualidade. A acidez elevada, verificada na maioria da gordura das amostras analisadas, associada a índices de peróxidos e de cinzas também quase sempre muito altos serão, muito provavelmente, as causas mais directas que poderão explicar esses resultados. Assim, será talvez mais correcto que, em vez de se discutir a qualidade das farinhas de peixe portuguesas, se questione a sua existência real e se analise a possível melhoria das farinhas de resíduos produzidas ao longo do ano. A não utilização de peixe inteiro durante a quase totalidade da produção anual, associado ao próprio estado de deterioração da maioria dos resíduos utilizados, originam produtos finais de qualidade geralmente

sofrível, sem que haja qualquer incentivo à produção de farinhas de melhor valor nutritivo. A estabilização da gordura pela adição de anti-oxidantes, a separação dos resíduos por diferentes lotes de qualidade e a certificação microbiológica, serão certamente aspectos prioritários a corrigir.

Tabela 2. Aminas biogénicas observadas em farinhas de peixe

Amina	Ácido aminado a partir do qual é produzida
Histamina	Histidina
Cadaverina	Lisina
Putrescina	Ácido Glutâmico
Espermidina	Arginina
Tiramina	Tirosina

Fonte: Pike et al., (1990)

A tecnologia empregue para o fabrico das farinhas de peixe, é outro dos factores que influencia directamente a qualidade do produto final (Barlow and Pike, 1977; Opstevedt, 1985; Jensen, 1986; Gulbrandsen, 1986; Kauskik, 1989; Pike, 1990). Assim, é aceite pela generalidade dos autores que, quanto mais baixa for a temperatura a que é produzida a farinha de peixe, maior será o seu valor nutritivo, em especial no que se

refere à alimentação de salmão atlântico. As farinhas obtidas a temperaturas baixas, apresentam coeficientes de utilização digestiva mais elevados para os ácidos aminados (Andorstottir et al., 1989), sendo também o risco de deterioração da fracção lipídica substancialmente inferior (Opstevedt, 1985). Este último factor, que pode afectar directamente o crescimento de trutas e salmão (Cowey et al., 1984; Ketola et al., 1989), é particularmente agravado nos casos em que o nível de incorporação de anti-oxidante se situa abaixo do recomendado.

Finalmente, de referir que recentemente foi identificada a presença de hormonas esteróides em alimentos comerciais para peixes, de proveniência atribuída às farinhas de peixe (Plissero et al., 1989), sendo ainda pouco claro o seu efeito anabólico nas performances reprodutivas e de crescimento (Kaushik, 1989).

A primeira forma alternativa a considerar para substituição total ou parcial da farinha de peixe, será a utilização directa do peixe capturado, ou de desperdícios da indústria conserveira, conservados sob forma de silagem (Austreng, 1982; Jackson, 1984 a,b; Asgard and Austreng, 1985). Esta forma de conservação é normalmente efectuada com recurso à adição de ácidos orgânicos, inorgânicos ou de misturas de ambos (Tacon and Jackson, 1985). Se bem que tenham sido obtidos resultados animadores para níveis de incorporação de silagem da ordem dos 50 % ou superiores (Jackson et al., 1984 b; Asgard and Austreng, 1985; Hardy et al., 1984;), este tipo de alternativa apresenta sérios incovenientes

de utilização, que vão desde o aumento dos riscos sanitários e dificuldades de maneio, à inibição do apetite pela presença de ácido pícrico (Austreng, 1982), Degradação da tiamina pela actividade da tiaminase (Anglesea and Jackson, 1985), Degradação do triptofano (Jackson et al., 1984, a) e aumento do perigo da oxidação dos ácidos gordos poli-insaturados (Jackson et al., 1984 a).

As farinhas de Krill, de carne e de carne-e-osso, de sangue, de minhoca, hidrolisados de resíduos de matadouros de aves, e os concentrados de proteína de peixe, têm sido algumas das matérias-primas, que mais frequentemente têm sido testadas como componentes das dietas comerciais para peixes, normalmente com o objectivo de substituição, total ou parcial, da farinha de peixe.

A produção elevada de Krill nas zonas do Antàrtico e Atlântico norte, associada ao seu conteúdo proteico relativamente elevado (superior a 50 %), com balanço em ácidos aminados adequado, terão funcionado como os principais incentivos aos estudos realizados sobre a incorporação deste ingrediente nas dietas para peixes (De La Higuera e Cardenete, 1987). Foram verificados efeitos negativos no crescimento de truta e peixe gato, utilizando krill como fonte única de proteína, ou em substituição total de farinha de peixe (Beck et al., 1977; Hilge, 1979), sendo idênticos os resultados obtidos por Fowler (1985), apenas para 10 % de substituição da farinha de peixe da dieta de salmão "chinook" (*Oncorhynchus Kitsutch*). No entanto, Akiyama et

al. (1984) e Fowler e Banks (1976, b), verificaram um efeito positivo no crescimento, para teores de 5 % de Krill nas dietas de salmão. Koops et al. (1979) e Tiews et al. (1979), referem mesmo a possibilidade de substituição total da farinha de peixe, por farinha de krill, sem quebra de crescimento de truta arco-íris. Finalmente, de referir o problema surgido com a detecção de teores elevados de fluóridos no krill (Soevik and Braekkan, 1979; Grave, 1981), o que devido à possibilidade da sua acumulação no musculo dos peixes e perigo de posterior utilização para consumo humano, veio funcionar como mais um óbice à sua incorporação nas dietas.

As farinhas de carne, que deverão sofrer uma distinção clara das farinhas de carne-e-osso, poderão representar uma proteína alternativa relativamente interessante, em especial se o seu teor em gordura for suficientemente baixo (Coelho, 1984). Por outro lado, os níveis de cinzas apresentados pelas farinhas de carne-e-osso, parecem contribuír decisivamente para a má utilização deste ingrediente pelos salmonídeos, originando uma diminuição no crescimento destes animais, quando em substituição de farinha de peixe (Fowler and Banks, 1976; Gomes, 1987; Gouveia, 1989), ou mesmo de farinha de hidrolisados de penas da galinha (Gropp et al., 1977).

O desenvolvimento recente da minhocultura, com o surgimento previsível da oferta de farinhas de minhoca, terá motivado os estudos efectuados com este ingrediente (Ferruzzi, 1984). Testando três espécies diferentes de minhocas Tacon et al.

(1983), concluíram ser a espécie mais correntemente utilizada em minhocultura, a *Eisenia foetida*, aquela que apresentava valor nutritivo mais baixo, devido a problemas de palatabilidade. Este facto, não obstaria a que valores entre 5 e 30 % da dieta, pudessem ser utilizados em substituição de farinha de peixe, sem efeitos negativos no crescimento (Stafford e Tacon, 1985), resultados confirmados por Akiyama et al. (1984), que demonstraram um efeito benéfico da inclusão de pequenas quantidades de farinha de minhoca, em dietas para salmão chum (*Oncorhynchus Keta*). Hilton (1983), demonstrou que um outro tipo de minhoca (*Eudrilus eigenige*), não representava uma fonte proteica válida para truta arco-íris, mesmo se corrigida para os seus ácidos aminados limitantes. Por outro lado, o teor elevado em humidade da minhoca em fresco (cerca de 90 %), poderá originar custos de fabrico da farinha, que se revelem inviáveis de um ponto de vista económico, em especial se associadas aos baixos níveis de incorporação que serão possíveis em dietas para peixes.

A inclusão de farinha de resíduos de matadouros de aves em dietas para salmonídeos, apresentou resultados bastante satisfatórios, em especial nos casos de uma substituição parcial da farinha de peixe da dieta ((Higgs et al., 1979; Schultz et al., 1982; Steffens, 1985; Gouveia, 1989), sendo mesmo possível a obtenção de crescimentos idênticos, para a sua utilização como fonte proteica exclusiva (Alexis et al., 1985; Steffens, 1987). O problema maior da utilização deste sub-produto está situado na dificuldade da sua conservação, dado ser sujeito a uma degradação fácil e rápida (Steffens, 1985).

Devido ao seu alto conteúdo proteico, superior a 80 % da matéria seca, o sangue tem sido outra das proteínas de origem animal estudadas. No entanto, os resultados até agora obtidos não são muito positivos, com efeitos depressivos no crescimento de salmão "chinook" para 17,5 % de incorporação (Fowler e Banks, 1976, a), sendo de 15 % o nível máximo de incorporação permitido por via húmida em " moist pellets " para truta arco-íris (Asgard e Austreng, 1986). Se bem que o processo de secagem, por tambor ou por spray, possa ter alguma influência no valor biológico da proteína obtida, o desiquilíbrio do balanço em ácidos aminados da proteína do sangue, será provavelmente uma razão suficiente para que o seu nível de incorporação em dietas para peixes, se situe sempre em valores muito baixos (Pavlasova e Vesley, 1983).

A hidrólise controlada dos resíduos da indústria de transformação do pescado, pelo recurso à utilização de enzimas específicas, tem permitido a produção de concentrados de proteína de peixe (Mackie, 1982; Bouchez, 1990). Se bem que seja reconhecida a excelência da sua utilização em dietas para peixes (Kaushik, 1988; Bouchez, 1990), o seu preço de comercialização aparece como o maior obstáculo à sua incorporação generalizada, que deverá assim ficar confinada a fases muito específicas da criação industrial de larvas e juvenis, em que o preço da dieta não é o factor limitante das performances a obter (Tacon and Jackson, 1985).

2.2. Proteínas de origem vegetal

Os estudos relativos à incorporação de uma fonte proteica, deverão ser baseados no conhecimento dos requisitos em proteína da espécie a estudar, em especial no que concerne aos requisitos quantitativos em ácidos aminados essenciais (De La Higuera et al., 1988). Regra geral, admite-se que as fontes de proteína com um balanço em ácidos aminados essenciais idêntico ao da proteína corporal dos animais a alimentar, são as de melhor qualidade e aquelas que promovem um crescimento mais rápido (Nose, 1979). Na tabela 3, são apresentados os requisitos em ácidos aminados essenciais de algumas das espécies mais utilizadas em aquacultura.

De um modo geral, as proteínas de origem vegetal têm um teor proteico mais baixo que as de origem animal, sendo esta uma das restrições ao seu nível de incorporação em dietas, quase sempre com mais de 40 % de proteína. Os concentrados proteicos vegetais, tais como o gluten de milho e o concentrado de soja, constituem a excepção a esta regra, sendo no entanto o seu custo de produção mais um factor a adicionar às restrições de ordem nutricional (Tacon e Jackson, 1985). A deficiência em alguns dos ácidos aminados essenciais, tais como a metionina e em menor escala a lisina, associada a problemas frequentes de palatabilidade e presença de factores anti-nutricionais, parecem ser algumas das razões principais que levam a considerar as proteínas de origem vegetal, como alternativas de valor nutritivo inferior às proteínas de origem animal, com relevo para a farinha

Tabela 3. Requisitos em ácidos aminados essenciais nos peixes

	Truta Arco-íris[1]	Enguia[2]	Salmão[3]	Peixe Gato[4]
		g/100gAA		
Arginina	3.5	3.9	6.0	---
Histidina	1.6	1.9	1.8	1.5
Isoleucina	2.4	3.6	2.2	2.6
Leucina	4.4	4.1	3.9	3.5
Lisina	5.3	4.8	5.0	5.1
Metionina	2.7	4.5	4.0	2.3
Fenilalanina	5.2	---	5.1	5.0
Treonina	3.4	3.6	2.2	2.0
Triptofano	0.5	1.0	0.5	0.5
Valina	3.1	3.6	3.2	3.0

1.Ogino, (1980), para 40 % de proteína na dieta; **2**. NRC, (1981), para 42 % de proteína na dieta; **3**. NRC, (1981), para 40 % de proteína na dieta; **4**. NRC, (1981), para 24 % de proteína na dieta.

de peixe (Luquet e Kaushik, 1978; Kay, 1979; Liener, 1980; Tacon e Jackson, 1985; Kaushik, 1989;). No entanto, para além de no seu conjunto as proteínas vegetais representarem uma componente importante das dietas para peixes, há ainda um grande número de factores que fazem variar a sua utilização digestiva, pelo que a padronização dessa utilização, para além de desejável, carece ainda de diversos tipos de estudos para a sua concretização.

De entre as proteínas de origem vegetal, a soja, sob as diversas formas em que se encontra disponível no mercado de matérias-primas, tem sido aquela cuja utilização nas dietas para peixes, foi até hoje estudada com mais pormenor (Nose, 1971; Cho et al., 1974; Smith, 1977; Luquet e Kaushik, 1978; Tacon et al., 1983; Kim et al., 1984; Lowell, 1984; Gomes, 1987; Smith et al., 1988; Akiyama, 1988;).

Os resultados obtidos nos estudos efectuados sobre a incorporação de soja nas dietas para peixes, apresentam uma dispersão bastante grande, atribuída em parte, à forma como é efectuado o tratamento térmico e a consequente eliminação do factor anti-tripsínico presente (Smith, 1977; Akiyama, 1988).

A substituição com sucesso, de 50 % da proteína de farinha de peixe por bagaço de soja, em dietas para truta arco-íris (Cho et al., 1974), não é confirmada em alguns estudos posteriores realizados nesta espécie (Rumsey e Ketola, 1975; Koops et al., 1976; Tiews et al., 1979). No entanto, Tacon et al. (1983), para além de referirem como possível a substituição de

75 % da farinha de peixe por bagaço de soja, referem a dependência dos resultados obtidos da técnica de extracção do óleo utilizada, bem como da extensão do tratamento térmico efectuado. Estes resultados, são confirmados pela substituição total da farinha de peixe em dietas para carpa (Viola et al., 1983), relacionados com a tecnologia de processamento da soja utilizada (Viola et al., 1983), sendo possível obter na mesma espécie resultados negativos, para níveis de substituição de 20 % (Kim et al., 1984). A utilização de soja integral, apresenta uma relação ainda mais estreita com o tratamento térmico utilizado (Smith, 1977; Luquet e Kaushik, 1978; Thomason, 1988; Kaushik, 1989), por tostagem ou extrusão que, aplicadas de forma correcta, permitem obter uma das proteínas de maior valor nutritivo a incorporar em dietas para peixes.

Se bem que nos últimos dez anos se venha a assistir a um aumento crescente da produção de óleo de colza, com o impacto correspondente na importância do bagaço de colza dentro dos bagaços das oleaginosas (de 3,4 para 13,4 % em França, entre 1978 e 1988), essa produção não tem tido correspondência na sua utilização pela indústria de alimentos compostos comerciais (Peyronnet, 1989). A presença de teores elevados em glucosinolatos, ácido erúcico, fitatos, compostos fenólicos e uma energia digestível muito baixa, devida ao teor em fibra muito alto, têm sido algumas das razões principais referidas para a não incorporação das cultivares mais utilizadas (*Brassica campestris* e *Brassica napus*), nas dietas de monogástricos convencionais e de peixes (Appelqvist e Ohlson , 1972; Fenwick, 1986; Bourdon e

Baudet, 1983; Hilton e Slinger, 1986; Leclercq et al., 1989;). No entanto, os programas de melhoramento genético lançados para a produção de variedades de colza de baixo teor em glucosinolatos, quer em França com as variedades "Primor 0" e "Primor 00", quer no Canadá com a variedade "Canola", vieram relançar o interesse pela utilização desta matéria-prima (Hardy e Sullivan, 1983; Bourdon, 1985).

A controvérsia sobre a utilização da colza nas dietas dos peixes, é evidente nos diversos estudos realizados. Aos efeitos negativos no crescimento e na digestibilidade, mesmo para teores inferiores a 20 % de bagaço de colza na dieta (Hilton e Slinger, 1986; Leatherland et al., 1987; Leatherland e Hilton, 1988), opõem-se os resultados de outros autores, que estimam uma possibilidade de substituição de 20 a 30 % da proteína de farinha de peixe, por colza, sem alteração das performances verificadas (Yurkowski et al., 1978; Higgs et al., 1983; Hardy e Sullivan, 1983; Abdou et al., 1990).

Factor importante resultante da utilização da colza, em bagaço ou integral, nas dietas para peixes, é a influência provocada pelos glucosinolatos no metabolismo e histologia da tiróide. A hiperplasia das células da tiróide, resulta no abaixamento do nível sanguíneo das hormonas tiroxina e triiodo-tironina (Yurkowski et al., 1978; Higgs et al., 1983; Leatherland et al., 1987), existindo alguma controvérsia sobre o aparecimento de um efeito compensatório posterior (Yurkowski et al., 1978; Hardy e Sullivan, 1983; Higgs et al., 1983), ou pelo contrário,

da sua ausência e mesmo irreversibilidade no que respeita às alterações histológicas surgidas (Hilton e Slinger, 1986; Leatherland et al., 1987; Leatherland e Hilton, 1988). A descorticagem da colza, diminuíndo assim o teor em fibra elevado, bem como a aplicação de tratamentos tecnológicos como a extrusão, simples ou misturada com outras proteaginosas, poderão também constituir um factor benéfico ao aumento dos teores de incorporação deste ingrediente (Melcion et al., 1988; Peyronnet, 1989; Leclercq et al., 1989; Kaushik, 1989).

A política recente da Comunidade Económica Europeia, de incentivo à produção de algumas proteaginosas, tais como o tremoço doce, a ervilha e a feverol, resultaram no aumento em grande escala da sua produção, com incidência directa na sua incorporação na indústria dos alimentos compostos (Salgueiro, 1989). A área potencial de cultivo destas proteaginosas em Portugal é relativamente grande, em especial para os tremoços-doces (400.000 ha), seguindo-se a ervilha (80.000 ha) e a fava e faveta (22.000 ha). Esta distribuição da produção é interessante de observar, se comparada com a produção da ervilha na CEE, que representa de 78 a 84 % da produção total de proteaginosas (Picard, 1983; Salgueiro, 1989).

De entre as proteaginosas referidas, o tremoço tem sido aquela sobre a qual aparecem maior número de estudos, referidos à sua utilização em alimentos compostos para monogástricos (Lara et al., 1980; Rosa, 1980; Cubillos et al., 1982; Karara et al., 1984; Schwarz et al., 1986; De La Higuera

et al., 1988; Hughes, 1988; Viola e Zohar, 1988;). As variedades mais cultivadas na península ibérica, têm sido ecotipos amargos de *Lupinus luteos*, sendo as variedades doces de *Lupinus angustifolius* e de *Lupinus albus*, aquelas que nos últimos anos têm vindo a adquirir uma importância crescente (Hill, 1977; Bellido, 1980). O esforço no melhoramento genético das variedades de tremoço existentes, resulta principalmente do teor elevado em alcalóides presente nesta matéria-prima, em especial na parte da casca (Hill, 1977; Newton e Hill, 1983; Brillouet, 1984), sendo também de referir o teor elevado em fibra presente em algumas das variedades. A variação de resultados observada nos estudos sobre a utilização de tremoço, poderá em parte ser explicada pela variedade utilizada e se Rosa (1980), obtém um crescimento e ingestão mais baixas em suínos, devido à incorporação de tremoço, resultados de acordo com os obtidos por Hanczakowski (1980), em aves e Schawarz et al. (1986), em carpas, em nenhum destes trabalhos é indicada a variedade de tremoço utilizada. Utilizando *Lupinus luteos*, Vogt et al.(1980), referem a utilização de 30 % de tremoço em "broilers" sem quebras no crescimento, sendo semelhantes os resultados obtidos por Cubillos et al. (1982), que testaram as variedades *angustifolius*, *albus* e *luteos*. Recentemente, as experiências realizadas em peixes, apresentam resultados muito positivos, quer na substituição da soja (Hughes, 1988), quer na de farinha de peixe (De La Higuera et al., 1988), ambos em truta arco-íris e com *Lupinus albus*, o mesmo acontecendo na carpa, para a substituição de soja por *Lupinus angustifolius* (Viola e Zohar, 1988).

Os trabalhos sobre a utilização de ervilha e feverol em monogástricos são mais raros, em especial no caso dos peixes, admitindo-se como ponto de referência a possibilidade de substituição de 30 a 35 % do bagaço de soja, em rações de "broilers", em especial se corrigidas para o seu baixo teor em lisina (Lacassagne, 1988).

3. FACTORES ANTI-NUTRICIONAIS COMO RESTRIÇÃO PRINCIPAL À UTILIZAÇÃO DE MATÉRIAS-PRIMAS DE ORIGEM VEGETAL

3.1. Introdução

A capacidade de sintetizar uma gama extremamente variada de substâncias químicas, conhecidas pela sua acção tóxica em relação a uma grande variedade de organismos vivos, associadas ao papel de defesa e reprodução da planta e habitualmente designadas por factores anti-nutricionais, tem motivado o aparecimento de numerosos trabalhos de investigação (Liener, 1980). Os factores anti-nutricionais, poderão assim ser definidos como as "substâncias produzidas nos alimentos em natureza, através do metabolismo normal das espécies e que, por diferentes tipos de mecanismos (inactivação de nutrientes, diminuição da utilização digestiva, etc.), exercem um efeito contrário ao de uma utilização nutritiva óptima" (Chubb, 1982).

As proteaginosas, são conhecidas como um dos grupos de plantas onde este tipo de factores tem uma incidência vincada. No entanto, é importante referir a dificuldade que há em medir correctamente a extensão da acção dos factores anti-nutritivos, não tanto pela sua diversidade, mas principalmente pelo desconhecimento frequente do seu modo de actuação (Wiseman e Cole, 1988). Muitas vezes, o uso de um nome específico para a acção de um factor determinado caracteriza, mais correctamente, um grupo de substâncias que possuem um modo de acção similar (Wiseman e Cole, 1988), variando ainda a sensibilidade de duas espécies de animais, que é diferente para uma mesma substância.

A estrutura físico-química da maioria das substâncias anti-nutricionais é conhecida, bem como o seu mecanismo de acção fisiológico, residindo a dificuldade principal no seu modo de actuação extremamente diverso (Chubb, 1982). Assim, uma forma de classificar estas substâncias, poderá ser baseada no tipo de nutrientes que elas afectam mais directamente. Nesse sentido, poderão ser divididas de acordo com os grupos seguintes (Chubb, 1982):

1. Substâncias com efeitos depressivos na digestão ou utilização metabólica das proteínas

a. Inibidores das enzimas proteolíticas
b. hemaglutininas
c. Alcalóides
d. compostos polifenólicos

2. Substâncias que reduzem a solubilidade ou interferem com a utilização dos minerais

a. ácido fítico

b. glucosinolatos

c. gossipol

3. Substâncias que inactivam ou aumentam os requisitos de algumas vitaminas

a. anti-vitaminas A, D, E e K

b. anti-tiamina, anti-ácido nicotínico, anti-piridoxina e anti-cianocobalamina

3.2. Inibidores de enzimas proteolíticas

Estas substâncias, com capacidade de inibição da actividade proteolítica de algumas enzimas, aparecem especialmente nas proteaginosas e têm merecido a atenção particular dos nutricionistas, devido à sua incidência directa no valor nutritivo da proteína das plantas. O efeito depressivo no crescimento de ratos, motivado pela utilização de soja em natureza, é já referido nos trabalhos de Osborne e Mendel (1917), citados por Liener (1979), e Chubb (1982). É de facto o factor

anti-tripsínico presente na soja não tratada e a sua influência na utilização da proteína desta matéria-prima, aquele que tem sido estudado até hoje de uma forma mais exaustiva (Smith, 1977; Bene et al., 1979 I e II; Liener, 1979; Chubb, 1982; Viola et al., 1983; Newton e Hill, 1983; Wilson e Poe, 1985; Wiseman e Cole, 1988;).

No caso das sojas, existem dois grupos de inibidores, cada um deles constituído por uma mistura de substâncias proteicas, designados por inibidores de "Kunitz" e de "Bowman-Birk". O primeiro grupo, com um peso molecular da ordem de 20000 a 25000, tem como acção principal a inibição da tripsina, através da formação com esta de ligações dissulfureto, enquanto o grupo de "Bowman-Birk", através de um mecanismo idêntico, inibe tanto a tripsina como a quimio-tripsina (Chubb, 1982).

A maior ou menor inibição de determinados ácidos aminados, relativamente aos restantes, tem sido objecto de hipóteses controversas (Liener, 1979). A revisão efectuada por Chubb (1982), refere duas teorias distintas. Uma em que existe um grau de inibição inferior para a metionina, relativamente aos ácidos aminados restantes, originando a sua disponibilidade mais rápida, com a deficiência posterior deste ácido aminado para a síntese proteica, em oposição a outra que contesta a falta de especificidade para a metionina, postulando um efeito de inibição idêntico para os diversos ácidos aminados. Outra explicação possível, é dada pela hipertrofia originada a nível do pâncreas, tendo como consequência um aumento das perdas endógenas da

proteína secretada neste orgão. Sendo este tipo de proteínas secretadas no Pâncreas, ricas em enzimas pancreáticas, por sua vez ricas em cistina, este facto, associado ao teor normalmente baixo em ácidos aminados sulfurados das proteaginosas, vai originar a sua deficiência para a síntese de proteína corporal (Liener, 1979). Os maiores teores em inibidores, localizam-se nos cotilédones, sendo muito baixos os seus níveis na casca, não parecendo ser assim o descasque prévio uma solução para este tipo de problema (Newton e Hill, 1983)

Os teores de actividade anti-tripsínica de algumas proteaginosas, definida para a unidade, pela quantidade de enzima inibida por miligrama de amostra, são apresentados na tabela 4. De referir, que normalmente estes factores anti-nutritivos são inactivados pelo emprego de calor, sendo os métodos utilizados mais frequentemente a autoclavagem, o aquecimento a seco, a extrusão e a micronização. O grau de sucesso depende normalmente do tempo utilizado, do tamanho das partículas e do nível de humidade (Chubb, 1982; Cheftel, 1986), sendo habitualmente controlado no final do processo.

Tabela 4. Actividade anti-tripsínica de algumas plantas

Soja crua	420.0	(mg/100g)	(Chubb, 1982)
Soja tostada	45.0	(mg/100g)	(Chubb, 1982)
Soja tostada	8.25	(mg/100g)	(Chubb, 1982)
Bagaço de soja	59.4	(U/mg)	(Wiseman e cole, 1988)
Tremoço	< 1	(U/mg)	(Wiseman e Cole, 1988)
Ervilha	2.9	(U/mg)	(Newton e Hill, 1983)
Feverol	0.5-2.5	(U/mg)	(Newton e Hill, 1983)
Ervilhaca	6.3	(U/mg)	(Newton e Hill, 1983)
Garroba	2.4	(U/mg)	(Newton e Hill, 1983)
Milho	0.80	(U/mg)	(Newton e Hill, 1983)
trigo	0.14	(U/mg)	(Newton e Hill, 1983)

3.3. Hemaglutininas

É frequente o aparecimento nas proteaginosas de compostos que provocam a aglutinação dos glóbulos vermelhos, designadas por hemaglutininas, ou lecitinas, e que se diferenciam na sua estrutura, de acordo com a espécie de planta (Liener, 1974), centrando toda a actividade no grão da planta (Marquardt, 1976). Por outro lado, nem todas as lecitinas originam efeitos tóxicos nos animais. De facto, se por exemplo a lecitina obtida da soja, provoca uma aglutinação de células em porcos, esse efeito não se verifica no rato, carneiros e frangos (Chubb, 1982; Newton e Hill, 1983). Sendo controversa a influência das

hemaglutininas no valor nutritivo das plantas a utilizar (Liener, 1979; Wiseman e Cole, 1988), parece haver alguma evidência de que o coelho será dos animais mais sensíveis a este tipo de composto. A soja é a matéria-prima em que a lecitina se encontra presente em maior quantidade (tabela 5), e em que exerce efeitos tóxicos mais vincados (Newton e Hill, 1983).

Tabela 5. Teor em hemaglutininas de algumas proteaginosas

Fava e faveta	25 - 100	(U/mg)
Ervilha	100 - 400	(U/mg)
Tremoço	vestigial	
Bagaço de soja cru	1600 - 3200	(U/mg)

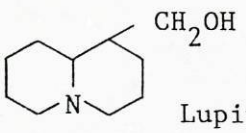
Fonte: Valdebouze et al.(1980), citados por Wiseman e Cole (1988)

3.4. Alcalóides

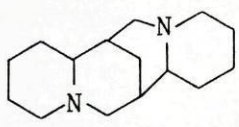
Conforme foi já referido no ponto 2.2., estes compostos têm uma importância especial para as diferentes variedades de tremoço utilizadas na alimentação animal. Os alcalóides, são na sua maioria derivados do metabolismo dos ácidos aminados alifáticos, ornitina e lisina, e dos ácidos aminados aromáticos, fenilalanina, tirosina e triptofano (Mann, 1978). A espartina e a lupinina, são dois dos tipos de alcalóides presentes com maior frequência no tremoço (Hill, 1977), sendo

ambos compostos por sub-unidades C5N (figura 1.), e formadas a partir da lisina (Mann, 1978). A maioria dos alcalóides do tremoço está concentrada na casca, originando um certo sabor adestringente. Liberto destes factores, o tremoço não requer tratamento térmico para eliminação de factores anti-tripsínicos, estando igualmente livre de hemaglutininas (Hill, 1977).

FIGURA 1



Lupinina



Espartina

3.5. Compostos polifenólicos

O grupo mais importante nesta classe de substâncias anti-nutricionais, é constituído pelos taninos, que são compostos polifenólicos com um peso molecular situado entre os 500 e os 5000. Os taninos estão presentes nos cereais e nas proteaginosas, formando ligações cruzadas com proteínas e outras macromoléculas, inibindo o funcionamento de alguns sistemas enzimáticos e consequentemente, o valor nutritivo de algumas plantas, como por exemplo a fava e em especial o sorgo (Newton e Hill, 1983; Mitaru et al., 1984; Wiseman e Cole, 1988).

Se bem que de um ponto de vista agronómico, as plantas com um teor mais elevado em taninos, possam apresentar uma maior resistência a enfermidades (Ford e Hewitt, 1979), é um facto que a sua presença provoca um abaixamento significativo da digestibilidade da proteína, particularmente importante para o caso dos monogástricos. No caso dos ruminantes, existe alguma controvérsia e, à referência de um efeito positivo derivado de uma certa protecção à proteína da casca de algumas leguminosas (Barry e Manley, 1986), opõe-se a hipótese mais corrente da correlação negativa entre o teor em compostos poli-fenólicos e a digestibilidade da proteína (Newton e Hill, 1983; Dias da Silva, 1985). A variedade de classes de taninos existente, parece ser acompanhada por uma acção igualmente diversa, variando a sua afinidade para as proteínas com a própria estrutura destas (Mitaru et al., 1984). Por outro lado, as tentativas de inibição da actividade dos taninos por via química, se apresentam um efeito positivo nas variedades de teor mais alto, revelam um efeito oposto para as de teor mais reduzido (Ford e Hewitt, 1979).

3.6. Ácido Fítico

Uma percentagem elevada do fósforo presente nas plantas, está presente no seio de algumas moléculas orgânicas, tais como os fosfolípidos, as fosfoproteínas e os fosfoglúcidos. Neste último grupo, encontra-se o ácido mioinositol-hexafosfórico, habitualmente designado por ácido fítico (figura

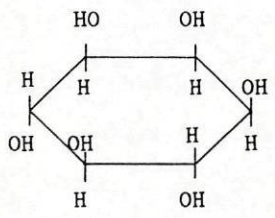
2.), e que representa de 45 a 75 % do fósforo total presente nas plantas (Chubb, 1982; Nolan et al., 1987; Sauver, 1989; Duhan et al., 1989). As seis funções fosfóricas presentes na molécula de ácido fítico, reagem com um ou mais iões, formando sais simples ou mistos de Ca, Mg, Zn, etc., extremamente insolúveis, mesmo para valores de pH próximos de 3-4, não estando assim disponíveis para ser absorvidos pelo tracto intestinal. A estabilidade dos sais formados com os catiões divalentes segue a ordem decrescente seguinte: Cu > Zn > Mn > Fe > Ca. Os oligo-elementos de maior interesse nutricional, são assim fixados mais fortemente ao ácido fítico, do que os macro-elementos alcalino-terrosos (Nolan et al., 1987; Sauver, 1989). De referir que a disponibilidade dos minerais ligados ao ácido fítico, depende também da actividade da enzima fitase, através da sua capacidade de hidrólise dos fitatos, se bem que não tenha ainda sido encontrada uma correlação entre a actividade da enzima e a quantidade de fitatos presentes nas plantas (Sauver, 1989).

Parece comprovado que para teores elevados de ácido fítico na dieta de monogástricos, a absorção de Ca, Zn e Mg é fortemente reduzida, não ultrapassando 35 % dos seus valores habituais (Chubb, 1982; Duhan et al., 1989). No entanto, se a disponibilidade do Zn em dietas de rato e salmão, parece estar inversamente correlacionada com os teores em ácido fítico das mesmas (Davies e Olpin, 1979; Richardson et al., 1985), o mesmo tipo de interacção, parece também existir entre essa disponibilidade e os teores em cálcio da dieta (Forbes et al., 1984; Richardson et al., 1985). Muito interessantes são os

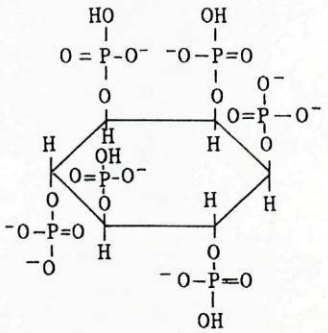
resultados obtidos por Civera e Guillaume (1989), que para além de não verificarem efeitos depressivos no crescimento de camarão japonês, devido à presença de ácido fítico, não encontraram também nenhum decréscimo na deposição de cálcio no esqueleto.

FIGURA 2

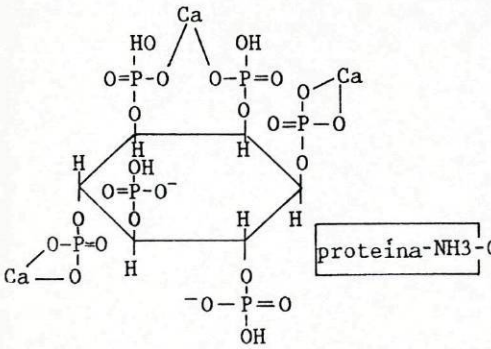
mio-inositol



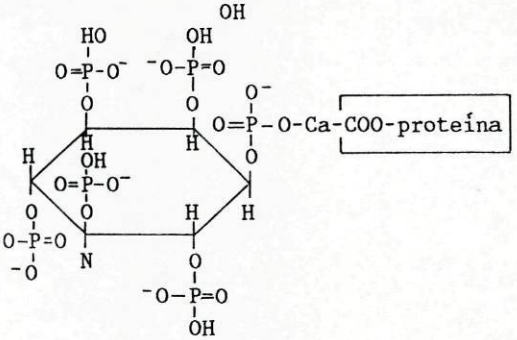
ácido-fítico



fitato de cálcio



ligações possíveis com as proteínas



3.7. Glucosinolatos

Os glucosinolatos são o factor anti-nutritivo principal presente na colza e afectam directamente o metabolismo dos monogástricos, causando hemorragias ao nível do fígado e alterando a produção das hormonas da tiróide (Bell, 1984; Campbell, 1987; Freig et al., 1987; Leatherland e Hilton, 1988). Os glucosinolatos são responsáveis por odores típicos como por exemplo os da mostarda, o que origina um efeito depressivo na ingestão dos alimentos em que estão contidos. A hiperplasia da tiróide é outra das consequências dessa ingestão, existindo um

decréscimo da circulação hormonal, em especial da tri-iodo-tironina (T3), aparecendo os sinais de bócio não como uma consequência directa da acção dos glucosinolatos, mas sim de productos da sua hidrólise, derivados da acção da tioglucosidase, ou de sistemas enzimáticos de algumas espécies microbianas presentes no tracto gastro-intestinal (Chubb, 1982).

A *Brassica napus* e a *Brassica campestris*, representam as variedades de colza com teores mais elevados em glucosinolatos (tabela, 6), o que motivou a procura genética de linhas alternativas com teores mais baixos como a "canola", ou a "tower". Os glucosinolatos, que aparecem repartidos pelos diferentes tecidos das plantas, surgem normalmente acompanhados pela enzima tioglucosidase, que para além da sua hidrólise parcial até à forma de glucose, origina a formação de outros compostos como tiocianatos, iso-tiocianatos ou, em condições de pH baixo, de nitrilos. Assim, por exemplo a progoitrina é um glucosinolato percursor da goitrina, que é o composto de acção anti-tiroidea. Estas substâncias, reduzem a incorporação de iodo nos percursores da tiroxina e provocam uma hiperplasia dos folículos da tiróide, interferindo assim directamente na sua produção (Bell, 1984).

3.8. Gossipol

Os pigmentos de gossipol, são compostos poli-fenólicos que se encontram exclusivamente nas glândulas

pigmentantes do algodão. São compostos quimicamente muito reactivos, que podem causar efeitos fisiológicos depressivos nos monogástricos, nomeadamente perda de apetite, diminuição da capacidade de transporte de oxigénio pelo sangue e abaixamento da actividade de algumas enzimas do fígado (Robinson et al., 1982; Chubb, 1982).

Se bem que seja referida a hipótese de que os peixes possam tolerar melhor os efeitos do gossipol, que os suínos e as aves, devido ao teor mais elevado em proteína das suas dietas (Dorsa et al., 1982), é um facto é que o bagaço de algodão é um ingrediente muito pouco representativo nas dietas para peixes e as poucas tentativas realizadas para a sua incorporação, têm apresentado resultados negativos (Folwler e Banks, 1976; Robinson et al., 1982).

3.9. Factores anti-vitamínicos

Se bem que sejam conhecidos alguns factores anti-vitamínicos, como a redução das vitaminas A e D da dieta provocada pela presença de soja crua e destruição da tiamina pela tiaminase do peixe cru, a falta de um conhecimento rigoroso dos requisitos vitamínicos dos peixes, faz com que normalmente as dietas formuladas, contenham sempre um excesso de vitaminas, o que torna assim muito raro o aparecimento de deficiências provocadas por este tipo de factores anti-nutricionais.

Tabela 6. Glucosinolatos presentes nas variedades normais e melhoradas de colza

	Canadá Cultiv. de Verão				Europa Cultiv. de Inverno	
	B. campestris		*B. napus*		*B. napus*	
Glucosinolatos	Torch	Candle	Midas	Regent	Diamant	Erglu
Gluconapina	31.2	4.5	32.2	4.3	33.3	5.5
Glucobrassicanapina	22.9	3.9	8.9	0.7	8.2	1.0
Progoitrina	22.5	5.2	98.5	8.9	109.4	8.3
Napoleiferina	3.8	1.3	5.1	0.5	5.2	0.4
Glucobrassicina	0.4	0.3	0.3	0.6	----	---
Neoglucobrassicina	12.3	12.5	8.8	10.8	----	---
TOTAL	93.1	27.7	153.8	25.8	156.1	15.2

Fonte: Bell, (1984).

II - TRABALHO EXPERIMENTAL

CAPÍTULO I. METODOLOGIA GERAL UTILIZADA

1. Material animal utilizado

Em todas as experiências realizadas no âmbito deste trabalho, foram utilizadas trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), fornecidas pelos postos do Centro Aquícola de Vila do Conde. Nas experiências realizadas em França, os peixes foram fornecidos pela piscicultura experimental do INRA, Donzaqc. O transporte dos peixes foi efectuado em tanques de 400 litros, com oxigenação permanente da água, a partir do posto aquícola mais próximo do local do ensaio, sendo a mortalidade observada durante as viagens praticamente nula. Após a chegada às instalações experimentais, os peixes foram adaptados às condições locais durante um período mínimo de oito dias, alimentados com uma ração comercial.

2. Ensaios de crescimento

2.1. Instalações experimentais

Os ensaios de crescimento efectuados, decorreram na Estação Experimental da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Piscicultura Experimental do INRA em Donzacq, França e no Centro Aquícola do Rio Ave, Vila do Conde.

Na unidade experimental situada em Vila Real, foram utilizados tanques em fibra de vidro de 600 litros de capacidade, funcionando em sistema aberto com um caudal de 20 l/minuto. A temperatura da água teve uma oscilação relativamente pequena ao longo do ano (13 a 16 ºC), possuíndo características ideais para a criação de salmonídeos, com saturação em oxigénio, pH próximo da neutralidade (6,95) e níveis de amónia vestigiais.

A piscicultura experimental do INRA situada em Donzacq, região das Landes Francesas, é alimentada por uma fonte natural de água à temperatura constante de 17 ºC durante todo o ano, com um pH de 7,2. Os tanques, em cimento com fundo de areia, têm 7 m de comprimento divididos em cinco compartimentos (1,3 x 1,5 x 0,4 de comprimento, largura e altura, respectivamente). O débito de água é de 160 l/minuto. O primeiro compartimento situado a partir da entrada da água é excluído das experiências, servindo para a instalação de trutas, sempre em jejum, que possam capturar alguma presa alimentar veiculada através da água.

Finalmente, no Centro Aquícola do Rio Ave e para uma experiência de duração mais prolongada, foi instalada uma bateria de doze tanques em fibra de vidro, com uma capacidade individual de 120 litros. A água foi utilizada em sistema aberto, com um débito constante de 8 l/minuto. A temperatura da água, captada a partir de poços, oscilou entre os 13 e os 16 ºC. A fim de evitar ao máximo os riscos de contaminação pela água poluída do Rio Ave, a experiência decorreu durante o período de maior

pluviosidade, entre Outubro de 1989 e Abril de 1990. Durante esse espaço de tempo a água apresentou-se saturada em oxigénio, pH próximo da neutralidade e com níveis de ferro apenas residuais.

2.2. Protocolo experimental

Em cada experiência de crescimento realizada, os peixes foram selecionados a partir de um lote comum. Durante um mínimo de oito dias antes do início do ensaio, as trutas foram distribuídas ao acaso pelos tanques experimentais, da forma mais homogénea possível, de modo a formar o número de lotes necessário para a experiência a realizar.

No dia de início do ensaio, os peixes foram anestesiados, contados e registado o seu peso. Para cada tratamento experimental, foram formadas duas ou três réplicas de um número préviamente fixado de peixes, variável conforme a experiência em causa. A análise da variância dos pesos iniciais teria de ser estatísticamente não significativa, pois caso contrário seria efectuada nova redistribuição dos peixes, recomeçando a experiência oito dias depois. No mesmo dia, retiraram-se seis a dez peixes do lote comum os quais, depois de sacrificados, eram congelados a -30 ºC para análise química posterior. Eram ainda sacrificados mais cinco peixes, para determinação dos índices visceral e hepatossomático.

O alimento, distribuído *ad libitum* ou de forma

restringida, foi fornecido duas vezes ao dia às 9.00 e 16.00 horas, respectivamente, à excepção do dia das pesagens intermédias em que o peixe permanecia em jejum. Os peixes eram contados todos os quinze dias, registado o seu peso em grupo, o consumo de alimento por tanque e recalculada, nessa altura, a quantidade de alimento a distribuír nos casos de alimentação restringida. Diariamente, era registada a temperatura da água e a mortalidade em cada tanque.

No fim de cada experiência, os peixes de cada lote foram novamente anestesiados, contados e pesados, retirando-se então dez peixes de cada lote que, após o abate, foram imediatamente congelados a - 30 ºC, para análise química posterior. Em cinco peixes de cada lote foi efectuada a determinação dos índices visceral e hepatossomático, bem como uma análise macroscópica do aspecto geral do peixe.

3. Ensaios de digestibilidade

3.1. Instalações experimentais

Para a determinação da digestibilidade das dietas e matérias-primas utilizadas, foi utilizado o método indirecto, com incorporação de um marcador externo nos alimentos: o óxido de crómio. Para a recolha das fezes dos peixes, foi utilizado o sistema automatizado de recolha de fezes de "Choubert", instalado na Estação Experimental da UTAD - Vila Real. Este método foi

desenvolvido e aperfeiçoado por Choubert et al. (1979, 1982), no INRA de St-Pée/Nivelle.

Cada sistema de recolha de fezes (figura 3), está dimensionado para três ou seis tanques de 60 litros (2x3 em Vila Real), e é composto por uma cadeia de placas rectangulares, montadas sobre duas rodas dentadas movidas por um motor eléctrico. Sobre a cadeia são fixados os espigões que sustentam as redes metálicas, constituídas por uma malha de 0,65 mm. As grelhas de rede desfilam por debaixo da água de evacuação dos tanques, a uma velocidade de 28 cm/minuto, retendo as fezes em suspensão na água. No seu deslocamento linear, a cadeia movimenta as grelhas e subtrai as fezes da acção da água num intervalo de tempo inferior a dois segundos. A grelha vai de seguida atingir a posição vertical, que permite o escorregar de alguma água através da rede, desiquilibra-se e adquire uma velocidade angular elevada ao descrever um quarto de círculo, até que choca com um batente. Ao chocar com esse batente, as fezes tombam sobre um tabuleiro de recolha. O tempo que demora até as fezes estarem expostas ao ar, a partir da sua excreção pelos peixes, não é superior a 26 segundos. A forma dos tanques, de fundo cónico, contribui também para uma evacuação rápida das fezes.

3.2. Protocolo experimental

Após a realização do ensaio de crescimento, os peixes foram transferidos para os tanques de digestibilidade, com uma

biomassa aproximada de 2 Kg por cada tanque, em sistema aberto e com um débito de 3 l/minuto. Os peixes eram então adaptados às novas condições durante quinze dias, alimentados com uma ração comercial, após o que lhes era fornecido o alimento experimental, uma vez por dia às 9.00 horas, na quantidade de 1,5 % da biomassa. A partir do quarto dia de ingestão da dieta a testar, as fezes eram recolhidas diariamente antes da refeição seguinte, durante cinco dias consecutivos. As fezes recolhidas, eram imediatamente congeladas, após o que eram liofilizadas e guardadas em frascos etiquetados, para análise posterior da sua composição química.

Em cada alimento composto a testar era incorporado 1 % de óxido de crómio, sendo então fornecido a três lotes diferentes de peixes, conforme descrito no parágrafo anterior. O coeficiente de utilização digestiva (CUD) é então calculado segundo a fórmula seguinte:

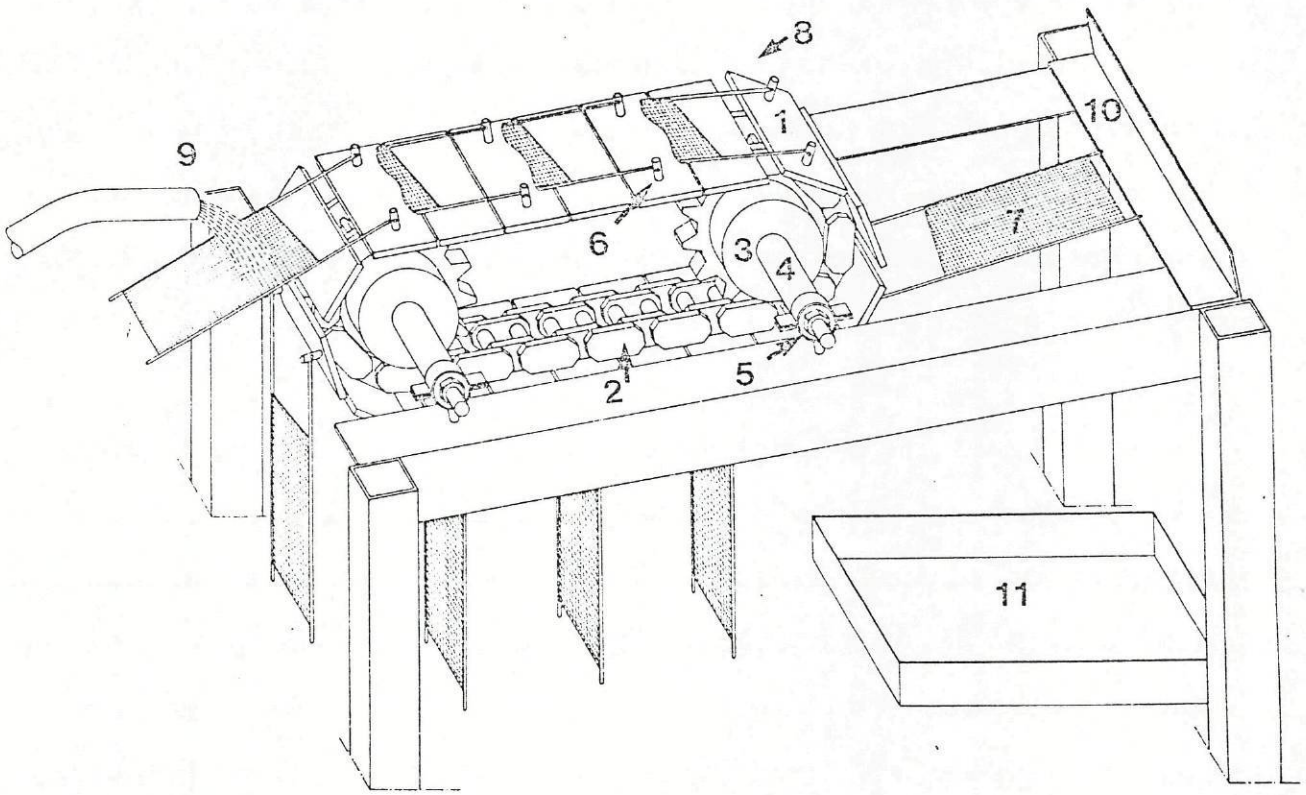
CUD = 100 - [100 x (%marc.alim. : %marc.fezes)], (MacDonald et al., 1981), do mesmo modo que o CUD de um nutriente se obtém a partir da equação:

CUD = 100 - [100 x (%marc.alim. : %marc.fezes) x (%nutriente fezes : %nutriente alimento)], (MacDonald et al., 1981).

Os coeficientes de utilização digestiva das matérias-primas, foram estimados a partir da substituição de 30 % de uma dieta de referência, de digestibilidade préviamente conhecida (Cho, 1987).

FIGURA 3

COLECTOR DE FEZES AUTOMATICO DE CHOUBERT



1 - Palete
2 - Estribo
3 - Pinhão
4 - Veio de suporte
5 - Rolamentos
6 - Suportes
7 - Grelhas metálicas
8 - Motor (encoberto)
9 - Orifício de evacuação
10 - Batente
11 - Prato de recuperação

4. Preparação das dietas experimentais

A composição centesimal das dietas experimentais utilizadas, encontra-se exposta nos capítulos correspondentes. A sua preparação foi efectuada na unidade experimental de fabrico de rações, da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. Os ingredientes a utilizar eram préviamente analisados para a sua composição química, após o que era efectuada a formulação das dietas através do programa "Microsoft, Quantitative Systems for Business - QSB (1985)".

Após a pesagem individual dos componentes da dieta com uma precisão de 0,1 g, procedia-se à sua mistura num misturador horizontal de pás helicoidais e, de seguida, à granulação numa prensa CPM, modelo C-300, utilizando a matriz correspondente ao tamanho pretendido. A temperatura de granulação oscilou sempre entre os 50 e os 60 ºC. O ligante utilizado na preparação de todas as dietas foi um sulfato de lenhina comercial.

O granulado era então arrefecido ao ar, após o que se armazenava em câmara frigorífica até ser utilizado. De cada alimento fabricado, era retirada uma amostra para análise química posterior. A composição das misturas mineral e vitamínica utilizadas (NRC, 1981), encontra-se exposta nas tabelas 7 e 8.

À excepção da experiência realizada na piscicultura do INRA, em todas as outras foi utilizada farinha de peixe de

produção nacional, sempre com a mesma origem. A composição química e em ácidos aminados das farinhas de peixes utilizadas, é indicada na tabela 9.

5. Métodos analíticos

5.1. Recolha e preparação das amostras

De cada dieta utilizada retirou-se uma parte alíquota, que foi de seguida moída até uma granulometria inferior a 1 mm. As amostras foram então guardadas em frascos de plástico devidamente etiquetados, para análise química posterior.

As carcaças de peixe a analisar eram descongeladas à temperatura de frigorífico (0 a 4 ºC), limpas com um pano de flanela e colocadas num triturador-homogenizador Kenwood FP700. Da massa homogénea obtida, era separada uma parte alíquota para determinação da humidade. A parte restante era dividida em três porções idênticas, de seguida colocadas no congelador a - 80 ºC, após o que eram liofilizadas durante 96 horas. As amostras obtidas após liofilização, eram depois moídas até tamanho inferior a 1 mm e guardadas em frascos para posterior análise química.

As fezes recolhidas, eram transferidas do congelador a - 30 ºC, para outro a - 80 ºC durante 24 horas, após o que eram liofilizadas e de seguida moídas até tamanho inferior a 1 mm e guardadas em frascos para análise química posterior.

Tabela 7. Composição da mistura mineral

MINERAL	mg / Kg DIETA
Cobalto	0,4
Cobre	5,0
Ferro	40,0
Fluor	1,0
Iodo	0,6
Magnésio	100,0
Manganês	10,0
Selénio	0,1
Zinco	10,0
Cálcio	10,8 g/100 g premix
Fósforo	8,0 "
Potássio	5,2 "
NaCl	4,0 "

Tabela 8. Composição da mistura vitamínica

VITAMINA	mg / Kg de DIETA
A - Retinol	10000 UI
D3 - Calciferol	2000 UI
E - Alfa Tocoferol	20
K3 - Menadiona Sódio Bis.	5
B1 - Tiamina	5
B2 - Riboflavina	5
B3 - Pantotenato de cálcio	10
B5 - Acido nicotínico	100
B6 - Piridoxina	5
B9 - Acido fólico	2
B12 - Cianocobalamina	0,05
H - Biotina	0,5
C - Acido ascórbico	200
Acido paraminobenzóico	50
Inositol	500
Cloreto de colina	500

Tabela 9. Composição química e em ácidos aminados das farinhas de peixe utilizadas

Ácido aminado*		g / 16 g N
Ácido aspártico	9,53	9,76
Treonina	4,17	3,83
Serina	3,97	3,89
Ácido glutâmico	13,43	13,56
Prolina	4,20	4,20
Glicina	6,68	6,19
Alanina	6,07	5,69
Cistina	1,01	0,71
Valina	5,26	2,51
Metionina	3,85	2,68
Isoleucina	4,35	4,69
Leucina	7,31	7,31
Tirosina	3,24	3,14
Fenilalanina	4,05	4,47
Histidina	2,50	2,45
Lisina	8,72	7,56
Arginina	6,50	6,28
Proteína (Nx6,25) (%MS)	67,60	61,37
Gordura (%MS)	8,90	11,30
Cinzas	18,58	24,20
% AAE	49,33	47,00

5.2. Humidade

A humidade foi determinada por secagem em estufa com ventilação forçada de ar a 105 ºC, até obtenção de peso constante.

5.3. Proteína bruta

O teor em proteína bruta (N x 6,25), foi determinado num aparelho convencional de macrokjeldahl, em amostras de 1 g, de acordo com as normas ISO [ISO 5983-1979 (E)].

5.4. Cinzas

As cinzas foram determinadas após incineração em mufla a 600 ºC durante duas horas (A.O.A.C., 1975).

5.5. Gordura bruta

A gordura bruta foi determinada por extracção contínua com éter de petróleo durante seis horas, num extractor de Soxhlet.

5.6. Energia bruta

A energia bruta foi determinada por combustão directa num calorímetro de bomba tipo Parr, a uma pressão de oxigénio de 30 atmosferas. O aparelho foi previamente calibrado com ácido benzoico e o valor calórico obtido convertido em joules pelo factor de conversão seguinte:

1 cal = 4,184 joules

5.7. Ácidos aminados

Os ácidos aminados foram determinados num cromatógrafo de fase líquida de alta resolução (HPLC) VARIAN 5000, segundo a metodologia descrita por Hogan et al. (1982), após hidrólise ácida (HCl 6N, 110 ºC, 24 h).

5.8. Ácidos Gordos

Os ácidos gordos foram determinados num cromatógrafo de fase gasosa VARIAN 3400. Os lípidos do músculo foram extraídos segundo a metodologia de Folch et al. (1957), e os ésteres de metilo preparados segundo a metodologia de Morisson e Smith (1964). Utilizou-se uma coluna capilar de sílica de 20 m x 0,25 mm. A temperatura foi programada de 180 para 250 ºC, com um aumento de 4 ºC por minuto. Os ácidos gordos foram identificados

por comparação com uma mistura standard conhecida (Sigma). A quantificação foi efectuada num integrador préviamente programado, Hewlett Packard 4270.

5.9. Constituíntes da parede celular

O teor em constituíntes da parede celular foi determinado pelo método de Goering e Van Soest (1970), com eliminação do sulfito de sódio na determinação da fracção NDF, de acordo com o proposto por Robertson e Van Soest (1981).

5.10. Amido

O amido foi determinado por método enzimático (Thivend et al., 1972), usando a glucoamilase e a glucose oxidase.

5.11. Óxido de crómio

O óxido de crómio foi determinado pelo método da digestão ácida segundo a metodologia descrita por Furukawa e Tsukahara (1966).

5.12. Cálcio, Zinco e Magnésio

Estes elementos foram determinados por espectrofotometria de absorção atómica (espectrofotómetro modelo GBC - 903) de acordo com os métodos da A.O.A.C. (1975).

5.13. Ácidos aminados livres totais

Os ácidos aminados livres totais (meq glicina) foram determinados no plasma pela reacção da ninidrina (Spies, 1957).

5.14. Glucose

A glucose no plasma foi determinada por via enzimática (Kit. Sigma Nº 510).

5.15. Amónia

A concentração em amónia na água foi doseada num analisador automático TECHNICON segundo a metodologia descrita por Le Corre e Treguer (1976).

6. Análise estatística

Os resultados foram tratados segundo a metodologia descrita por Steel e Torrie (1980). Após a análise da variância as diferenças entre médias foram avaliadas pelo teste de comparação múltipla entre médias de DUNCAN (Duncan, 1955).

7. Definição dos termos utilizados

IC = Índice de Conversão Alimentar =
alimento ingerido (g MS) / ganho de peso fresco (g)

CEP = Coeficiente de Eficácia Proteica =
ganho de peso fresco (g) / proteína ingerida (g MS)

TCE (%) = Taxa de Crescimento Específico=
[(ln pf - ln pi) : t] x 100, em que :
pf = peso final; pi = peso inicial; t = tempo em dias

RE (%) = Retenção Energética =
ganho de energia corporal / energia ingerida

RA (%) = Retenção azotada =
ganho de azoto corporal / azoto ingerido

IHS (%) = Índice Hepatossomático =

(peso do fígado / peso do peixe inteiro) x 100

IV (%) = Índice Visceral =

(peso das vísceras /peso do peixe intéiro) x 100

RC (%) = Rendimento da carcaça =

(peso do peixe eviscerado / peso do peixe inteiro) x 100

IV (% PI) = Ingestão voluntária = Consumo total de matéria seca : (T x Peso inicial) X 100, sendo T o tempo em dias, e o peso expresso em gramas

CAPÍTULO II - ESTUDOS SOBRE O VALOR NUTRITIVO DE TRÊS PROTEAGINOSAS, TREMOÇO (*Lupinus angustifolius*), ERVILHA (*Pisum sativum*) e FEVEROL (*Vicia faba*)

1. INTRODUÇÃO

Foi já referido na parte inicial deste trabalho, que a proteína representa, quantitativamente, o nutriente mais importante presente nas dietas comerciais para salmonídeos, sendo habitualmente satisfeitos os seus requisitos, pela incorporação de farinha de peixe (> 30 %). Nos últimos anos, têm sido efectuados numerosos estudos, visando a redução da incorporação deste ingrediente na dieta, quer através da redução do teor em proteína pela incorporação de glúciddos e lípidos, quer ainda pela utilização cada vez mais necessária, de fontes de proteína alternativas.

Se bem que as proteínas vegetais, possuam um teor proteico normalmente baixo para os requisitos dos peixes (Kaushik, 1989), no seu conjunto, podem representar mais de 50 % da proteína da dieta (Tacon e Jackson, 1985). Por outro lado, embora a soja represente a proteína vegetal que tem sido estudada com maior êxito nos peixes (Smith, 1977; Reinitz et al., 1978; Tacon et al., 1983; Viola et al., 1983), a procura de outras proteínas vegetais tem sido também tentada desde há algum tempo, embora com um grau de sucesso mais reduzido (Tacon e Jackson, 1985; De La Higuera e Cardenete, 1987).

A presença de factores anti-nutricionais na maioria das proteínas vegetais testadas, é normalmente referido como um dos factores que contribuirá directamente para a sua má utilização pelos peixes (Huisman et al., 1989). Dentro desses factores, a presença de teores elevados de alcalóides no tremoço, é um dos exemplos mais característicos e que originou a procura genética de variedades melhoradas (Hill, 1977). A ervilha e a feverol, como novas proteaginosas a aumentar constantemente a sua produção na CEE, têm igualmente vindo a merecer uma atenção crescente no domínio da alimentação animal, sendo assim normal que esse interesse se possa alargar à alimentação dos peixes.

O objectivo deste primeiro conjunto de estudos, foi o de efectuar uma abordagem, através do recurso a uma metodologia clássica de crescimento, composição corporal e digestibilidade, ao valor nutritivo potencial em dietas comerciais para peixes, das três proteaginosas mais representativas no mercado de aquisição de matérias-primas da indústria dos alimentos compostos: tremoço, ervilha e feverol.

2. Material e métodos

As três experiências realizadas decorreram na estação experimental da UTAD, compreendendo cada uma delas, um ensaio de crescimento com a duração de dez semanas e um outro de digestibilidade, que decorreu no circuito de recolha de fezes, com peixes provenientes do ensaio de crescimento. A preparação

das dietas experimentais foi efectuada conforme referido na metodologia geral.

Para o estudo do valor nutritivo de tremoço (*L.angustifolius*), foram utilizadas quatro dietas experimentais. Uma dieta testemunha (T0), contendo farinha de peixe como fonte exclusiva de proteína. Nas outras três, substituiu-se respectivamente 10, 20 e 30% da proteína testemunha, por proteína fornecida pelo tremoço (dietas T10, T20 e T30). Todas as dietas foram formuladas com o objectivo de os teores em proteína e energia serem aproximadamente idênticos.

Cada dieta foi testada em duplicado, em grupos de 50 trutas arco-íris com um peso médio inicial de 9,44 ± 0,1 g. Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia (9.oo h e 16.00 h, respectivamnete), na quantidade correspondente a cerca de 2,5 % do seu peso corporal. Esta quantidade era reajustada quinzenalmente, no dia em que era efectuada a pesagem de grupo de todos lotes. A formulação das dietas e a sua composição química, estão expostas na tabela 10.

Na experiência realizada com ervilha (*Pisum sativum*), foram também formuladas quatro dietas experimentais e, seguindo um critério idêntico ao descrito para o ensaio anterior, da proteína da dieta testemunha (E0), substituíu-se 10, 15 e 20 % por proteína de ervilha, nos tratamentos E10, E15 e E20, respectivamente.

As rações foram testadas em duplicado, em lotes de 60 peixes, com um peso médio inicial de 7,70 ± 0,2 g. Os alimentos foram distribuídos duas vezes ao dia, *ad libitum*, sendo os consumos registados quinzenalmente, no dia da pesagem de grupo de todos os lotes. A formulação das dietas e a sua composição química, estão expostas na tabela 11.

Finalmente, para o estudo do valor nutritivo da feverol, a metodologia seguida foi em tudo idêntica à descrita para a experiência anterior com a ervilha, tendo sido formuladas quatro dietas, designadas por F0, F10, F15 e F20, respectivamente. O peso médio inicial dos peixes, foi de 18,48 ± 1,44 g. A formulação das dietas e a sua composição química estão expostas na tabela 12.

Nas três experiências realizadas, foram recolhidas amostras de 10 trutas no início do ensaio, bem como no fim do mesmo, de cada um dos lotes experimentais, para análise química posterior. O tratamento das amostras recolhidas para análise de carcaças foi efectuado conforme descrito na metodologia geral.

Para a determinação da digestibilidade, os peixes utilizados nos ensaios de crescimento, eram depois transferidos para os tanques do circuito de digestibilidade, 15 por tanque, onde após o período de adaptação, era iniciada a recolha das fezes correspondentes ao alimentos marcados, conforme descrito na metodologia geral.

Os resultados da composição química e da composição em ácidos aminados das matérias-primas testadas, são indicados nas tabelas 13 e 14, respectivamente.

Tabela 10. Composição alimentar e composição química das dietas usadas para o estudo do tremoço (*L. angustifolius*)

	T0	T10	T20	T30
	%			
Farinha de peixe	63,0	56,8	50,6	44,4
Dextrina	30,0	22,7	15,4	8,1
Tremoço	----	13,0	26,0	39,0
Óleo figado bacalhau	4,0	4,5	5,0	5,5
Premix Minero/Vitamin.	1,0	1,0	1,0	1,0
Ligante	2,0	2,0	2,0	2,0
Matéria seca (MS)	91,4	91,5	91,1	90,5
Proteína (Nx6,25) (%MS)	47,0	46,7	46,4	46,9
Gordura bruta (%MS)	12,3	12,3	12,3	12,3
Energia (kJ/g MS)	20,3	20,0	19,9	20,0
Cinzas (%MS)	10,2	10,0	9,4	10,3

Tabela 11. Composição alimentar e composição química das dietas usadas para o estudo da ervilha

	E0	E10	E15	E20
		%		
Farinha de peixe	66,0	59,4	56,1	52,8
Ervilha	----	18,4	27,6	36,8
Dextrina	27,0	14,7	8,5	2,4
Óleo fig. bacalhau	4,0	4,5	4,8	5,0
Premix Min. Vitam.	1,0	1,0	1,0	1,0
Ligante	2,0	2,0	2,0	2,0
Matéria seca (MS)	89,3	89,6	89,8	88,9
Proteína (Nx6,25) (%MS)	44,1	45,1	43,1	45,8
Gordura bruta (%MS)	9,2	10,0	9,6	9,1
Energia (kJ/g MS)	20,9	22,3	22,3	21,7
Cinzas (%MS)	11,2	11,1	11,2	11,3

Tabela 12. Composição alimentar e composição química das dietas usadas para o estudo da feverol

	F0	F10	F15	F20
	%			
Farinha de peixe	65,0	58,5	55,2	52,0
Dextrina	27,0	16,1	10,7	5,2
Feverol	----	17,0	25,5	34,0
Oleo fig. bacalhau	5,0	5,4	5,6	5,8
Premix Min. Vitam.	1,0	1,0	1,0	1,0
Ligante	2,0	2,0	2,0	2,0
Matéria seca (MS)	92,9	92,6	93,1	93,3
Proteína (Nx6,25) (%MS)	43,9	44,9	44,8	42,9
Gordura bruta (%MS)	12,1	13,1	12,3	11,7
Energia (kJ/g MS)	21,8	21,9	22,2	22,3
Cinzas (%MS)	10,3	10,0	10,1	10,2

Tabela 13. Composição química do tremoço (*L. angustifolius*), ervilha (*Pisum sativum*) e feverol (*Vicia faba*)

	TREMOÇO	ERVILHA	FEVEROL
Matéria seca (%MS)	92,5	89,4	89,9
Proteína (Nx6,25) (%MS)	32,7	24,6	27,0
Gordura bruta (%MS)	6,3	1,8	1,4
Energia (kJ/g MS)	18,40	16,10	16,69
Cinzas (%MS)	2,3	1,9	3,5
NDF (%MS)	26,5	21,2	23,6
ADF (%MS)	21,4	9,4	13,4
ADL (%MS)	2,7	0,7	1,4
Celulose*	18,7	8,7	12,0

* - Valores calculados pela diferença entre ADF - ADL.

NDF = Fibra Detergente Neutra; ADF = Fibra Detergente Ácida; ADL = Lenhina Detergente Ácida.

Tabela 14. Composição em ácidos aminados do tremoço (*L. angustifolius*), ervilha (*Pisum sativum*) e feverol (*Vicia faba*)

ÁCIDO AMINADO*	TREMOÇO	ERVILHA	FEVEROL
	g / 16 g N		
Ácido aspártico	10,51	10,43	11,72
Treonina	3,77	3,17	3,91
Serina	4,68	4,23	5,01
Ácido glutâmico	23,90	15,87	17,05
Prolina	4,38	3,90	8,25
Glicina	3,63	3,11	3,47
Alanina	3,36	3,45	3,68
Cistina	1,27	0,82	0,21
Valina	4,02	4,11	6,55
Metionina	3,06	0,57	0,21
Isoleucina	3,70	3,02	3,99
Leucina	7,35	6,20	6,74
Tirosina	3,02	2,12	3,03
Fenilalanina	3,95	4,02	4,54
Histidina	3,11	2,66	4,72
Lisina	5,13	6,23	6,55
Arginina	10,40	10,97	7,62
% Ac. amin. essenciais	44,80	50,73	46,10

* - A metodologia utilizada não permitiu a determinação do triptofano.

3. RESULTADOS

3.1. Crescimento e eficiência de utilização dos alimentos

Os resultados obtidos para o crescimento e utilização das dietas contendo diferentes níveis de tremoço, são apresentados na tabela 15 e na figura 4. A incorporação de 10 e 20 % de proteína de tremoço nas dietas T10 e T20, não provoca qualquer efeito significativo no ganho de peso, taxa de crescimento específico, índice de conversão e coeficiente de eficácia proteica observados, relativamente à dieta testemunha ($p > 0,05$). No entanto, todos estes perâmetros considerados são afectados negativamente, para a incorporação de 30 % de proteína de tremoço (dieta T30), relativamente a todas as dietas restantes ($p < 0,01$).

Nos resultados obtidos na experiência com as dietas contendo ervilha (tabela 16, figura 5), verifica-se que, não existindo diferenças significativas para o ganho de peso, taxa de crescimento específico, índice de conversão e coeficiente de eficácia proteica, entre as dietas contendo respectivamente, 10, 15 e 20 % de proteína de ervilha (E10, E15 e E20), todas elas apresentam performances superiores às verificadas para a dieta testemunha ($p < 0,01$). A ingestão voluntária das dietas experimentais, não apresenta diferenças significativas entre si ($p > 0,05$).

Para a experiência em foram usados níveis crescentes de feverol, os resultados verificados (tabela 17, figura 6), mostram a ausência de efeitos significativos sobre o ganho de peso, taxa de crescimento específico, índice de conversão alimentar, coeficiente de eficácia proteica e ingestão voluntária ($p > 0,05$).

De referir, que em qualquer das três experiências, os valores registados para a mortalidade foram sempre muito baixos, estando os resultados do índice de conversão alimentar já corrigidos para esse efeito.

Tabela 15. Crescimento e eficiência de utilização das dietas usadas para o estudo do tremoço (*L. angustifolius*) (16 ºC; 10 semanas; 2,5 % ingestão diária)*

	T	T10	T20	T30
Peso inicial (g)	9,5	9,3	9,5	9,5
Peso final (g)	47,2	47,2	47,3	42,2
Ganho de peso	37,72[a]	37,9[a]	37,8[a]	32,7[b]
IC[1]	o,94[a]	0,93[a]	0,93[a]	1,01[b]
TCE[2]	2,30[a]	2,32[a]	2,30[a]	2,14[b]
CEP[3]	2,30[a]	2,35[a]	2,37[a]	2,18[b]

1. Indice de conversão alimentar; 2. Taxa de crescimento específico; 3. Coeficiente de eficácia proteica.

* - Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,01$).

Figura 4. Evolução do peso médio das trutas usadas para o estudo do tremoço (10 semanas; 16ºC; 2,5% ingest.diária)

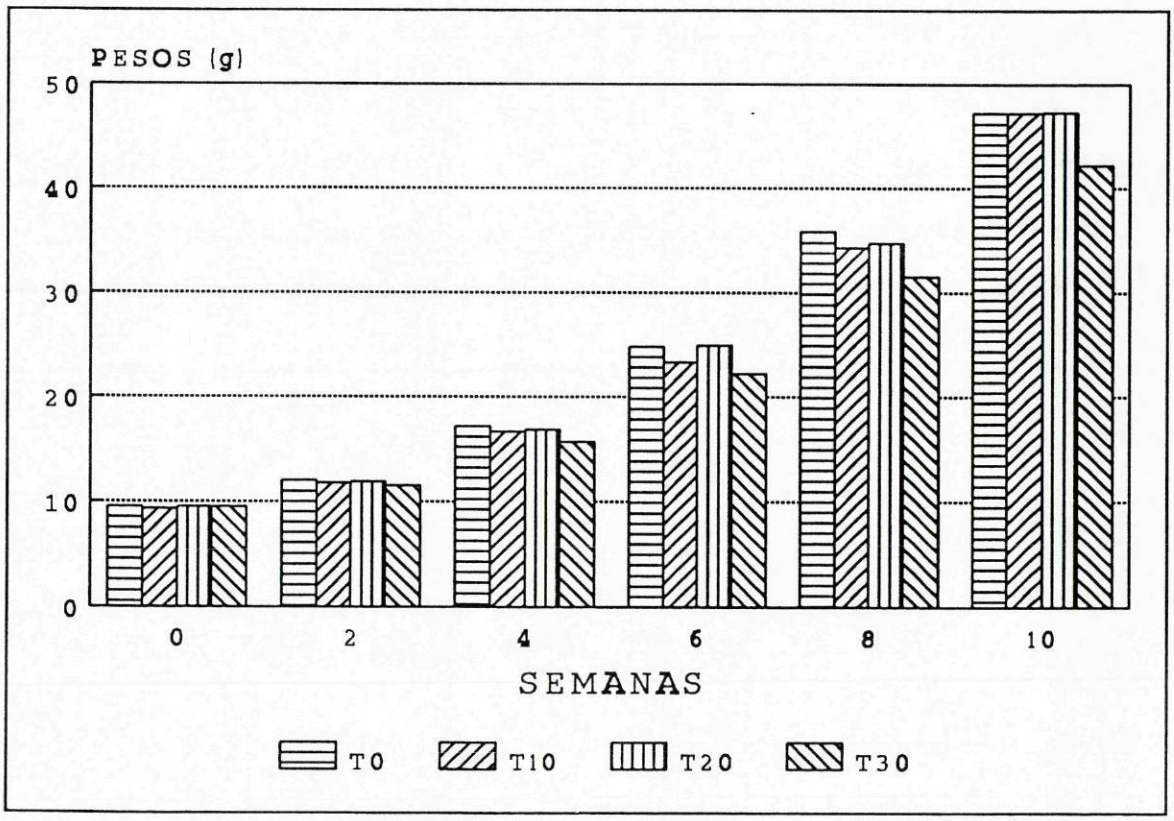


Tabela 16. Crescimento e eficiência de utilização das dietas usadas para o estudo da ervilha (*Pisum sativum*)*

(16 ºC; 10 semanas; ingestão *ad libitum*)

	E0	E10	E15	E20
Peso inicial (g)	7,58	7,94	7,57	7,73
Peso final (g)	35,40	49,20	47,85	47,17
Ganho de peso (g)	27,82[a]	41,26[b]	40,28[b]	39,44[b]
IC[1]	1,84[a]	1,37[b]	1,37[b]	1,35[b]
TCE[2]	2,57[a]	3,05[b]	3,08[b]	3,02[b]
CEP[3]	1,22[a]	1,58[b]	1,70[b]	1,59[b]
IV (% PI)[4]	3,99	4,21	4,47	4,40

1. Indice de conversão alimentar; 2. Taxa de crescimento específico; 3. Coeficiente de eficácia proteica; 4. Ingestão voluntária.

* - Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,01$).

Figura 5. Evolução do peso médio das trutas usadas para o estudo da ervilha (10 semanas; 16 ºC; *ad libitum*)

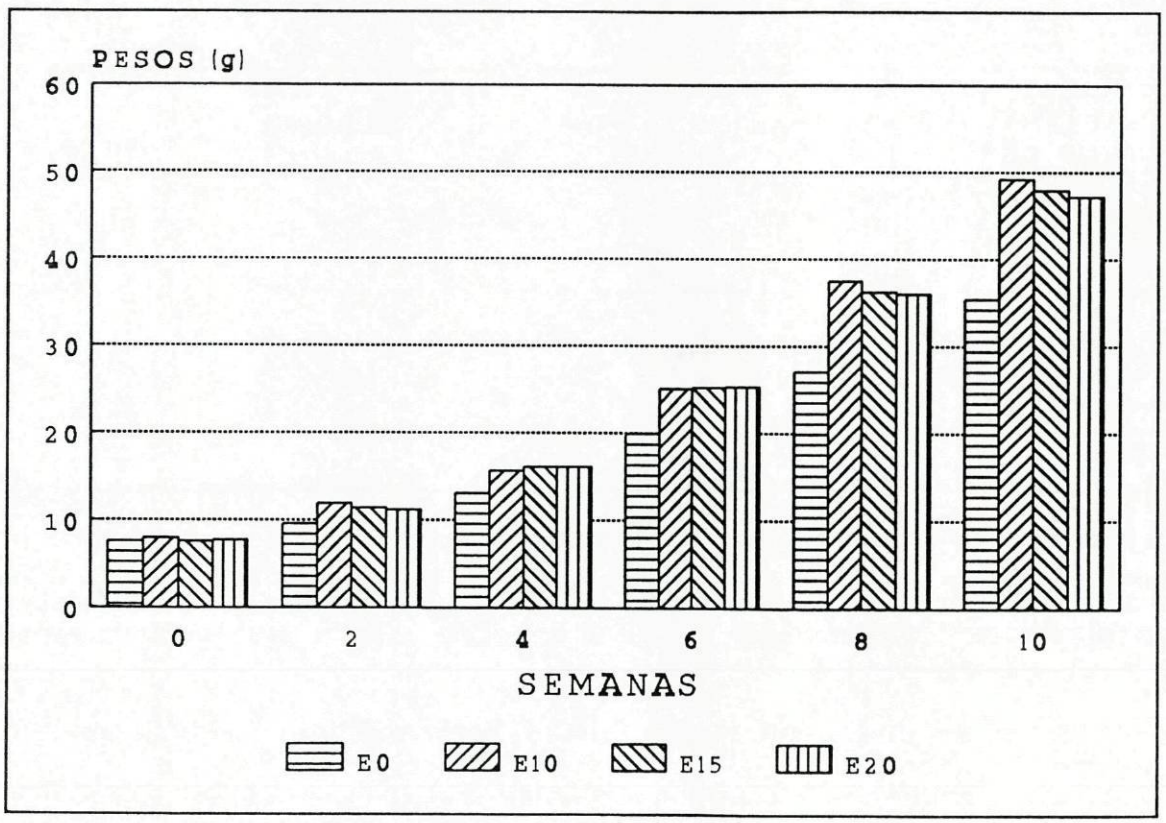


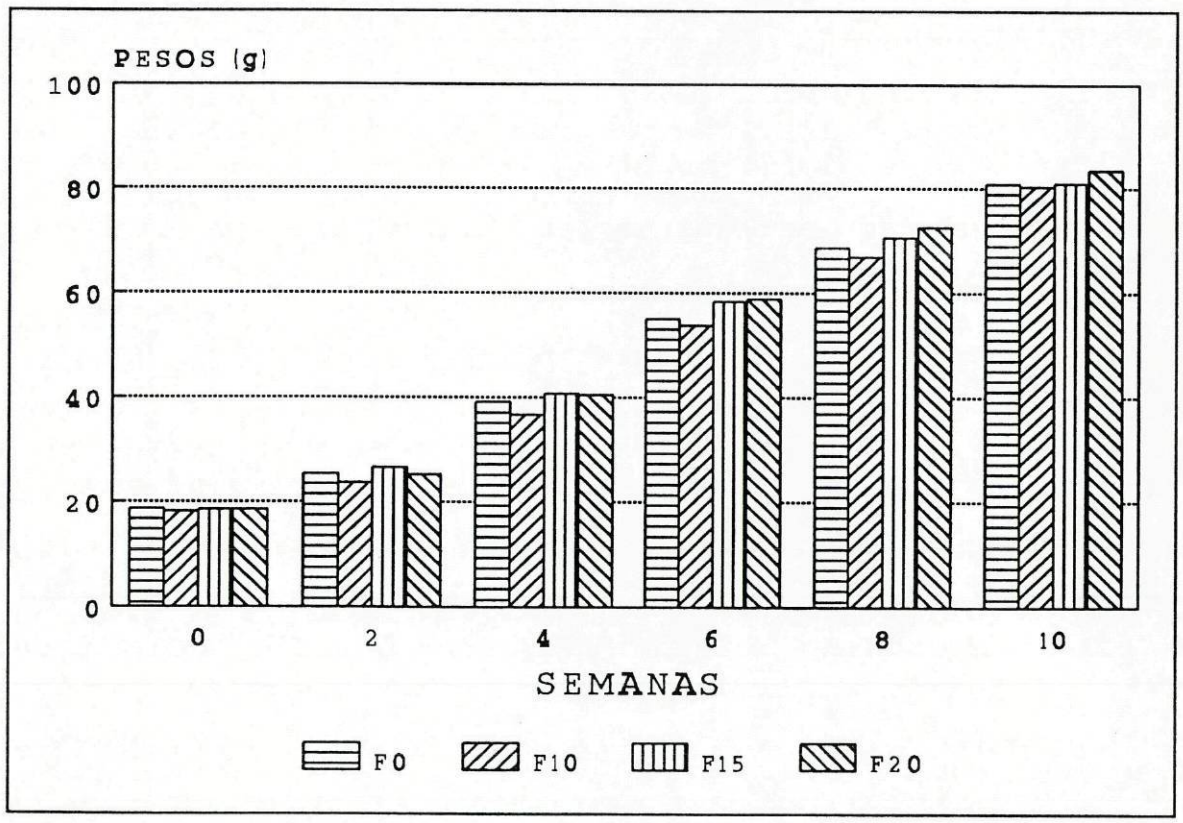
Tabela 17. Crescimento e eficiência de utilização das dietas usadas para o estudo da feverol (*Vicia faba*)*

(16 ºC; 10 semanas; ingestão *ad libitum*)

	F0	F10	F15	F20
Peso inicial (g)	18,71	18,19	18,55	18,46
Peso final (g)	80,90	80,38	81,03	83,55
Ganho de peso (g)	62,19	62,19	60,48	65,11
IC[1]	1,42	1,31	1,31	1,41
TCE[2]	2,45	2,47	2,45	2,52
CEP[3]	1,58	1,63	1 70	1,65
IV (% PI)[4]	4,96	4,80	4,72	5,10

1. Indice de conversão alimentar; 2. Taxa de crescimento específico; 3. Coeficiente de eficácia proteica; 4. Ingestão voluntária.

Figura 6. Evolução do peso médio das trutas usadas para o estudo da feverol (10 semanas; 16 ºC; *ad libitum*)



3.2. Coeficientes de utilização digestiva aparentes (CUD)

Os coeficientes de utilização digestiva aparente da matéria seca, proteína e energia, das dietas usadas para o estudo do tremoço, são indicados na tabela 18. Os resultados obtidos para a digestibilidade da matéria seca confirmam a tendência observada para o crescimento e eficiência da utilização do alimento, sendo o decréscimo na digestibilidade observado significativo já a partir de 20 % de proteína de tremoço ($p < 0,01$), não havendo alterações significativas entre as dietas T0 e T10 ($p > 0,05$).

Para a digestibilidade da proteína, verifica-se um efeito contrário ao dos resultados anteriores, havendo um aumento significativo da dieta testemunha, para as dietas T10 e T20, seguido de um outro para a dieta T30 ($p < 0,01$).

Os coeficientes de utilização digestiva da energia, sofrem um decréscimo sucessivo de T0 para T30, ou seja, à medida que se vão incorporando níveis cada vez mais altos de tremoço à dieta ($p < 0,01$).

Para o estudo realizado com a ervilha, verifica-se uma tendência para a obtenção de valores idênticos de digestibilidade da matéria seca (tabela 19), havendo apenas o valor do CUD da dieta E15, que é significativamente inferior às dietas E0 e E10 ($p < 0,05$). Do mesmo modo, não se verificam diferenças significativas para a digestibilidade da energia das diversas

dietas ($p > 0,05$).

Por outro lado, os coeficientes de utilização digestiva da proteína, apresentam uma tendência inversa aos da matéria seca, com os valores registados para as dietas E10 e E20, a serem significativamente superiores ao da dieta testemunha ($p < 0,01$).

A digestibilidade da matéria seca das dietas contendo diferentes níveis de feverol, apresenta um decréscimo claro, relativamente à dieta testemunha, à medida que a incorporação de feverol aumenta (tabela 20). O mesmo tipo de tendência, se bem que de uma forma menos vincada, é observado para a digestibilidade da proteína, voltando as diferenças a aumentar ligeiramente para os resultados da energia.

Tabela 18. Coeficientes de utilização digestiva das dietas usadas para o estudo do tremoço (*L. angustifolius*)*

	T0	T10	T20	T30
	%			
Matéria seca	73,9^a	73,1^a	69,2^b	64,9^c
Proteína	85,7^a	88,7^b	88,8^b	90,2^b
Energia	85,1^a	80,1^b	76,8^c	72,7^d

* - Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,01$).

Tabela 19. Coeficientes de utilização digestiva das dietas usadas para o estudo da ervilha (*Pisum sativum*)*

	E0	E10	E15	E20
	%			
Matéria seca	$69,5^{A}$	$68,8^{A}$	$65,0^{B}$	$67,6^{AB}$
Proteína	$81,4^{a}$	$85,2^{b}$	$83,5^{ab}$	$86,7^{b}$
Energia	78,9	79,8	78,0	79,2

* - Os valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si : (maiúsculas $p < 0,05$; minúsculas $p < 0,01$).

Tabela 20. Coeficientes de utilização digestiva das dietas usadas para o estudo da feverol (*Vicia faba*)*

	F0	F10	F15	F20
	%			
Matéria seca	$78,5^{a}$	$69,3^{b}$	$67,2^{b}$	$62,9^{c}$
Proteína	$87,0^{a}$	$85,1^{a}$	$85,2^{a}$	$82,1^{b}$
Energia	$88,6^{a}$	$82,0^{b}$	$81,9^{b}$	$78,3^{c}$

* - Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si; (minúsculas $p < 0,01$).

3.3.Comparação do óxido de crómio, ADF e celulose como marcadores utilizados na determinação dos coeficientes de utilização digestiva

A variedade de tremoço doce que em 1988 se encontrou disponível no mercado de matérias-primas da indústria de alimentos compostos, foi o *Lupinus angustifolius*, proveniente da Austrália. Esta cultivar, comparativamente a outras como o *Lupinus albus*, possui um teor em fibra mais elevado (tabela 13).

A utilização do óxido de crómio, como marcador externo para a determinação da digestibilidade em peixes, tem sido alvo de críticas pontuais, em especial quando se pretendem efectuar determinações em condições de produção (Tacon e Rodrigues, 1984). Os marcadores alternativos que têm sido referidos, são a celulose (Buddington, 1979), e a fibra bruta (Tacon et al., 1983).

Uma vez que se determinou a digestibilidade das dietas experimentais contendo tremoço, através do recurso ao método habitual do óxido de crómio, esses mesmos resultados foram comparados com outros, obtidos pela utilização das fracções ADF e celulose, determinadas em alimentos e fezes pelo método de Van Soest. Os resultados são indicados na tabela 21 e na figura 7.

Os resultados obtidos para qualquer das três dietas, utilizando o ADF e a celulose são idênticos entre si, mas significativamente superiores ($p < 0,05$), relativamente aos observados com o óxido de cromio. A diferença deste marcador para

o ADF, é sempre superior à observada para a celulose, e é independente do aumento do nível de tremoço na dieta, ou seja, do seu teor em fibra. Não nos parece assim que a utilização de marcadores intrínsecos ao alimento, possa conduzir a resultados equivalentes aos registados com a utilização do óxido de crómio.

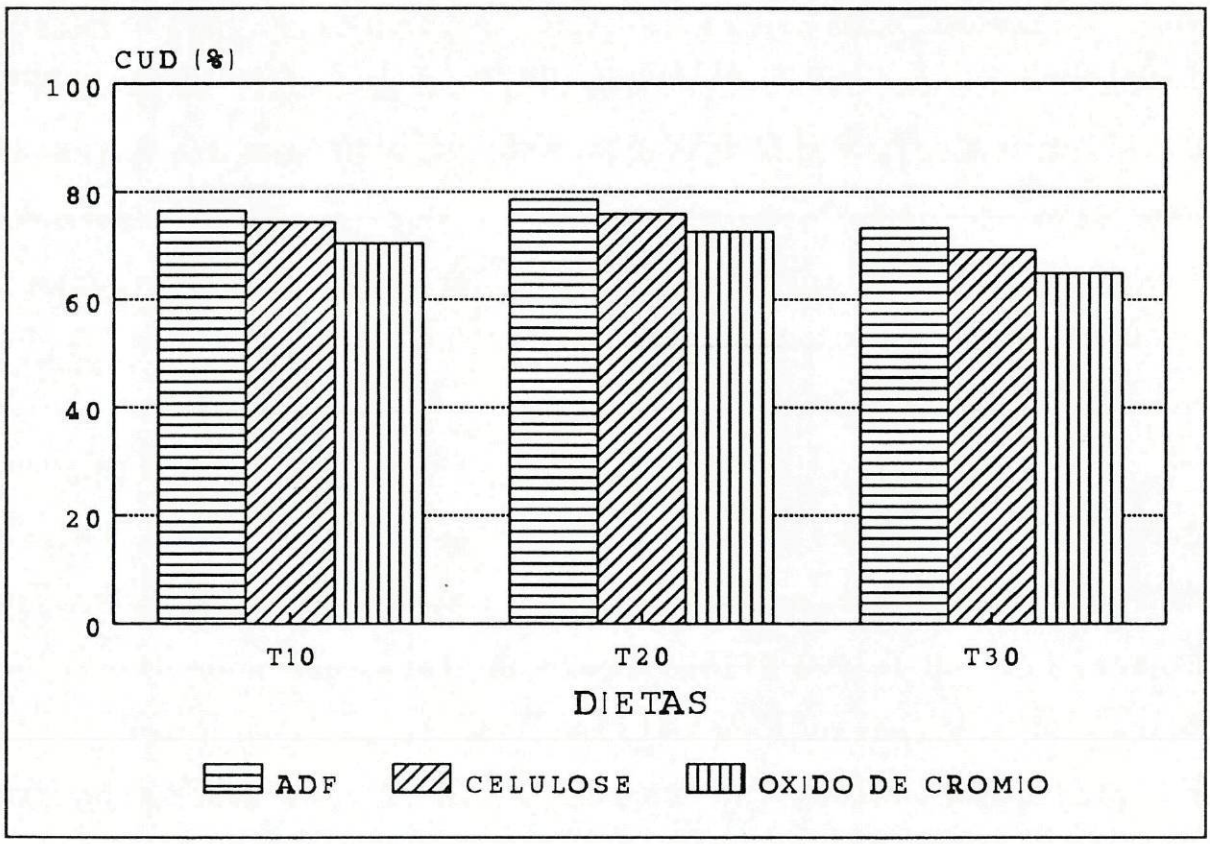
Tabela 21. Utilização do óxido de crómio, ADF e celulose, na determinação da digestibilidade da matéria seca das dietas usadas para o estudo tremoço (*L. angustifolius*)*

	T10	T20	T30
	%		
ADF	76,42^{A}	74,28^{A}	70,32^{A}
Celulose[1]	78,60^{B}	75,77^{B}	72,52^{B}
Oxido de crómio	73,28^{C}	69,16^{C}	64,87^{C}

1. Calculada pela diferença ADF - ADL;

* - Valores da mesma coluna, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,05$).

Figura 7. Efeito do tipo de marcador na digestibilidade das dietas usadas para o estudo do tremoço



3.4. Composição corporal e índice hepatossomático das trutas no início e fim das experiências

A composição corporal dos peixes alimentados com as dietas usadas para o estudo do tremoço, é indicada na tabela 22. Comparativamente à composição inicial dos peixes, o teor em proteína das carcaças, bem como o teor em humidade, sofrem um abaixamento em todos os tratamentos experimentais. Pelo contrário existe um aumento do teor em gordura das carcaças. Os teores em proteína, matéria seca, gordura, energia e cinzas das carcaças, bem como o índice hepatossomático dos quatro tratamentos experimentais, não apresentam diferenças significativas entre si ($p > 0,05$).

O mesmo tipo de variação, e a mesma relação de diferenças não significativas, são observadas entre os valores da composição das carcaças em matéria seca, proteína, gordura e cinzas, para os peixes alimentados com dietas contendo diferentes teores de incorporação de ervilha (tabela 23). Por outro lado, verifica-se um índice hepatossomático significativamente superior no tratamento testemunha, relativamente a todos os restantes ($p < 0,01$).

A composição em humidade, energia, cinzas e proteína, bem como o índice hepatossomático das carcaças dos peixes utilizados na experiência realizada para o estudo da feverol, não

apresenta diferenças significativas entre si ($p > 0,05$). Por outro lado, os teores em gordura das carcaças, apresentam alguma variação, com os valores mais altos a ser apresentados nos tratamentos F20 e F0, respectivamente, e que são significativamente diferentes dos restantes ($p < 0,05$).

Tabela 22. Composição corporal e índice hepatossomático das trutas alimentadas com as dietas usadas para o estudo do tremoço (*L. angustifolius*)

	INICIAL	T0	T10	T20	T30	
Matéria seca	24,00	28,88	29,41	29,34	28,77	**NS**
Proteína (Nx6,25) (%MS)	66,11	58,74	57,74	59,85	60,78	**NS**
Gordura bruta (%MS)	17,53	33,96	35,13	31,62	31,72	**NS**
Energia bruta (kJ/g MS)	22,50	24,81	24,83	23,68	24,74	**NS**
Cinzas	10,79	7,59	7,26	7,53	7,54	**NS**
IHS (%)	-----	1,62	1,43	1,56	1,58	**NS**

IHS - índice hepatossomático; NS - difernças estatisticamente não significativas.

Tabela 23. Composição corporal e índice hepatossomático das trutas alimentadas com as dietas usadas para o estudo da ervilha (*Pisum sativum*)*

	INICIAL	E0	E10	E15	E20	
Matéria seca	23,47	27,58	28,40	28,08	28,55	**NS**
Proteína (Nx6,25) (%MS)	61,30	56,27	55,05	55,95	55,30	**NS**
Gordura bruta (%MS)	21,56	30,10	32,95	30,41	32,50	**NS**
Energia bruta (kJ/g MS)	24,92	27,00	26,16	26,99	26,96	**NS**
Cinzas (%MS)	11,32	9,93	10,21	11,04	10,37	**NS**
IHS (%)	-----	$2,37^{a}$	$1,89^{b}$	$2,03^{ab}$	$1,83^{b}$	

IHS - Indice hepatossomático; * - Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,01$); NS - Diferenças estatisticamente não significativas.

Tabela 24. Composição corporal e índice hepatossomático das trutas alimentadas com as dietas usadas para o estudo da feverol (*Vicia faba*)*

	INICIAL	F0	F10	F15	F20	
Matéria seca	25,64	30,33	29,58	29,93	30,52	**NS**
Proteína (Nx6,25) (%MS)	60,92	54,12	55,48	54,18	54,82	**NS**
Gordura bruta (%MS)	27,01	$35,20^{A}$	$34,12^{B}$	$33,42^{B}$	$35,44^{A}$	
Energia bruta (kJ/g Ms)	26,29	27,93	27,87	28,28	27,80	**NS**
Cinzas (%MS)	9,51	8,37	9,22	9,01	11,14	**NS**
IHS (%)	-----	1,83	1,57	1,53	1,60	**NS**

IHS - Indice hepatossomático; * - Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,05$); NS - Diferenças estatisticamnete não significativas.

3.5. Balanços energéticos e azotados

Os balanços energéticos e azotados, das três experiências realizadas, são indicados nas tabelas 25, 26 e 27, respectivamente.

Para a experiência realizada com tremoço, verifica-se que a energia metabolizável, tal como a energia net, apresentam uma tendência para diminuir à medida que aumenta o teor de incorporação de tremoço. Da dieta T0, para a dieta T30, essa variaçäo é da ordem de 18 %. A retenção energética, näo parece ser afectada pela presença de tremoço na dieta, havendo mesmo uma tendência para aumentar, se expressa em termos da energia digestível ingerida.

Do mesmo modo, verifica-se que a retenção azotada, quando expresssa em percentagem do azoto ingerido, não sofre variações sensíveis entre as diferentes dietas mas, se relacionada com o azoto digestível, tende a baixar com a incorporação de tremoço.

A energia metabolizável, a energia net, e a retenção energética, aumentam para todas as dietas contendo ervilha na sua composição, relativamente à dieta testemunha. Este aumento, é muito mais claro para a retenção azotada, quer expressa relativamente ao azoto total ingerido, quer ao azoto digestível, resultado da excreção endogena mais elevada deste nutriente verificada na dieta testemunha.

Se bem que não sejam verificadas variações sensíveis para a energia metabolizável, energia net e retenção energética expressa para a ingestão total, esta última, tal como na experiência anterior, sofre um aumento para as dietas contendo feverol, relativamente à testemunha. Este aumento de retenção de nutrientes, é igualmente verificado nos mesmos tratamentos para a retenção azotada, sendo mais uma vez clara a maior percentagem de excreção de azoto endogeno para a dieta testemunha, que vai diminuindo à medida que aumenta a incorporação de feverol, ou seja, à medida que diminui o teor em farinha de peixe.

De salientar que, não havendo variação da composição alimentar das dietas testemunha para qualquer das três experiências realizadas, se encontram variações sensíveis, quer para o balanço enegético, quer para o balanço azotado da dieta testemunha, em especial se comparados da experiência realizada para o estudo do tremoço, relativamente às duas restantes com ervilha e feverol.

Tabela 25. Balanços energético e azotado das trutas alimentadas com as dietas usadas para o estudo do tremoço (*L.angustifolius*)

	T0	T10	T20	T30
EB ingerida (kJ/gMS)	20,3	20,0	19,9	20,0
ED ingerida (kJ/gMS)	17,3	16,0	15,3	14,5
EM ingerida (kJ/gMS)	16,5	15,1	14,4	13,6
EN ingerida (kJ/gMS)	16,0	14,7	14,0	13,2
ER (% EI)	41,5	43,5	40,6	39,7
ER (% ED ingerida)	48,8	54,3	52,9	54,6
ER (kJ/gMS ingerida)	8,4	8,7	8,1	7,9
N ingerido (mg/gMS)	75,2	74,7	74,2	75,0
ND ingerido (mg/gMS)	64,5	66,2	65,9	67,7
NR (mg/g MS ingerida)	30,5	30,6	31,7	30,1
NR (% NI)	40,5	40,9	42,7	40,1
NR (% ND ingerido)	47,3	46,1	48,0	44,5
NE (mg/g MS ingerida)	34,0	35,6	34,2	37,6
NE (%N ingerido)	45,3	47,7	46,1	50,2

EB - Energia bruta; ED - Energia digestível; EM - Energia metabolizável = ED - PENF; PENF=Perdas Energéticas Não Fecais; EN = Energia net = EM - IC; IC= Incremento de calor; ER - Energia retida; EI - Energia ingerida; ND - Azoto digestível; NR - azoto retido; NI - Azoto ingerido; NE - Excreção de azoto não fecal = ND - NR; PENF= NE x 25 kJ/gN (Elliott e Davidson, 1975); IC = ND x 28 kJ/gN (Cho et al., 1982).

Tabela 26. Balanços energético e azotado das trutas alimentadas com as dietas usadas para o estudo da ervilha (*Pisum sativum*)

	E0	E10	E15	E20
EB ingerida (kJ/gMS)	20,9	22,3	22,3	21,7
ED ingerida (kJ/gMS)	16,5	17,8	17,4	17,2
EM ingerida (kJ/gMS)	15,4	16,8	16,5	16,2
EN ingerida (kJ/gMS)	13,8	15,1	14,9	14,4
ER (%EI)	20,2	24,4	25,9	26,8
ER (% ED ingerida)	25,7	30,6	33,3	33,8
ER (kJ/gMS ingerida)	4,2	5,5	5,8	5,8
N ingerido (mg/gMS)	70,6	72,2	69,0	73,3
ND ingerido (mg/gMS)	57,4	61,5	57,6	63,5
NR (mg/gMS ingerida)	13,6	21,2	22,4	21,6
NR (%NI)	19,3	25,1	27,1	25,5
NR (% ND ingerido)	23,7	29,4	32,5	29,4
NE (mg/g MS ingerida)	43,8	40,3	35,2	41,9
NE (%NI)	62,1	55,8	51,0	57,3

EB - Energia bruta; ED - Energia digestível; EM - Energia metabolizável = ED - PENF; PENF=Perdas Energéticas Não Fecais; EN - Energia net = EM - IC; IC= Incremento de calor; ER - Energia retida; EI - Energia ingerida; ND - Azoto digestível; NR - azoto retido; NI - Azoto ingerido; NE - Excreção de azoto não fecal = ND - NR; PENF = NE x 25 kJ/gN (Elliott e Davidson, 1975); IC = ND x 28 kJ/gN (Cho et al., 1982).

Tabela 27. Balanços energético e azotado das trutas alimentadas com as dietas usadas para o estudo da feverol (*Vicia faba*)

	F0	F10	F15	F20
EB ingerida (kJ/gMS)	21,8	21,9	22,2	22,3
ED ingerida (kJ/gMS)	19,3	18,0	18,2	17,5
EM ingerida (kJ/gMS)	18,2	16,9	17,2	16,5
EN ingerida (kJ/gMS)	16,5	15,2	15,4	15,0
ER (%EI)	29,2	29,3	30,8	28,5
ER (% ED ingerida)	33,0	35,7	37,7	38,0
ER(kJ/gMS ingerida)	6,4	6,4	6,9	6,6
N ingerido (mg/gMS)	70,2	71,8	71,7	68,6
ND ingerido (mg/gMS)	61,1	61,1	61,1	56,4
NR (mg/gMS ingerida)	18,5	20,0	20,0	19,4
NR (%NI)	26,4	27,3	27,9	28,3
NR (% ND ingerido)	30,3	32,0	32,8	34,5
NE (mg/gMS ingerida)	42,6	41,6	41,1	36,9
NE (%N ingerido)	60,6	57,8	57,3	53,8

EB -Energia bruta; ED -Energia digestível; EM - Energia metabolizável = ED - PENF; PENF=Perdas Energéticas Não Fecais; EN - Energia net = EM - IC; IC= Incremento de calor; ER - Energia retida; EI - Energia ingerida; ND - Azoto digestível; NR - Azoto retido; NI - Azoto ingerido; NE - Excreção de azoto não fecal = ND - NR; PENF= NE x 25 kJ/gN (Elliott e Davidson, 1975); IC = ND x 28 kJ/gN (Cho et al., 1982).

4.DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no conjunto das três experiências realizadas, se confirmam por um lado que as proteaginosas, melhoradas para o seu conteúdo em factores anti-nutricionais, são componentes promissores das dietas comerciais para salmonídeos, realçam igualmente a importância da variação que pode ocorrer na proteína de referência, e relativamente à qual é efectuada a substituição na dieta, pelo componente a testar. De facto, analisando os resultados que são indicados na tabela 28, verifica-se que para uma dieta em que o unico ingrediente que sofre variação é a farinha de peixe, obtida sempre da mesma fonte antes de cada experiência, ela pode influenciar de forma acentuada as conclusões a retirar sobre o valor nutritivo de uma proteína de substituição.

A frescura da matéria-prima utilizada para o fabrico da farinha de peixe, pode influir directamente no valor nutritivo desta (Pike et al., 1990), sendo outros factores como o tipo de peixe, o teor em cinzas e a temperatura de fabrico, igualmente importantes (NRC, 1981; Pike et al., 1990). Os resultados dos estudos realizados sobre as farinhas de peixe portuguesas (Gouveia, 1989), em que se incluem as usadas neste trabalho, são bem o reflexo da enorme variação que ocorre, quer para a composição química, quer para o valor nutritivo. Assim, segundo Gouveia (1989), a farinha de peixe do tipo da utilizada nas experiências descritas, apresenta uma variação do teor em

proteína entre 53,9 e 66,3 %, de cinzas entre 7 a 31 %, sendo o índice de peróxidos mais elevado nas farinhas de maior conteúdo proteico. Esta fonte de farinhas de peixe, é assim caracterizada por apresentar uma irregularidade acentuada das suas características bromatológicas. Sendo certo que nas experiências deste capítulo, foram usadas farinhas de peixe que em termos de composição química, se aproximam mais das do tipo de maior teor em proteína, é um facto que a variaçäö deste nutriente, pode conduzir a alterações substanciais do balanço em ácidos aminados (Mossé, 1990).

De um ponto de vista nutricional, não é a farinha de peixe de maior teor em proteína bruta, aquela em que é obtido um melhor crescimento mas, pelo contrário, esse resultado aparece exactamente na farinha em que o teor nesse nutriente é mais baixo (Gouveia, 1989). Mesmo assim, e sendo a testemunha utilizada no trabalho deste autor, formulada à base de "pruteen", de resultados pouco satisfatórios em truta arco-íris (Kaushik e Luquet, 1980; Tacon e Jackson, 1985), nenhuma das farinhas testadas se equivale aos resultados obtidos com essa dieta.

A oxidação do óleo das farinhas de peixe, pode provocar uma baixa directa nos crescimentos observados (Barlow e Windsor, 1984; Pike, 1990), bem como no seu teor em energia digerível, se bem que Gouveia (1989), não tenha observado efeitos significativos na digestibilidade da gordura, para as farinhas com maior percentagem de oxidação.

A substituição, total ou parcial, da proteína da farinha de peixe por outras fornecidas a partir das plantas proteaginosas, apresenta assim grandes discrepâncias, que são bem evidentes nos vários estudos realizados com soja. Goldhor e Refenstein (1987), referem que o teor elevado em lisina e ácidos aminados sulfurados das farinhas de peixe, funcionam como excelentes suplementos ao balanço em ácidos aminados das proteínas vegetais, aumentando assim o seu potencial de substituição parcial. Não parece haver igualmente nenhuma influência da incorporação de proteínas de origem vegetal, nas características organolépticas da truta, independentemente da linha genética utilizada (Smith et al., 1988). Pese embora a referência aos problemas de palatabilidade postos pelas proteínas vegetais (Lovell, 1984), aos teores altos em fibra, balanço inadequado em ácidos aminados e presença de factores anti-nutricionais (Lim e Dominy, 1989; Tacon et al., 1983), é um facto que têm sido conseguidos resultados idênticos, com o recurso exclusivo a proteínas vegetais, como o gluten de milho (Tiews et al., 1979), ou a soja Smith, 1977; Reinitz et al., 1978), aos obtidos com diversas farinhas de peixe. Há ainda a referir que, mesmo em casos de algum decréscimo do valor nutritivo das dietas, se podem conseguir vantagens económicas significativas (Akiyama, 1988).

Devido ao seu teor em proteína relativamente baixo, o tremoço, a ervilha e a feverol, são sempre considerados como substitutos limitados das farinhas de peixe, bem como fontes carentes em ácidos aminados essenciais, com relevo para a lisina

(Lacassagne, 1988). No entanto, os resultados obtidos no conjunto das três experiências realizadas, são extremamente encorajantes, e demonstram o potencial de utilização das proteginosas nas rações para peixes, em especial em situações de qualidade sofrível das farinhas de peixe existentes.

De um ponto de vista agronómico, a cultura do tremoço apresenta algumas vantagens relativamente à cultura da soja, devido principalmente à sua maior versatilidade em espécies adaptadas às variações climáticas e de solos, de região para região (Hill, 1977). A experiência realizada com tremoço, demonstrou a possibilidade da utilização do *Lupinus angustifolius*, como uma variedade idêntica à testada previamente com sucesso em truta arco-íris por De La Higuera et al., (1988), e Hughes (1988). De La Higuera et al. (1988), demonstraram igualmente a não necessidade de efectuar um tratamento térmico prévio, nem a suplementaçäo em lisina, o que está de acordo com o trabalho presente e no mesmo sentido dos resultados obtidos por Rosa (1980), em suínos, mas em contradição com Hanczakowski (1980). A ausência de hemaglutininas e inibidores de tripsina (Tannous e Ullah, 1969), é a razäo mais plausível para o facto de o tremoço não necessitar de tratamento térmico. Os resultados obtidos na experiência com este ingrediente, são também muito semelhantes aos que Viola e Zohar (1988), obtiveram em carpas, se bem que estes animais apresentem uma maior aptidão para a utilização de componentes vegetais na sua alimentação. Os coeficientes de utilização digestiva observados, embora sempre relativamente elevados, confirmam a tendência para a sua descida

à medida que o teor de incorporação de tremoço aumenta (Schwartz et al, 1986).

Os resultados obtidos nas experiências realizadas com ervilha e feverol, demonstram igualmente o potencial de utilização destas matérias-primas, se bem que, em especial no caso da ervilha, os resultados obtidos devam ser observados com alguma reserva, devido à variação surgida nos resultados da dieta testemunha (tabela 28). A ervilha e a feverol, podem considerar-se como duas proteaginosas de valor nutritivo semelhante para monogástricos (Lacassagne, 1988), sendo mais fortes as variações observadas nas produções agonómicas obtidas, e nos requisitos para o seu cultivo (Salgueiro, 1989).

O crescimento e eficiência da utilização dos alimentos, verificados em qualquer das três experiências realizadas, situou-se sempre dentro de valores que podem ser considerados óptimos para a truta arco-íris, comparativamente superiores aos valores obtidos em experiências de crescimento em jangadas colocadas em albufeira, por Oliva Teles (1988) e Gouveia (1989). No entanto, as diferenças observadas de ensaio para ensaio, variam no sentido inverso ao do sucesso obtido nas proteínas de substituição, o que poderá explicar em parte as diferenças observadas na avaliação relativa da qualidade das matérias-primas testadas.

Koops et al. (1981), referem a utilização possível de Vicia faba em dietas para truta arco-íris, em especial se

suplementada em ácidos aminados essenciais, mas os resultados obtidos neste trabalho são superioes aos das referências anteriores conhecidas (Beck e Gropp, 1979; Grabner e Hofer, 1985). A composição química das carcaças, bem como a digestibilidade dos diferentes nutrientes, não parece ser a razão mais directa que explique os resultados obtidos. As variações sensíveis observadas, tanto na retenção energética, como na retenção proteica das trutas alimentadas com a dieta testemunha, ao longo das três experiências realizadas, variam na razão directa dos resultados obtidos, realçando a importância das perdas azotadas por via branquial, no total das perdas do azoto ingerido (Cho e Kaushik, 1990). Do mesmo modo, os resultados observados para a retenção energética, em qualquer das três experiências, mostram também que, a expressão dos resultados em percentagem da fracção digestível ingerida, é preferível relativamente à ingestão em termos de energia bruta, em especial para a estimativa dos requisitos energéticos da produção de kilogramas de peixe (Kim, 1989).

Em síntese, os resultados observados em qualquer das três experiências realizadas, demonstram a utilização potencial de proteginosas em dietas comerciais para salmonídeos, em especial se referidas ao valor nutritivo das farinhas de peixe nacionais, bem como a importância da quallidade da proteína da dieta, e o seu impacto directo na produção de amónia para o meio ambiente circundante, com a consequente limitação das cargas de peixe possíveis de utilizar em condições de produção.

Tabela 28. Comparação das performances obtidas com a dieta testemunha nas três experiências realizadas

	T0	E0	F0
Peso inicial (g)	9,5	7,6	18,7
Ganho de peso (g)	37,7	27,8	62,1
IC[1]	0,94	1,84	1,42
TCE[2]	2,30	2,57	2,45
CEP[3]	2,30	1,22	1,58
CUD (MS)	73,9	69,5	78,5
CUD (Proteína)	85,7	81,4	87,0
CUD (Energia)	85,1	78,9	87,0
% Proteína carcaças	58,7	56,2	54,1
% Gordura carcaças	34,0	30,1	35,2
Retenção energética	41,5	20,2	29,2
Retenção proteica	40,5	19,3	26,4
Excreção azoto não fecal (%NI)	45,3	62,1	60,6

1. Indice de conversão; 2. Taxa de crescimento específico; 3. Coeficiente de eficiência proteica; CUD. Coeficiente de utilização digestiva; MS. Matéria seca; NI. Azoto ingerido.

CAPITULO III. EFEITO DOS TRATAMENTOS DE COZEDURA E COZEDURA-EXTRUSÃO NA UTILIZAÇÃO DE FONTES DE ENERGIA E PROTEINA/ENERGIA DE ORIGEM VEGETAL

1. ESTUDO DA UTILIZAÇÃO DO TRITICALE EM DIETAS PARA TRUTA ARCO-ÍRIS : EFEITO DO NÍVEL DE INCORPORAÇÃO E DA COZEDURA

1.1. Introdução

As dietas comerciais dos aniamis domésticos, contêm usualmente uma proporção elevada de cereais, os quais representam a maior e a mais económica fonte de energia disponível no mercado das matérias-primas. No entanto, as rações destinadas aos peixes carnívoros, tais como os salmonídeos, contêm teores muito elevados em proteína, normalmente sob forma de farinha de peixe, reconhecido cada vez mais como um ingrediente caro e principalmente, com tendência progressiva para escassear. A tentativa de baixar os teores em proteína das dietas para salmonídeos, através do aumento da utilização da energia proveniente dos glúcidos, tém originado durante a última década uma série de estudos dedicados a esse efeito (Bergot, 1979; Pieper e Pfeffer, 1979; Hilton e Atkinson, 1982; Spanhof e Plantikow, 1983; Kaushik e Oliva Teles, 1985; Hilton et al., 1987; Kaushik et al., 1989).

Os glúcidos representam a maior e a mais comum fonte de energia dos animais superiores, em grande parte proveniente

do amido dos cereais, que representam normalmente a base da optimização dos custos de formulação (Hilton et al., 1987). Pelo contrário, existe uma grande controvérsia sobre o nível óptimo de glúcidos a incluir nas dietas para peixes. Bergot e Breque (1983), e mais recentemente Kaushik e Oliva Teles (1985), e Kaushik et al.(1989), referem que os tratamentos tecnológicos, baseados na aplicação de calor em meio húmido ao amido dos cereais, aumenta a disponibilidade da energia e a eficiência de utilização da proteína das dietas.

O triticale, é um híbrido resultante do cruzamento trigo x centeio, e é hoje cultivado em várias regiões de todo o mundo (Hadjipanayiotou et al., 1985), nomeadamente na região de Trás-os-Montes (Bernard e Guedes Pinto, 1983), tendo em vista associar a produção do trigo, à rusticidade do centeio. No entanto, sendo elevado o seu potencial produtivo, o triticale tem encontrado uma forte relutância à sua utilização para consumo humano. Por outro lado, este novo cereal tem tido algum sucesso nos estudos até agora efectuados em frangos e suínos, em que para além do seu preço baixo, é considerado como uma alternativa séria ao milho e ao trigo, sem causar efeitos adversos no crescimento e efeciência de utilização dos alimentos (Bragg e Sharby, 1970; Fernandez e MacGinnis, 1974; Gerry, 1975; Bixler et al., 1986).

O objectivo da experiência que passamos a expôr, foi o de avaliar o efeito da incorporação de triticale nas dietas para truta arco-íris, bem como a sua forma de inclusão e o seu nível óptimo na dieta.

1.2. Material e métodos

Esta experiência foi realizada na estação experimental da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real.

Para a realização do ensaio de crescimento, foram formuladas seis dietas experimentais contendo níveis diferentes de triticale em natureza, ou sujeito a pré-cozedura (110 ºC, em autoclave, durante 15 minutos). A variedade de triticale utilizada, foi a "Clercal", hexaplóide, trigo mole x centeio, com 42 cromossomas. Três das dietas foram formuladas de modo a conter 10, 20 e 30 % de triticlale não tratado, sendo designadas por T10, T20 e T30, respectivamente. Em outras duas das dietas experimentais, foram incorporados 20 e 30 % de triticale pré-cozido (dietas CT20 e CT30, respectivamente). Uma dieta testemunha, foi também formulada, baseada em farinha de peixe como a única fonte de proteína, procurando-se que todas as dietas experimentais fossem isoproteicas e isoenergéticas. Dado que em termos cronológicos, esta foi a primeira das experiências realizadas no âmbito desta dissertação, foi utilizada uma dieta comercial para salmonídeos (dieta C), de modo a testar as condições experimentais da estação. A formulação e a composição química das dietas são indicadas na tabela 29, estando a composição em ácidos aminados exposta na tabela 30.

Foram utilizadas 325 trutas arco-íris, com um peso médio de 102 ± 2 g, que foram distribuídas ao acaso por treze tanques experimentais. Após um período de adaptação de uma

semana, os peixes foram alimentados duas vezes ao dia, numa quantidade de alimento equivalente a cerca de 2 % do seu peso. Todas as dietas experimentais foram testadas em dupicado, e a experiência teve uma duração de oito semanas. Os peixes foram pesados quinzenalmente, em grupo, tendo sido retiradas amostras de cada tanque, de 10 peixes do lote utilizadado no ínicio, bem como no fim, de cada tanque, para a avaliação da composição química das carcaças, inteiras e evisceradas.

A preparação das dietas, a determinação da digestibilidade das mesmas, a condução dos enasios e a metodologia analítica utilizadas, decorreram conforme o descrito na metodologia geral.

No final da experiência de crescimento, seis grupos de 25 peixes cada, continuaram a ser alimentados da forma habitual por um período de mais quatro dias. Um sétimo grupo foi mantido em jejum durante esse período. No quinto dia, uma única refeição foi fornecida às 9 horas, e amostras individuais de sangue foram recolhidas por punção da veia caudal, de três peixes de cada grupo, préviamente anestesiados com etilenoglicol-monofenil eter 1:2500. As amostras de sangue, incluíndo as do grupo em jejum, foram sucessivamente recolhidas em intervalos diferentes após a refeição (0, 3, 6, 9, 12 e 24 horas, respectivamente). As amostras de sangue eram depois centrifugadas para separação do plasma (3000 rpm, 20 minutos), e guardadas em congelador para análise posterior da glucose e de ácidos aminados livres totais.

Tabela 29. Composição alimentar e composição química das dietas usadas para o estudo do triticale.

*** - Triticale pré-cozido**

Ingredientes	T	T10	T20	T30	CT20	CT30	Comercial
	%						
Farinha de peixe	62	60	59	58	59	58	
Dextrina	30	22	13	4	13	4	
Triticale	--	10	20	30	20*	30*	
Óleo figado bacalhau	6	6	6	6	6	6	
Mistura Min.Vit.	1	1	1	1	1	1	
Ligante	1	1	1	1	1	1	
Matéria seca (MS)	92,2	93,2	93,0	92,3	93,8	94,9	88,9
Proteína (Nx6,25) (%MS)	42,7	42,6	42,4	42,8	42,6	42,9	42,6
Gordura bruta (%MS)	10,1	11,1	11,1	11,8	11,9	11,9	10,2
Amido (%MS)	14,4	15,0	16,3	17,2	17,4	17,9	----
Energia bruta (kJ/gMS)	20,6	20,5	20,6	20,6	20,7	21,1	20,1
Cinzas (%MS)	12,2	12,1	12,8	12,2	12,4	12,4	13,8

Tabela 30. Composição em ácidos aminados das dietas usadas para o estudo do triticale*

	T	T10	T20	T30	CT20	CT30
	g/ 16 g N					
Ác. Aspártico	9,53	9,38	9,20	8,86	9,19	9,20
Treonina	4,17	4,24	4,21	4,07	4,21	4,53
Serina	3,97	4,01	4,16	3,93	4,06	3,90
Ác. Glut.	13,43	13,97	13,98	14,91	14,65	15,07
Prolina	4,20	4,71	4,08	5,06	4,92	5,17
Glicina	6,68	6,24	6,46	6,16	6,41	6,06
Alanina	6,07	6,02	5,96	5,80	5,91	5,96
Cistina	0,71	0,63	0,52	0,74	0,75	0,55
Valina	5,26	5,32	5,15	5,25	5,31	5,38
Metionina	2,68	2,86	2,67	2,70	2,71	2,82
Isoleucina	4,35	4,46	4,21	4,35	4,39	4,56
Leucina	7,31	7,50	7,24	7,26	7,34	7,48
Tirosina	3,24	3,33	3,22	3,00	3,43	3,37
fenilalanina	4,05	4,09	4,00	3,93	4,12	4,19
Histidina	2,50	2,48	4,31	2,45	2,54	2,64
Lisina	7,56	7,55	7,21	7,15	7,40	7,67
Arginina	6,50	6,42	6,43	6,66	6,47	6,35

* - A metodologia utilizada não permitiu a determinação do triptofano.

1.3. Resultados

1.3.1. Crescimento e eficiência de utilização alimentar

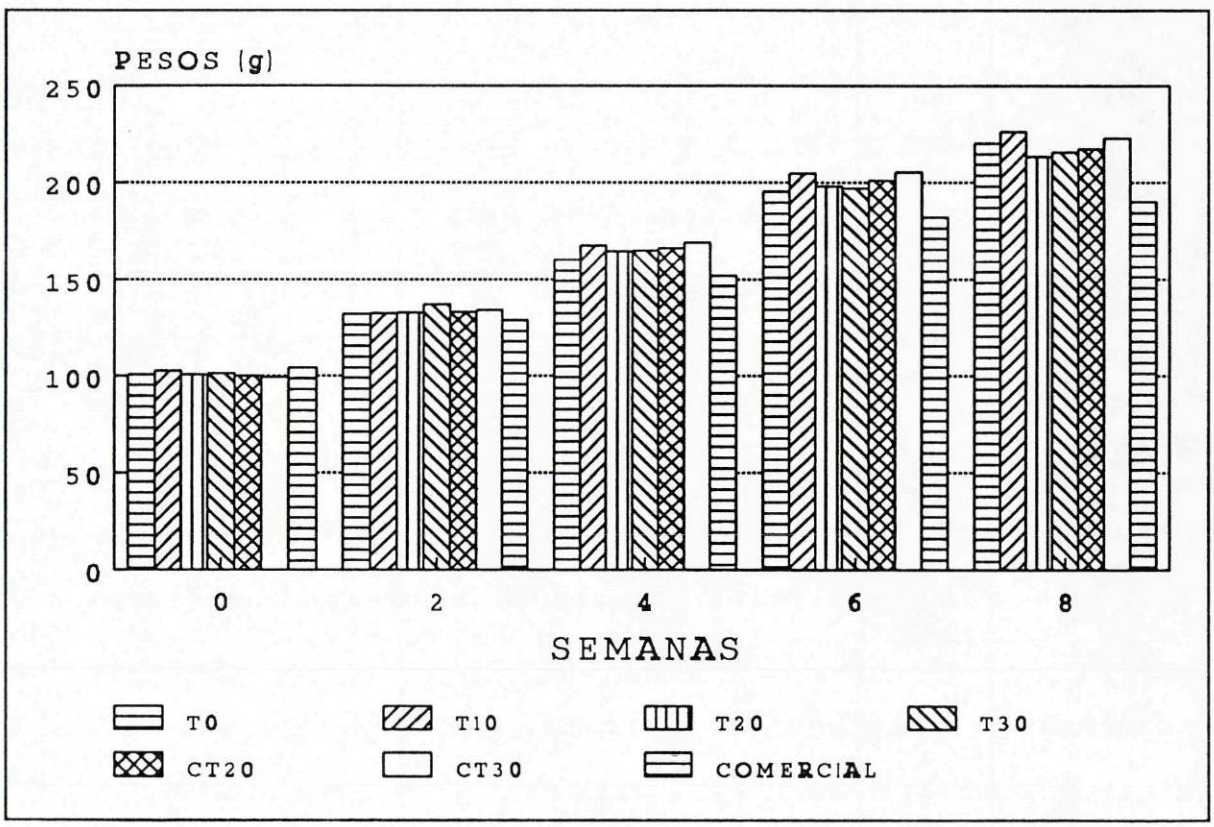
Os resultados obtidos para o crescimento e eficiência da utilização dos alimentos, são indicados na tabela 31, e na figura 8. Em qualquer dos tratamentos experimentais, o crescimento verificado foi significativamente superior ao das trutas alimentadas com a dieta comercial ($p < 0,01$). Os resultados obtidos para a ração comercial, estão dentro dos parâmetros normais de crescimento da truta arco-íris, o que demonstra que as condições experimentais eram satisfatórias. Entre os diversos tratamentos experimentais, os melhores resultados foram obtidos com a dieta CT30, estatisticamente idênticos aos observados para a dieta testemunha, bem como para o tratamento com o nível de incorporação mais baixo de triticale em natureza (T10), e para para a dieta CT20. Pelo contrário, verifica-se um decréscimo significativo no ganho de peso, para as trutas alimentadas com as dietas contendo os teores mais elevados de triticale não tratado (T20 e T30), ($p < 0,01$). O índice de conversão alimentar, bem como o coeficiente de eficácia proteica, são significativamente afectados nas trutas alimentadas com a dieta contendo 30 % de triticale não tratado (T30).

Tabela 31. Crescimento e eficiência de utilização alimentar das trutas usadas para o estudo das dietas contendo diferentes níveis de triticale. 16 ºC; 2 % ingestão diária;*

	T	T10	T20	T30	CT20	CT30	C
Peso inicial (g)	100,7	102,7	100,8	101,4	99,9	99,2	104,1
Peso final (g)	220,2	226,0	213,3	215,4	217,1	222,9	189,9
Ganho de peso (g)	119,5^{a}	123,3^{a}	112,5^{b}	114,0^{b}	117,2^{a}	123,7^{a}	85,8^{c}
IC[1]	1,32^{a}	1,22^{a}	1,29^{a}	1,44^{b}	1,26^{a}	1,19^{a}	1,48
TCE[2]	1,50^{a}	1,52^{a}	1,44^{b}	1,44^{b}	1,50^{a}	1,55^{a}	1,15
CEP[3]	1,78^{a}	1,79^{a}	1,70^{a}	1,50^{b}	1,75^{a}	1,84^{a}	1,41

1. Indice de conversão alimentar; 2. Taxa de crescimento específico; 3. Coeficiente de eficácia proteica; * - Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,01$).

Figura 8. Evolução do peso médio das trutas usadas para o estudo do triticale (8 semanas; 16 ºC; 2% ingest.diária)



1.3.2. Composição corporal, índice hepatossomático e retenção de nutrientes

O índice hepatossomático, é significativamente mais baixo nos peixes que ingeriram as dietas T20 e T30, ou seja, para os teores mais altos de incorporação de triticale não cozido (tabela 32). Por outro lado, a composição dos peixes inteiros, eviscerados, ou das vísceras, não é significativamente afectada para os teores em proteína, gordura, energia e humidade, em nenhum dos tratamentos experimentais ($p > 0,05$). De registar que os teores em proteína, e em especial os teores em gordura do lote inicial, sofrem uma variação muito pequena em todos os tratamentos, para a zona de pesos em que decorreu a experiência, tanto para os peixes inteiros, como para os eviscerados.

A retenção proteica, tal como a retenção energética, são afectadas pelas dietas experimentais. De facto, para os peixes ingerindo as dietas contendo triticale pré-cozido, a retenção de proteína e energia, é idêntica à verificada para a testemunha. Pelo contrário, a inclusão de teores superiores a 20 % de triticale não tratado, tende para um decréscimo na eficiência de retenção da proteína, bem como para a retenção energética, sendo esse efeito mais claro para o resultado obtido no tratamento T30, o qual sofre uma redução significativa ($p < 0,05$).

Tabela 32. Composição corporal, índice hepatossomático e retenção energética e azotada, de trutas arco-íris alimentadas com as dietas usadas para o estudo do triticale *

	INICIAL	T	T10	T20	T30	CT20	CT30	
PEIXE INTEIRO								
Matéria seca (MS)	27,7	32,4	33,3	32,2	33,3	33,2	32,5	**NS**
Proteína (%MS)	55,3	54,3	52,6	53,4	52,1	53,2	52,4	**NS**
Gordura (%MS)	36,6	36,4	37,1	37,1	37,1	37,8	37,7	**NS**
Energia (kJ/gMS)	25,8	26,0	26,9	26,0	25,1	25,4	25,6	**NS**
IHS (%)[1]	1,33	$2,19^{a}$	$2,01^{a}$	$1,63^{b}$	$1,69^{b}$	$2,24^{b}$	$2,14^{a}$	
RP (% ingerida)[2]	----	$38,6^{A}$	$38,3^{A}$	$35,9^{A}$	$32,0^{B}$	$38,2^{A}$	$37,8^{A}$	
RE (%ingerida)[3]	----	$42,4^{A}$	$40,1^{A}$	$39,7^{A}$	$35,2^{B}$	$40,4^{A}$	$41,2^{A}$	

1. Indice hepatossomático; 2. Retenção proteica; 3. Retenção energética; * - Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são significativamente diferentes entre si (minúsculas $p < 0,01$; maiúsculas $p < 0,05$). NS - Diferenças estatisticamente não significativas ($p > 0,05$).

Tabela 32. Continuação

PEIXE EVISCERADO								
Matéria seca (MS)	23,1	30,3	29,8	30,1	29,9	31,6	31,7	**NS**
Proteína (%MS)	61,6	61,3	59,7	59,2	59,0	57,6	58,7	**NS**
Gordura (%MS)	29,8	29,1	31,3	32,9	31,5	33,5	32,8	**NS**
Energia (kJ/gMS)	24,6	25,1	25,5	25,7	24,0	24,9	25,1	**NS**
VÍSCERAS								
% peso vivo	11,3	12,6	12,0	12,3	11,6	12,6	12,3	**NS**
Matéria seca (MS)	48,7	46,6	46,7	46,9	49,8	44,5	43,6	**NS**

NS - Diferenças estatisticamente não significativas ($p > 0,05$).

1.3.3. Coeficientes de digestibilidade aparente (CUD) e balanços energético e azotado

Os coeficientes de utilização digestiva da metéria seca das dietas T20 e T30, são significativamente mais baixos que os das restantes dietas experimentais ($p < 0,01$), sendo idênticos ao valor observado para a ração comercial. Estas diferenças, reflectem-se com o mesmo grau de significância, na digestibilidade da energia das diversas dietas (tabela 33). Os coeficientes de utilização digestiva do amido, das dietas contendo triticale pré-cozido, são superiores a 90 %, e significativamente mais elevados que os observados para as dietas contendo triticale não cozido. Para além disso, verifica-se um decréscimo significativo (de 78 para 54 %), na digestibilidade do amido, com o incremento dos teores em triticale nas dietas. Não foram verificadas diferenças significativas na digestibilidade da proteína das diferentes dietas experimentais.

Baseados nos valores da ingestão, digestibilidade e composição corporal, os balanços energético e azotado são referidos na tabela 34. A diminuição da retenção energética, verificada com o aumento do teor em triticale não cozido na dieta, é acompanhada por uma menor eficiência da utilização da proteína para a síntese de proteína muscular, o que pode ser deduzido a partir da excreção de azoto endógeno mais elevada, verificada para o tratamento T30.

Tabela 33. Coeficientes de utilização digestiva aparentes das dietas usadas para o estudo do triticale *

	T	T10	T20	T30	CT20	CT30	C
	%						
Matéria seca	73,9[a]	72,3[a]	64,5[b]	62,7[b]	74,0[a]	73,5[a]	62,5
Proteína	85,7	86,3	84,4	84,8	87,7	89,2	85,8
Energia	85,1[a]	83,4[a]	77,1[b]	75,2[b]	85,2[a]	86,7[a]	79,2
Amido	94,3[a]	77,9[b]	58,2[c]	54,2[c]	90,9[a]	93,6[a]	----

* - Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,01$). Os valores indicados para a dieta comercial, não entraram para o tratamento estatístico, sendo apenas referidos para termo de comparação.

Tabela 34. Balanços energéticos e azotados das trutas alimentadas com as dietas usadas para o estudo do triticale

	T	T10	T20	T30	CT20	CT30
EB(kJ/gMSing.)	20,6	20,5	20,6	20,6	20,7	20,9
ED(kJ/gMSing.)	17,5	17,1	15,9	15,5	17,6	18,1
EM(kJ/gMSing.)	16,7	16,2	15,0	14,5	16,7	17,1
EN(kJ/gMSing.)	14,9	14,5	13,3	12,8	15,0	15,4
ER(kJ/gMSing.)	8,7	8,2	8,2	7,2	8,4	8,6
ER(%EDing.)	49,7	47,9	51,7	46,5	47,7	47,5
Ning.(mg/gMS)	68,3	68,2	67,8	68,5	68,2	68,6
ND "	58,6	58,8	57,3	58,1	59,8	61,2
NR "	26,4	26,1	24,4	20,6	26,0	26,0
NR (%NDing.)	45,0	44,4	42,5	35,5	43,6	42,4
NE(mg/gMSing)	32,2	32,7	32,9	37,4	33,8	35,3
NE (%Ning.)	47,1	48,0	48,5	54,7	49,5	51,3

EB = Energia bruta; ED = Energia digestível; EM = Energia metabolizável = ED - PENF; PENF = Perdas Energéticas Não Fecais; EN = Energia net = EM - IC; IC = Incremento de calor; ER = Energia retida; ND = Azoto digestível; NR = Azoto retido; NE = Excreção de azoto não fecal = ND - NR; PENF = NE x 25 kJ/g N (Elliott e Davidson, 1975); IC = ND x 28 kJ/g N (Cho et al., 1982).

1.3.4. Glucose e Ácidos aminados livres totais no plasma

Os níveis post-prandiais de glucose no plasma, apresentam variações ligeiras, dependendo do nível de incorporação e da qualidade do triticale incorporado (tabela 35). O nível de glucose de pré-alimentação, apenas é recuperado completamente 24 horas depois da refeição anterior, para as trutas alimentadas com a dieta contendo 10 % de triticale, e em certa medida também na dieta testemunha. Nas trutas alimentadas com níveis altos de triticale, com ou sem tratamento térmico, os teores de glucose do plasma são relativamente elevados 24 horas depois da refeição.

A concentração em ácidos aminados livres no plasma, aumenta em todos os grupos, situando-se o seu pico entre seis a nove horas após a refeição. No entanto, apenas nos peixes alimentados com as dietas contendo triticale pré-cozido (CT20 e CT30), há uma variação clara ao longo do ciclo diário de 24 horas, situando-se os seus valores nessa altura, próximo dos níveis iniciais em situação de pré-alimentação. Por outro lado, a amplitude das variações não é diferente entre os diversos grupos experimentais (tabela 36).

Tabela 35. Evolução da glucose plasmática em trutas arco-íris alimentadas com diferentes níveis de triticale em natureza ou sujeito a pré-cozedura (mg/100 ml). Valores médios mais erro padrão (n = 3); Zero horas corresponde às 9.oo horas; Controlo em jejum = 67,7+7,0 mg/100 ml

HORAS	T	T10	T20	T30	CT20	CT30
0	77,3±21,4	89,3±12,5	93,6±6,60	90,7±9,6	69,3±27,6	69,5±9,8
3	139,0±12,8	94,5±5,40	133,0±11,9	125,2±9,4	99,5±12,8	99,2±0,3
6	143,8±10,9	133,4±12,6	143,8±27,4	123,0±18,7	133,4±21,7	112,1±31,3
9	109,4± 5,1	138,9±20,1	133,9±25,1	140,4±18,9	169,9±12,1	160,6±10,5
12	162,4± 3,5	156,2±11,6	143,4±20,7	168,1±25,0	178,1±42,1	150,5±16,9
24	112,4±11,3	89,5± 5,1	160,0±18,9	154,6±25,0	169,8± 8,6	163,6± 8,9

Tabela 36. Evolução post-prandial do teor em ácidos aminados livres no plasma em trutas alimentadas com triticale em natureza ou pré-cozido (mM equiv/glicina). Valores médios com erro padrão (n=3); Zero horas corresponde às 9 horas.

HORAS	T	T10	T20	T30	CT20	CT30
0	1,24±0,3	2,35±0,7	2,38±1,1	1,99±0,7	1,32±0,5	1,32±0,2
3	2,88±0,6	2,63±0,5	3,30±0,1	3,82±0,5	4,03±1,1	3,73±1,0
6	5,43±0,7	4,27±0,6	5,04±0,2	5,65±1,1	5,19±0,5	5,37±1,5
9	4,16±0,5	4,73±1,1	7,85±0,8	3,14±0,7	5,03±2,0	2,99±0,9
12	3,78±0,7	4,19±0,5	3,99±1,5	3,61±0,1	4,10±1,7	3,92±1,6
24	3,98±0,2	4,61±0,8	3,79±0,1	4,77±1,1	1,71±0,1	1,87±0,5

1.4. Discussão

O valor nutritivo do triticale para os animais superiores, tem sido objecto de diversos trabalhos dedicados ao seu estudo (Bourdon e Perez, 1982; Perez e Bourdon, 1986). Uma das características mais interessantes deste cereal, visando a incorporação nas dietas dos animais terrestres, é o seu teor realtivamente alto em lisina (Davies, 1989). Nesta experiência, a proteína e a composição em ácidos aminados do triticale, têm um significado reduzido, porquanto a farinha de peixe representa a componente principal nestes nutrientes essenciais, em todas as dietas. Assim, conforme poderemos verificar a partir da tabela 30, em todas as dietas experimentais, os requisitos em ácidos aminados essenciais para a truta arco-íris são satisfeitos.

A incorporação de níveis até 30% de cereais nas dietas para truta arco-íris, não parece exercer nenhum efeito negativo no crescimento, desde que o cereal seja submetido a tratamento térmico prévio. De facto, a inclusão de 20 e 30 % de triticale em natureza, tende para exercer um efeito negativo no crescimento dos animais, o que está de acordo com os efeitos observados para a incorporação de amido cru nas dietas de salmonídeos (Edwards et al., 1977; Refstie e Austreng, 1981; Hilton et al., 1987). Por outro lado, para as dietas que continham triticale pré-cozido, o crescimento das trutas foi comparável ao da dieta testemunha, o que está de acordo com os resultados prévios de Bergot e Breque (1983), e Kaushik et al., (1989).

As variações obtidas para o índice hepatossomático, são comparáveis às verificadas por Refstie e Austreng (1981), em trutas arco-íris alimentadas com níveis elevados de glúcidos. Os tratamentos térmicos, aumentam a disponibilidade em energia digestível, o que provoca um aumento dos valores do índice hepatossomático,comparáveis aos observados para a testemunha contendo dextrina. Pelo contrário, a inclusão de triticale não tratado, diminui o teor em energia digestível, e consequentemente os valores do índice hepatossomático são afectados por estas variações na disponibilidade do amido. O peso das vísceras, parece não ser afectado na truta arco-íris, pelos níveis de amido na dieta (Bergot, 1979), mas os resultados observados neste trabalho são ligeiramente mais elevados do que os observados por este autor. As variações no teor em matéria seca das vísceras e dos peixes eviscerados, podem explicar as diferenças observadas nos teores em proteína e gordura, dos grupos contendo maiores teores em glúcidos digestíveis. O mesmo tipo de variação foi observado por Bergot (1979).

O decréscimo nos coeficientes de utilização digestiva da matéria seca, provocado pelo aumento da incorporação de triticale não cozido, corresponde a um aumento da quantidade de amido cru proveniente do cereal. É conhecido que a digestibilidade do amido não tratado, baixa com o aumento da sua incorporação nas dietas de trutas arco-íris (Singh e Nose, 1967; Rychly e Spannhof, 1979; Hilton et al., 1982; Spannhof e Plantikow, 1983). O efeito positivo da gelatinização do amido, foi claramente demonstrado pelos coeficientes de utilização

digestiva mais elevados (> 90 %), observados para as dietas contendo triticale pré-cozido, com valores semelhantes aos das dietas contendo dextrina. Os valores de energia digestível, são claramente melhorados pela cozedura do triticale.

A digestibilidade da proteína, é pouco afectada pelo teor em glúcidos das dietas (Refstie e Austreng, 1981), e este facto é também evidente nos resultados obtidos nesta experiência. A melhor eficiência de retenção da proteína observada nos peixes ingerindo triticale tratado, pode ser explicada por um decréscimo na excreção de azoto, em resposta a um aumento da energia não proteica da dieta (Kaushik e Oliva Teles, 1985). Esta melhoria, não pode ser explicada por um efeito depressivo na ingestão provocado pelas dietas com maior conteúdo em glúcidos digestíveis (Buddington e Hilton, 1987), uma vez que o nível de ingestão foi mantido constante em todos os tratamentos ao longo da experiência. Nenhuma evidência foi obtida para a provável existência de uma maior actividade de α-amilase, sugerida para o triticale por Falisse (1980).

Baseados nos resultados obtidos para os coeficientes de utilização digestiva das diferentes dietas, poderemos estimar que a digestibilidade da matéria seca do triticale em natureza e pré-cozido, será de cerca de 40 e 74 %, respectivamente, mas um trabalho mais específico sobre digestibilidade para confirmar estes valores, será exposto no capítulo V.

A evolução post-prandial da concentração de glucose

no plasma, está dependente do tipo e da quantidade de glúcidos presentes na dieta (Bergot, 1979; Kaushik e Oliva Teles, 1985). Estes estudos, mostraram que os peixes alimentados com dietas contendo amido cru, apresentavam geralmente um aumento mais lento da glicemia post-prandial, do que os peixes alimentados com glucose ou amido gelatinizado. Nesta experiência, se bem que o valor de base obtido nos peixes em jejum (68 mg glucose/100 ml), seja comparável ao observado por Kaushik e Oliva Teles (1985), a frequência da recolha de amostras, não terá sido suficiente para demonstrar as variações claras, observadas nos trabalhos dos autores citados. Uma das razões, poderá ser a de que a metodologia utilizada foi diferente da usada nos trabalhos referidos. No entanto, a manutenção mais prolongada de picos de glucose, é claramente observada nos peixes alimentados com as dietas contendo triticale pré-cozido, comparativamente aos outros ingerindo triticale em natureza.

O aumento dos níveis de ácidos aminados livres no plasma, depende em larga medida da qualidade e quantidade da proteína alimentar ingerida. No entanto, outros estudos demonstraram também que essa evolução post-prandial, pode ser afectada pela qualidade do amido da dieta. Kaushik e Oliva Teles (1985), verificaram um ritmo de aumento mais lento nos ácidos aminados livres, nos peixes alimentados com amido cru, em comparação com os outros ingerindo amido gelatinizado. Por outro lado, o aumento da glicemia, é conhecido como uma das causas que provoca uma diminuição dos ácidos aminados livres no plasma (Palmer e Ryman, 1972), e os nossos resultados mostram um

decréscimo nos valores dos peixes alimentados com os níveis mais altos de triticale pré-cozido na dieta. Verifica-se assim que a variação post-prandial dos ácidos aminados livres no plasma, é afectada pela qualidade do triticale incorporado na dieta. No entanto, um estudo mais cuidado da variação individual de cada um dos ácidos aminados, deverá ser efectuado.

Em conclusão, poderemos afirmar que o triticale se apresenta como um ingrediente muito promissor para incorporação nas dietas para truta arco-íris, em especial se for sujeito a um tratamento térmico prévio, de modo a incrementar o seu teor em energía digestível.

2.ESTUDO DA UTILIZAÇÃO DA "COLZAPRO" COMO UMA FONTE DE PROTEÍNA/ENERGIA NAS DIETAS PARA TRUTA ARCO-ÍRIS

2.1. Introdução

Tradicionalmente, a maioria dos estudos efectuados sobre a incorporação de proteínas vegetais em dietas para peixes, utilizaram a soja, integral ou o seu bagaço, e diveros autores confirmaram o seu potencial de utilização em dietas para salmonídeos, desde que convenientemente eliminados os factores anti-tripsínicos (Smith, 1977; Tacon et al., 1983). Kaushik (1989), apresenta resultados que demonstram o efeito benéfico da extrusão da soja integral na sua utilização digestiva pelos peixes, o que sugere a possibilidade de este tipo de tratamento se poder aplicar a outras fontes de proteína vegetal.

O teor elevado em glucosinolatos, tem constituído uma limitação séria à utilizaçäo da colza integral, ou do seu bagaço, nas dietas comerciais dos animais superiores (Bourdon, 1989). Por outro lado, as enormes quantiadades de colza produzidas em países como a França (2.500.000 toneladas em 1989), e o Canadá, têm motivado esforços sérios na procura de variedades alternativas com teores mais baixos em glucosinolatos (Higgs et al., 1983; Leclercq et al., 1989;). A incorporação de bagaços de colza melhorados entre 10 a 20 % nas dietas para porcos e aves, em alternativa à soja, se não coloca problemas de maior (Bourdon, 1989; Leclercq et al., 1989), tem ainda algumas limitações, como

por exemplo a sua incorporação em dietas para porcas reprodutoras (Peyronnet, 1989).

A controvérsia sobre a utilização da colza em dietas para peixes tem sido evidente, quer quanto ao seu valor nutritivo, quer ainda em relação aos seus efeitos nocivos sobre a histologia e metabolismo da tiróide. Para alguns autores, a utilizaçäo de 20 a 25 % de proteína de colza nas dietas de salmonídeos, não afecta o crescimento, nem a utilização digestiva das dietas, sendo os efeitos ao nível da tiróide passíveis de uma actividade hormonal compensatória (Yurkowski et al., 1978; Higgs et al., 1982;). Outros autores, referem um decréscimo na digestibilidade das dietas, para 20 % de incorporação de colza ((Hilton e Slinger, 1986; Leatherland et al., 1987), bem como alteraçöes histológicas ao nível da tiróide, que se mostram irreversíveis (Leatherland e Hilton, 1988). Por outro lado, Dabrowski e Kazlowska (1981), referem a possibilidade de substituição até 50 % da proteína da farinha de peixe por bagaço de colza, em dietas para carpas, enquanto mais recentemente Davies et al.(1990), limitam a incorporação deste ingrediente a 15 %, em dietas para tilápia. Hardy e Sullivan (1983), salientam o ganho económico que advém da utilização da colza.

Recentemente, a extrusão tem sido uma das formas de tratamento tecnológico sugeridas para valorizar directamente a colza integral, em especial se associada a outras matérias-primas como a ervilha que, para além de facilitar o processo em si possam provocar, pela sua associação, um efeito sinérgico nas

performances dos animais. Os primeiros resultados obtidos com "Colzapro", em dietas para frangos de engorda, são equivalentes aos obtidos por outros autores com bagaços de soja de boa qualidade (Melcion et al., 1988).

O objectivo desta experiência, foi o estudar a possibilidade de incorporação da mistura expandida ervilha x colza (*Brassica oleacea* + *Pisum sativum*), nas proporções de 60 e 40 %, respectivamente, como fonte de proteína em dietas para truta arco-íris, mas também como uma fonte de energia e ácidos gordos para estes animais, dado o teor relativamente elevado em gordura (cerca de 20%), da mistura final obtida.

2.2. Material e Métodos

Esta experiência foi realizada na íntegra, nas instalações experimentais do Laboratório de Nutrição de Peixes do INRA, St-Pée-Sur-Nivelle, França.

Foram formuladas cinco dietas experimentais, contendo níveis progressivos de "Colzapro". A dieta testemunha, foi formulada contendo farinha de peixe e bagaço de soja, como as únicas fontes de proteína. Nas três dietas seguintes, designadas por CP5, CP10 e CP15, respectivamente 5, 10 e 15 % da proteína da dieta testemunha, foram substituídos por proteína fornecida pela "Colzapro". Estas quatro dietas foram formuladas numa base isoproteica e isoenergética. Numa quinta dieta experimental, o

nível proteico da dieta foi reduzido e, pelo contrário, o teor em gordura aumentado, através do recurso à incorporação de um teor bastante elevado de "Colzapro", (dieta CPE). A composição química, bem como o perfil em ácidos aminados da "Colzapro", são indicadas na tabela 37, os ácidos gordos na tabela 38, estando a formulação e composição química das dietas experimentais expostas na tabela 39.

O ensaio de crescimento decorreu na piscicultura experimental de Donzacq, a uma temperatura constante de 18 ºC, e de acordo com o descrito na metodologia geral. Para o efeito foram constituídos dez lotes de 100 trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), com um peso médio inicial de 39,4 ± 0,6 g. Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia (9.00 h e 16.00 h, respectivamente), em regime *ad libitum*. A experiência de crescimento teve uma duração de 12 semanas, sendo os pesos de cada grupo registados todas as três semanas. De cada grupo no final do ensaio, bem como do lote inicial de peixes utilizado, foram retiradas amostras de 10 peixes para avaliação da composição corporal. O procedimento efectuado está descrito na metodologia geral.

A determinação da digestibilidade das dietas, foi efectuada nos peixes sobrantes utilizados para a experiência de crescimento, no circuito de digestibilidade de St-Pée/Nivelle, que serviu de modelo ao instalado na Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.

No final da experiência de crescimento, e para os lotes com peixes submetidos aos tratamentos CP0, CP15 e CPE, foram retiradas amostras de cinco peixes de cada. Após anestesia, procedeu-se à recolha do músculo da parte dorsal de cada um dos peixes. A amostra retirada era imediatamente colocada em azoto líquido, a seguir guardada em saco etiquetado, após o que foi transportada para o laboratório, onde foi conservada a - 80 ºC, para determinação posterior da sua composição em ácidos gordos.

Em mais cinco peixes de cada tanque a que eram fornecidas as dietas CP0, CP15 e CPE, foi recolhida a porção da carcaça situada na zona do maxilar inferior, a partir do local de implantação da barbatana peitoral. As amostras recolhidas foram de seguida colocadas em solução de Bouin durante 72 horas, após o que foram transferidas para frascos contendo álcool a 70º e conservadas para análise histológica posterior. Após serem retiradas do álcool, as amostras foram descalcificadas em ácido nítrico a 5 % durante 7 dias, de seguida incluídas em parafina, após o que foram efectuados cortes histológicos em micrómetro com espessura de 10 µm. A coloração das amostras para a sua observação ao microscópio óptico, foi efectuada pelo método da hematoxilina-hiosina.

Durante o período em que os peixes estiveram nos tanques de determinação da digestibilidade, procedeu-se à medida da excreção post-prandial de amónia, durante três ciclos em contínuo, de 24 horas cada. Para o efeito, a água de cada tanque, bem como a água de entrada no circuito, foi recolhida em contínuo

com o auxílio de uma bomba peristáltica Gilson de 8 canais, para frascos de 1 litro. O débito da bomba peristáltica, foi calculado de modo a obter uma amostra um pouco inferior a 1 litro em cada 24 horas. O caudal de água de entrada em cada tanque foi registado de 2 em 2 horas. Após cada ciclo de 24 horas, a água era imediatamente analisada para o seu teor em amónia. A excreção de amónia foi calculada segundo a metodologia indicada por Kaushik (1980).

Todas as determinações analíticas foram efectuadas conforme descrito na metodologia geral.

Tabela 37. Composição química e em ácidos aminados da "Colzapro"

Composição química		Ácidos aminados g/16gN	
Matéria seca (%)	90,3	Ác. aspártico	8,26
Proteína (Nx6,25) (%MS)	24,4	Ác. Glutâmico	16,21
Gordura bruta (%MS)	18,4	Histidina	1,64
Cinzas (%MS)	5,7	Serina	4,82
Energia (kJ/gMS)	23,54	Arginina	8,13
Glucosinolatos* (ug/g)	0,95	Glicina	5,39
Glucosinolatos (ug/g)	9,24	Treonina	4,10
		Alanina	4,28
		Tirosina	3,41
		Metionina	1,11
		Valina	4,27
		Fenilalanina	3,86
		Isoleucina	3,91
		Leucina	6,83
		Lisina	14,11

* - Sem adição de mirosinase

Tabela 38. Composição em ácidos gordos da "Colzapro" em comparação com a colza integral e o óleo de fígado de bacalhau

Ácido gordo	Óleo Fig.Bacal.	Colza	Colzapro
14=0	6,43	0,11	0,14
14=1	0,40	----	0,05
15=0	0,46	0,03	0,13
16=0	12,96	5,68	8,47
16=1	10,85	0,31	0,43
16=4	0,98	----	----
17=0	0,56	----	----
18=0	1,89	1,20	1,54
18=1	26,81	59,47	52,40
18=2w6	2,14	23,28	24,49
18=3w3	1,11	8,09	9,76
18=4w3	2,97	----	----
20=0	----	0,34	0,36
20=1	7,20	0,73	0,83
20=4w6	0,29	----	----
20=4w3	0,51	----	----
20=5W3	8,89	----	----
22=1	3,07	0,13	0,13
22=5W3	0,63	----	----
22=6W3	10,92	----	----
24=0	----	0,08	0,19
Total saturados	22,30	7,44	11,00
Total Monoinsat.	48,33	60,64	53,84
Total w6	3,67	23,28	24,49
Totalw3	25,03	8,09	9,76
W3/w6	6,82	0,35	0,40

Tabela 39. Composição alimentar e composição química das dietas usadas para o estudo da "Colzapro"

	CP0	CP5	CP10	CP15	CPE
			%		
Farinha de peixe	52,0	49,2	46,4	43,6	27,0
Bagaço de soja	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0
Amido gelatinizado	31,0	26,8	22,6	18,4	14,0
Colzapro	----	8,0	16,0	24,0	45,0
Oleo de peixe	5,0	4,0	3,0	2,0	2,0
Mist.Vitaminica	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Mist.Mineral	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Ligante	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Matéria seca (MS)(%)	90,4	90,1	90,7	90,5	90,3
Proteína (Nx6,25)(%MS)	41,7	42,1	41,7	41,2	34,2
Gordura bruta	9,9	10,4	11,2	11,0	14,3
Energia bruta (kJ/gMS)	20,1	20,1	19,8	19,5	21,4
Cinzas (%MS)	9,9	9,9	10,2	10,3	9,3
% Ác.gordos saturados	22,3	21,2	20,1	19,0	15,8
% Ác.gordos W3	25,0	23,5	22,1	20,6	15,4
% Ác.gordos W6	3,7	5,7	7,7	9,7	16,8
Relação W3/W6	6,8	4,1	2,9	2,1	0,9

2.3. Resultados

2.3.1. Composição química dos alimentos

O teor em glucosinolatos da colzapro, situa-se abaixo dos parâmetros estimados para as variedades "Primor00", mesmo após a adição de mirosinase. Relativamente ao balanço em ácidos aminados, será de realçar o teor bastante elevado em lisina, e também um pouco em metionina, o que não é habitual para este tipo de proteínas. O balanço em ácidos gordos da "Colzapro", é muito próximo do da colza integral, o que se justifica pelo teor normalmente muito baixo em gordura da ervilha (1 - 2 %). Por outro lado, o facto principal a observar, é a alteração substancial da relação W3/w6 entre o perfil em ácidos gordos das fontes de gordura vegetal, quando comparadas com o do óleo de fígado de bacalhau usado ao longo das diversas experiências realizadas.

2.3.2. Crescimento e eficiência de utilização dos alimentos

A substituição de 5, 10 e 15 % da proteína da dieta testemunha, pela de colzapro, não exerce qualquer efeito negativo no crescimento dos peixes, havendo mesmo uma tendência ligeira, mas não significativa, para o seu aumento, no sentido directo do aumento da incorporação de colzapro na dieta (Tabela 40, figura 9). A taxa de crescimento específico, é mesmo significativamente

mais alta para a dieta CP15, comparativamente ao resultado obtido com a dieta testemunha ($p < 0,01$). O mesmo tipo de tendência, e relação de significância, é observado para o índice de conversão alimentar, bem como para o coeficiente de eficácia proteica. Por outro lado, as trutas alimentadas com a dieta contendo 45 % de colzapro, sofrem uma redução significativa no crescimento, bem como na taxa de crescimento específico e índice de conversão alimentar, quando comparadas com as de todos os tratamentos restantes. No entanto, o coeficiente de eficácia proteica observado para o tratamento CPE, é significamente mais elevado que o observado para a dieta testemunha ($p < 0,01$). Não são verificadas diferenças significativas na ingestão voluntária, entre os diversos grupos experimentais ($P > 0,05$).

2.3.3. Coeficientes de utilização digestiva das dietas usadas para o estudo da "Colzapro"

Os coeficientes de utilização digestiva da matéria seca são idênticos, da dieta testemunha, relativamente às outras três contendo de 5 a 15 % de proteína de colzapro (tabela 41). Pelo contrário, um decréscimo significativo ($p < 0,01$), é observado para a digestibilidade da dieta CPE. A mesma relação de valores obtidos, é verificada para para a digestibilidade da energia. Os resultados obtidos para os coeficientes de utilização digestiva da proteína e da gordura, não apresentam diferenças significativas entre si ($P > 0,05$).

Tabela 40. Crescimento e eficiência de utilização alimentar das dietas usadas para o estudo da "Colzapro"* 18 ºC; *ad libitum*; 12 semanas.

	CP0	CP5	CP10	CP15	CPE
Peso inicial (g)	40,0	39,0	40,0	39,5	38,5
Pseso final (g)	147,9	151,9	156,9	161,9	135,2
Ganho de peso (g)	107,9^{a}	112,9^{a}	116,9^{a}	122,4^{a}	86,9^{b}
IC[1]	1,13^{a}	1,04^{a}	1,09^{a}	1,04^{a}	1,20^{b}
TCE[2]	1,72^{a}	1,79^{ab}	1,80^{ab}	1,86^{b}	1,66^{c}
CEP[3]	2,06^{a}	2,24^{ba}	2,19^{ba}	2,14^{ba}	2,34^{b}
IV (%PI)[4]	3,11	3,18	3,33	3,33	4,46

* - Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($P < 0,01$). 1. Índice de conversão alimentar; 2. Taxa de crescimento específico; 3. Coeficiente de eficácia proteica; 4. Ingestão voluntária.

Figura 9. Evolução do peso médio das trutas usadas para o estudo da colzapro (12 semanas; 18 ºC; *ad libitum*)

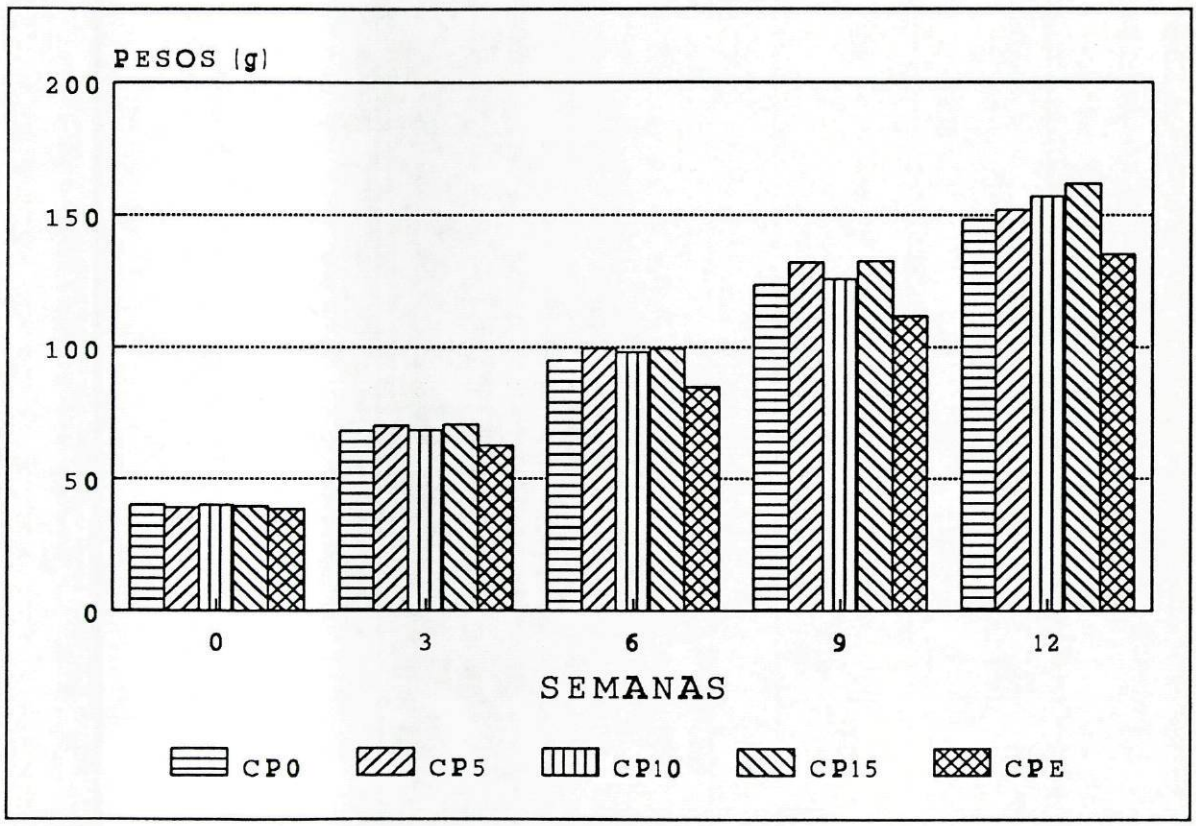


Tabela 41. Coeficientes de utilização digestiva das dietas usadas para o estudo da "Colzapro"*

	CP0	CP5	CP10	CP15	CPE
	%				
Matéria seca	79,4[a]	76,5[a]	77,3[a]	77,5[a]	71,2[b]
Proteína	90,3	89,6	90,4	91,2	90,2
Energia	86,3[a]	85,1[a]	84,7[a]	84,0[a]	79,9[b]
Gordura	98,2	----	----	97,0	96,0

* - Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,01$).

2.3.4. Composição corporal e índice hepatossomático

A composição em proteína, dos peixes alimentados com a dieta mais rica em lípidos (CPE), tende a apresentar valores siginicativamente mais baixos que os restantes tratamentos, em especial para os outros contendo quantidades inferiores de colzapro (CP5, CP10 e CP15), ($p < 0,05$). Por outro lado, o teor em gordura nas carcaças, é significativamente mais alto nos peixes alimentados com as dietas CP15 e CPE, relativamente às três restantes ($p < 0,01$), com valores idênticos entre si (tabela 42).

Os teores em humidade, energia e cinzas, de todos os tratamentos experimentais, não apresentam diferenças significativas entre si ($p > 0,05$). O mesmo acontece para os valores do índice hepatossomático, em que existe apenas uma ligeira tendência para uma descida dos valores, com o aumento do teor de incorporação de colzapro na dieta.

A variação da composição de todos os lotes, relativamente à composição inicial, está de acordo com o que é habitualmente observado para esta fase do crescimento. Assim, o aumento do teor em matéria seca, associado ao que se verifica para o teor em gordura, é acompanhado por um decréscimo da proteína da carcaça.

Tabela 42. Composição corporal e índice hepatossomático de trutas arco-íris alimentadas com as dietas usadas para o estudo da "Colzapro"*

	INICIAL	CP0	CP5	CP10	CP15	CPE	
Matéria seca (%)	23,42	28,57	28,25	28,08	28,15	28,77	**NS**
Proteína (Nx6,25) (%MS)	69,08	$57,25^{B}$	$57,96^{A}$	$58,72^{A}$	$59,43^{A}$	$55,46^{B}$	
Gordura bruta (%MS)	26,50	$30,55^{a}$	$30,66^{a}$	$30,74^{a}$	$33,94^{b}$	$34,21^{b}$	
Energia bruta (kJ/gMS)	22,20	25,07	25,31	25,88	26,36	26,26	**NS**
Cinzas (%MS)	11,02	10,03	10,04	10,00	9,98	10,23	**NS**
IHS[1]	-----	2,38	2,40	2,07	2,04	1,98	**NS**

* - Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si (minúsculas $P < 0,01$; maiúsculas $p < 0,05$). NS - Diferenças estatisticamente não significativas ($p > 0,05$). 1. IHS - Indice hepatossomático.

2.3.5. Balanços energéticos e azotados e excreção de amónia

Os balanços energético e azotado das diversas dietas experimentais, estimados através dos valores de digestibiliade e da composição corporal, bem como a sua comparação com os balanços para três das dietas experimentais, calculados a partir dos valores obtidos pela medida directa da excreção azotada, são indicados nas tabelas 43 e 44, respectivamente.

O teor em energia metabolizável, apresenta uma tendência para um abaixamento progressivo da dieta testemunha (16,4 kJ/gMS), para a dieta CP15 (15,5 kJ/gMS). No entanto, esta quebra não se verifica para a dieta CPE, em que o valor obtido é igual ao da dieta testemunha. Uma variação semelhante é observada para os valores da energia net, que de 14,7 kJ/gMS na dieta testemunha, passam para 13,8 kJ/gMS na dieta CP15. A recuperação para a dieta CPE, é ainda mais evidente do que para a energia metabolizável, sendo agora o valor de energia net ligeiramente superior ao da dieta testemunha (15,0 kJ/gMS).

A retenção energética, expressa em percentagem da energia total ou da energia digestível ingerida, aumenta da dieta testemunha para a dieta CP15, diminuindo novamente e na a mesma ordem de grandeza, no tratamento CPE. De referir que, se expressa em percentagem da energia total ingerida, a retenção obtida para a dieta CPE (32,4 %), é inferior à da dieta testemunha (33,3 %),

enquanto que se expressa em relação à energia digestível, a dieta CPE (40,8 %), apresenta um valor de retenção superior ao da testemunha (38,1 %).

A retenção azotada das carcaças, aumenta progressivamente da dieta testemunha (33,7%), para a dieta CPE (37,1 %), o mesmo se verificando para os valores expressos em percentagem do azoto digestível ingerido (de 37,4 para 41,0 %, respectivamente). Em sentido contrário ao da retenção azotada, a excreção de azoto não fecal baixa de 56,5 % na dieta testemunha, para 53,0 % na dieta CPE.

Os valores de energia metabolizável e energia net, calculados a partir da medida directa da excerção azotada, se são ligeiramente superiores na dieta testemunha, relativamente aos obtidos por estimativa indirecta, são iguais para o nível de incorporação mais alto de colzapro na dieta (CPE).

Ao contrário do que acontece para o balanço estimado por análise de carcaças, ao aumento da retenção azotada da dieta testemunha para a dieta CPE, corresponde igualmente um aumento da excreção de amónia, relativamente ao azoto total ingerido (de 32,7 % na dieta testemunha, para 47,8 % na dieta CPE, respectivamente).

Tabela 43. Balanços energético e azotado dos peixes alimentados com diferentes níveis de "Colzapro", estimados por análise de carcaças

	CP0	CP5	CP10	CP15	CPE
EB ingerida (kJ/gMS)	20,1	20,1	19,8	19,5	21,4
ED ingerida (kJ/gMS)	17,3	17,1	16,8	16,4	17,1
EM ingerida (Kj/gMS)	16,4	16,2	15,9	15,5	16,4
EN ingerida (kJ/gMS)	14,7	14,5	14,2	13,8	15,0
ER (kJ/gMS ingerida)	6,7	6,8	7,4	7,2	6,9
ER (% EB ingerida)	33,3	33,8	37,5	36,8	32,4
ER (% ED ingerida)	38,1	39,7	44,2	43,8	40,8
N ingerido (mg/gMS)	66,7	67,4	66,7	65,9	54,7
ND ingerido (mg/gMS)	60,2	60,4	60,3	60,1	49,3
NR (mg/g MS ingerida)	22,5	23,7	24,7	24,5	20,3
NR (% N ingerido)	33,7	35,1	37,0	37,1	37,1
NR (% ND ingerido)	37,4	39,2	41,0	40,6	41,0
NE (mg/gMS ingerida)	37,7	36,7	35,6	35,6	29,0
NE (% N ingerido)	56,5	54,5	53,4	54,0	53,0

EB = Energia bruta; ED = Energia digestível; EM = Energia metabolizável = ED - PENF; PENF = Perdas Energéticas Não Fecais; EN = Energia net = EM - IC; IC = Incremento de calor; ER = Energia retida; ND = azoto digestível; NE = Excreção de azoto não fecal = ND - NR; PENF = NE x 25 kJ/gN (Elliott e Davidson, 1975); IC = ND x 28 kJ/gN (Cho et al., 1982).

Tabela 44. Excreção azotada de trutas alimentadas com diferentes níveis de "colzapro". Efeito nos valores de energia metebolizável e energia net

	CP0	CP15	CPE
N-NH4 excretado (%NI)	32,7	41,2	47,8
NE excretado (NI)*	38,5	48,5	56,2
NE (mg/gMS ingerida)	25,7	32,0	30,7
EM ingerida (kJ/gMS)	16,7	15,6	16,4
EN ingerida (kJ/gMS)	15,0	13,9	15,0

* - Calculado a partir do valor de excreção de amónia, que representa 85% da excreção total (Kaushik, 1980, 1990);

2.3.6. Composição em ácidos gordos do músculo

Os efeitos da ingestão das dietas CP0, CP15 e CPE, na composição em ácidos gordos do músculo de trutas arco-íris, são indicados na tabela 45. A percentagem de ácidos gordos saturados, decresce claramente do tratamento testemunha (39,07 %), para o CPE (26,01), com um valor intermédio para o CP15 (30,46), (figura 10). A correlação negativa estimada para o teor em colzapro na dieta e a percentagem de ácidos gordos saturados no musculo é significativa ($p < 0,05$). O ácido gordo que é quantitativamente mais importante neste grupo, é o ácido palmítico.

A quantidade de ácidos gordos monoinsaturados presente nos lípidos totais do musculo, em que mais de metade é constituída por ácido oleico, apresenta uma ligeira tendência para aumentar do tratamento testemunha para os restantes, se bem que os valores obtidos para as dietas CP15 e CPE sejam praticamente idênticos, ou seja, com tendência para estabilizar com o aumento de colzapro.

Os ácidos gordos da série w6 sofrem um aumento claro da dieta CP0 (4,18 %), para as dietas CP15 (10,43 %) e CPE (13,41), reflexo da composição em ácidos gordos da colzapro.

Do mesmo modo, mas em sentido oposto, os ácidos gordos da série W3 variam com o teor em colzapro na dieta, do valor mais

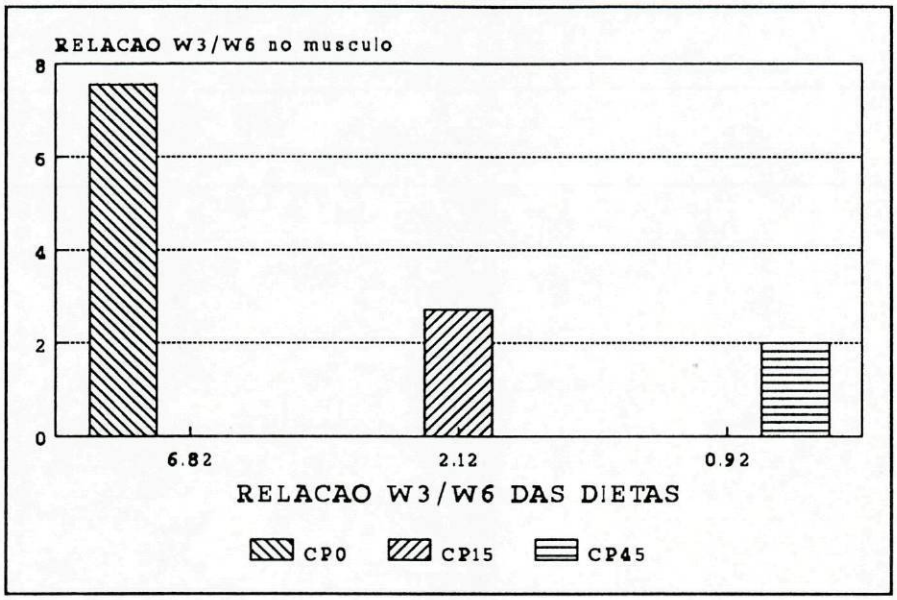
alto da CP0 (31,59 %), para o mais baixo na dieta CPE (27,03). No entanto, esta variação é menos pronunciada do que a verificada para os ácidos gordos da série W6.

Em relação directa com as variações observadas para os teores em ácidos gordos das séries W3 e W6, a relação W3/W6, sofre um decréscimo pronunciado da dieta CP0 (7,56 %), para as dietas CP15 (2,72 %), e CPE (2,0 %), (figura 11). Este efeito, que é já bastante pronunciado para a dieta com 15 % de colzapro parece apresentar alguma tendência para estabilizar.

2.3.7. Histologia da tiróide

Pese embora a observação pontual e dispersa de células de tiróide em vários dos cortes histológicos, não foi possível de establecer qualquer critério para a sua avaliação qualitativa ou quantitativa, bem como a sua comparação entre tratamentos. Não foi assim possível avaliar por este método, qualquer diferença significativa entre os diversos tratamentos experimentais.

Figuras 10 e 11. Efeito da composição das dietas no perfil em ácidos gordos do músculo da truta arco-íris



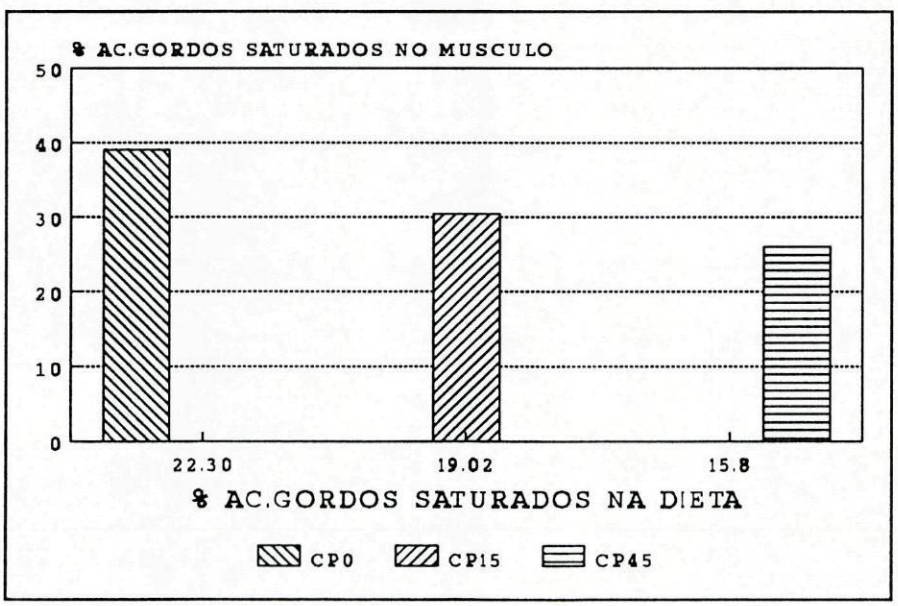


Tabela 45. Composição em ácidos gordos dos lípidos totais do músculo de trutas arco-íris alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de "Colzapro"

	CP0	CP15	CPE
12=0	2,09	1,05	0,98
14=0	5,92	3,30	2,44
15=0	0,41	0,26	0,19
16=0	26,11	21,85	18,82
17=0	0,40	0,24	0,19
18=0	3,90	3,70	3,34
20=0	----	----	0,05
12=1	0,90	0,42	0,41
14=1	----	0,07	0,05
16=1	7,92	5,22	3,59
18=1	16,22	23,29	26,78
20=1	1,87	1,28	1,25
22=1	1,14	0,42	0,40
16PUFA	0,85	0,54	0,41
18=2W6	2,64	7,45	10,87
18=3W6	----	0,20	0,32
20=2W6	----	0,37	0,42
20=3W6	----	0,33	0,48
20=4W6	0,70	0,82	0,82
22=4W9	----	0,08	0,08
18=3W3	0,67	2,61	3,77
18=4W3	1,15	0,79	3,77
20=3W3	----	0,06	0,14
20=4W3	0,33	0,49	0,46
20=5W3	9,34	3,79	3,58
22=4W3	0,15	0,27	0,19
22=5W3	1,18	0,91	0,77
22=6W3	18,84	19,26	17,05
Saturados	39,07	30,46	26,01
Monoins.	29,67	32,72	32,92
PUFA W6	4,18	10,43	13,51
PUFA W3	31,59	28,34	27,03
W3/W6	7,56	2,72	2,00

2.4. DISCUSSÃO

O teor elevado em glucosinolatos, tem constituído o factor principal de limitação da incorporação da colza, quer nas dietas dos animais superiores, quer ainda nas dietas destinadas aos peixes. A aplicação de tratamentos térmicos pode reduzir a actividade da mirosinase, diminuíndo assim a formação de isocianetos alifáticos e de goitrina, durante o processo digestivo (Yurkowski et al., 1978). Por outro lado, a descorticagem prévia da colza pode conduzir a um aumento do teor em energia digestível, motivado pelo decréscimo do teor em fibra (Yurkowski et al., 1978; Bourdon e Baudet, 1983; Peyronnet, 1989).

As variedades canadianas de primavera, têm levado alguma vantagem sobre as cultivares europeias de verão, relativamente ao teor em glucosinolatos. As cultivares de primavera produzidas na Europa, principalmente na Dinamarca e Alemanha, se bem que apresentem também teores muito baixos em glucosinolatos, revelam no entanto, problemas sérios de resistência às doenças e de capacidade de produção agronómica. No entanto, não parecem ser as diferenças verificadas para o nível de factores anti-nutricionais das cultivares, a razão principal para a diversidade de resultados verificada na utilização da colza em peixes, uma vez que a maioria dos estudos efectuados nesta espécie, tem sido realizada no continente americano (Yurkowski et al., 1978; Higgs et al., 1982; Higgs et al., 1983; Hilton e Slinger, 1986; Leatherland et al., 1987;

Leatherland e Hilton, 1988).

Os resultados obtidos para o crescimento das trutas alimentadas com as dietas experimentais, para além de confirmarem o potencial de utilização da colza em dietas para peixes, demonstram a importância do tipo de tratamento térmico efectuado. A extrusão será assim uma forma directa de valorização da colza inteira (Melcion et al., 1988), uma vez que o teor em glucosinolatos, mesmo com a adição de mirosinase, é inferior ao observado para as variedades melhoradas (Bourdon e Baudet, 1983; Melcion et al., 1988; Leclercq et al., 1989). Deste facto, parece resultar uma *melhoria evidente das performances de crescimento,* bastante superiores às observadas por Abdou et al.(1990), para os grãos de colza integral, e confirmando os estudos que referem a possibilidade de utilização de mais de 20 % de proteína de bagaço de colza em dietas para salmonídeos, sem efeitos negativos no crescimento (Yurkowski et al., 1978; Higgs et al., 1982; Hardy e Sullivan, 1983; Abdou et al., 1990).

O efeito positivo da associação de outras matérias-primas, que possibiltem a melhoria das condições do processo de extrusão (Cheftel, 1986), é outra das hipóteses reforçadas, uma vez que possibilita a aplicação do processo a um ingrediente com um teor muito elevado em gordura (> 40 %), podendo assim falar-se da existência de um efeito sinérgico resultante da associação da ervilha com a colza integral (Melcion et al., 1988).

Os coeficientes de utilização digestiva observados,

estão dentro dos admitidos para uma proteína de boa qualidade em dietas para peixes (Cho et al., 1985), com a digestibilidade da matéria seca a situar-se em valores sempre superiores a 70 %. Estes valores são mais elevados do que os verificados por Hilton e Slinger (1986), Abdou et al. (1990), sendo as diferenças na digestibilidade da energia mais acentuadas (10-12 %), que as verificadas para a proteína (4-5 %). A variação na digestibilidade da energia é também mais acentuada nos nossos resultados, comparativamente aos valores da proteína, que são bastante mais constantes. Este facto não resulta certamente dos coeficientes de utilização digestiva da gordura, os quais, conforme é habitual nos peixes, apresentam valores muito elevados e relativamente estáveis (Watanabe, 1977; Austreng, 1979; Zamora, 1985; Cho, 1986).

O decréscimo verificado no teor em proteína das carcaças dos peixes alimentados com a dieta CPE, relativamente a todos os restantes, significa que o nível de proteína utilizado (34 %), se terá situado abaixo dos requisitos mínimos do crescimento potencial dos peixes. Este valor é controverso e contrasta nomeadamente com o valor de 30 % referido por Luquet (1971), bem como com os resultados verificados por Oliva Teles (1988), que refere um valor de 28 % de proteína digestível, para a satisfação dos requisitos proteicos para o crescimento de trutas arco-íris entre os 4 e os 200 g. A razão proteína digestível/energia digestível de 18,0 mg/kJ, da dieta CPE, é mesmo superior à indicada por este autor, não parecendo ser assim esta a razão para o efeito negativo verificado no crescimento.

Por outro lado, o elevado coeficiente de eficácia proteica obtido para o tratamento CPE, bem como a digestibilidade da proteína, restringe a hipótese de se tratar de um balanço pouco adequado em ácidos aminados. A razão mais provável será a de que, para o nível proteico utilizado o teor em gordura deveria ter sido um pouco mais elevado, de modo a ser possível obter crescimentos idênticos aos verificados com a testemunha. Esta hipótese é suportada pelos trabalhos de Takeuchi et al., (1978), e Takeuchi et al., (1981), que referem valores idênticos para o crescimento de trutas alimentadas com dietas contendo 35 % de proteínas e 18 % de lípidos, relativamente a uma dieta testemunha com 43 a 47 % de proteínas e 13 % de lípidos. Estes autores, testando diferentes combinações proteína/lípidos, obtiveram os melhores resultados para 35% de proteína, desde que as dietas incluíssem entre 15 e 20 % de lípidos. Verifica-se assim que a utilização óptima da proteína da dieta, pode não ser suficiente para o óptimo de crescimento nos peixes, o qual pode ser significativamente inferior ao obtido com dietas que apresentem uma utilização menos eficiente da proteína (Kaushik e Luquet, 1983).

O teor em proteína das carcaças, pode assim ser afectado directamente pelo nível proteico das dietas, o que contraria os resultados de Reinitz (1983), confirmando por outro lado, os obtidos por Oliva Teles (1988). Este facto, associado ao aumento ligeiro do teor em gordura das carcaças, devido ao seu aumento na dieta demonstram que, não só a proteína da dieta se terá situado abaixo do necessário, como se poderia ter ido mais

longe no nível de lípidos da dieta CPE. Esta conclusão, é reforçada pelo facto de não haver qualquer efeito significativo ao nível do índice hepatossomático, devido à existência de um possível excesso de energia proveniente dos lípidos. Fica também mais uma vez a ideia de que os salmonídeos utilizam de modo mais eficaz os lípidos como fonte energética, do que os glúcidos digestíveis, os quais provocam um aumento significativo do índice hepatossomático (Bergot, 1979; Hilton et al., 1981; Bergot e Breque, 1983).

O aumento verificado para a retenção azotada, com o aumento em colzapro na dieta, confirma a boa qualidade da proteína de "colzapro" utilizada, bem como o facto de que os teores de proteína utilizados da ordem de 40 a 42 %, não serão demasiado elevados, sendo a retenção azotada idêntica à da dieta com o teor proteico mais baixo (CPE). Estes resultados, confirmam a versão recente de Cho et al. (1990), que referem o nível de cerca de 38 % de proteína digestível como o ideal para o crescimento do peixe, e manutenção da excreção azotada em teores aceitáveis. De realçar igualmente as diferenças observadas entre as estimativas da excreção azotada, por balanço de carcaças, e por medida directa. Este tipo de diferença já havia sido observado por Oliva Teles (1988), e a sua explicação está relacionada com as diferenças de metodologia utilizadas (Knights, 1985). No entanto, analisando os resultados obtidos pela medida da excreção directa, verifica-se que a um aumento da retenção azotada, corresponde também um aumento da excreção de amónia. Este facto é importante, e demonstra que a excreção de azoto não

poderá ser um critério único da análise da qualidade de uma proteína (Kaushik e Cowey, 1990).

Relativamente à retenção energética, o que se verifica é que ao maior teor de incorporação de colzapro, corresponde a retenção mais baixa, o que poderá ser explicado pelo aumento do teor em fibra e a consequente diminuição da energia digestível (Peyronnet, 1989). Esta hipótese, é reforçada pelo aumento proporcional que se verifica se a retenção for expressa em relação à energia digestível ingerida, que se verifica uma vez mais ser a forma mais correcta de expressar este tipo de resultados, de forma a poder avaliar correctamente os requisitos energéticos para a produção de truta arco-íris (Kim, 1989).

A estimativa do incremento de calor das dietas, que representa os gastos de energia associados à ingestão dos alimentos, decresce para o tratamento com o teor proteico mais baixo (CPE), o que está de acordo com Cho et al. (1982), sendo os valores observados (de 6,5 a 9%), da mesma ordem de grandeza dos obtidos por Oliva Teles (1988).

A composição em ácidos gordos do músculo, é um reflexo directo do balanço em ácidos gordos de cada uma das fontes de lípidos utilizadas, óleo de fígado de bacalhau e colzapro (tabela 38), facto este que está de acordo com o que normalmente é referido nos diversos estudos efectuados (Yu et al., 1977; Reinitz e Yu, 1981; Watanabe, 1982;). Os ácidos palmítico (16=0), e o ácido oleico (18=1), são, quantitativamente e em sentido

inverso, os afectados de forma mais evidente pela variação da composição da dieta, o que está de acordo com o facto de estes dois ácidos gordos representarem uma precentagem elevada, do total de ácidos gordos saturados e monoenóicos dos lípidos totais do músculo (Kim, 1989).

A variação da relação W3/W6, é influenciada de forma mais directa pelo aumento do teor em ácidos gordos da série w6 no músculo, do que por uma redução dos ácidos gordos da série W3. Este facto, poderá advir da contribuição, quer dos ácidos gordos da farinha de peixe, quer ainda do óleo de peixe utilizado, que foram suficientes para satisfazer os requisitos em ácidos gordos da série W3 para a truta arco-íris (Kanazawa, 1985).

Outro facto interessante a observar, é o de que sendo o óleo de colza praticamente isento na sua composição para o ácido 22=6W3 (tabela, 38), ao contrário do que acontece com o óleo de peixe, a composição em ácidos gordos do músculo apresenta, no entanto, teores relativamente homogéneos para este componente. Este facto, poderá ser explicado pela capacidade de elongação dos ácidos gordos, pelos peixes de água doce, de que é exemplo a conversão do ácido 18=3W3, no ácido 22=6W3 (Owen et al., 1975; Takeuchi e Watanabe, 1977; Yamada et al., 1980;). Por outro lado, o balanço em ácidos gordos da série W6, não difere muito das matérias-primas para o músculo, o que está de acordo com a actividade muito discreta referida para este tipo de compostos nos peixes (Cowey e Sargent, 1972).

Finalmente, de referir que a tentativa efctuada para a associação de um possível efeito da incorporação de colzapro, com alterações a nível da histologia da tiróide, não permitiu a obtenção de qualquer resultado que pudesse ser passível de uma interpretação qualitativa, ou quantitativa. Este facto, poderá ser explicado pelo teor significativamente baixo em glucosinolatos verificado para a matéria-prima obtida após a extrusão (9,24 ug/g), quando comparado com os referidos noutros estudos (Hardy e Sullivan, 1983, 300 ug/g; Hilton e Slinger, 1986, 158 ug/g; Bourdon, 1989, 36 ug/g), ou pela maior resistência da truta arco-íris à ingestão de glucosinolatos (Leatherland et al., 1987). Por outro lado, deve também ser feita uma reflexão cuidada sobre a utilização deste critério e da sua metodologia, para a medida dos efeitos dos glucosinolatos sobre o metabolismo da tiróide. De facto, em nenhum dos estudos que utilizam o critério histológico, é indicada a quantificação das alterações observadas (Higgs et al., 1982, 1983; Hilton e Slinger, 1986; Leatherland et al., 1987; Leatherland e Hilton, 1988;), havendo mesmo estudos que especulam sobre as alterações verificadas, sem indicarem um único valor, qualitativo ou quantitativo, ou mesmo uma fotografia (Davies et al., 1990). Este facto, reforça a credibilidade do estudo do metabolismo da tiróide através das hormonas tiroxina (T4), e Tri-iodo-tironina (T3), (Hardy e Sullivan, 1983; Higgs et al., 1982, 1983), bem como a hipótese de Yurkowski et al. (1978), de que o critério histológico não é fiável e não deverá ser utilizado.

CAPÍTULO IV - ESTUDO DO EFEITO DA SUBSTITUIÇÃO DO ZINCO INORGÂNICO DA DIETA POR ZINCO/METIONINA NA UTILIZAÇÃO DE PROTEÍNAS ANIMAIS E VEGETAIS NA ALIMENTAÇÃO DA TRUTA ARCO-ÍRIS.

1. Introdução

Na sua alimentação no meio natural, os salmonídeos utilizam fundamentalmente ingredientes de origem animal, constituídos geralmente por presas vivas contendo altos teores em proteína, alimentação típica de um peixe carnívoro, como é o caso da truta arco-íris. Um tracto gastro-intestinal muito curto, e uma capacidade de adaptação digestiva substancialmente inferior à dos omnívoros ou herbívoros, necessitando por isso de ingredientes que possam sofrer uma degradação rápida até à forma de absorção, são características básicas de um peixe carnívoro, que se mostra pouco adaptado à utilização de matérias-primas de origem vegetal na sua dieta (Buddington e Hilton, 1987).

Foi já referido neste trabalho, que as proteínas vegetais contêm muitas vezes factores anti-nutricionais, como por exemplo os fitatos, os quais podem formar complexos insolúveis, quer com proteínas, quer com alguns elementos minerais, originando assim a sua deficiência no organismo.

Uma das restrições que é referida com mais frequência à utilização de proteínas vegetais em dietas para monogátricos, é a de que o seu teor normalmente elevado em ácido fítico,

diminui a disponibilidade de alguns dos minerais da dieta, nomeadamente do cálcio, zinco e magnésio (Davies e Olpin, 1979; Davies e Reid, 1979; Morris e Ellis, 1980; Knox et al., 1984; Richardson et al., 1985; Nolan e Duffin, 1987; Duhan et al., 1989; Sauver, 1989). O zinco, constituinte importante de algumas metaloenzimas, tem sido o microelemento sobre o qual têm incidido grande parte dos estudos realizados em peixes, sendo habitualmente encontrada uma relação estreita entre a sua deficiência e o aparecimento de efeitos depressivos no crescimento, bem como anormalidades ao nível dos olhos e do esqueleto (Ketola, 1979; Satoh et al., 1983; Richardson et al., 1985; Richardson et al., 1986; Hilton, 1989).

Se é geralmente aceite que para valores de zinco disponível na dieta abaixo dos requisitos estimados, 20 mg/kg MS para o peixe gato (Gatlin e Wilson, 1983), 15 a 30 ppm para a truta arco-íris (Ogino e Yang, 1978), os sintomas de carência são evidentes, existe no entanto alguma diversidade de hipóteses quando à forma como essa carência pode ser provocada. Alguns autores, referem que o teor em ácido fítico normalmente presente em quantidades elevadas nas proteínas vegetais, é ele próprio responsável pela indisponibilidade do zinco (Davies e Olpin, 1979; Richardson et al., 1985; Nolan e Duffin, 1987). Por outro lado, Spinelli et al. (1983), referem que o ácido fítico reduz o crescimento em truta arco-íris, mais pela inibição da utilização das proteínas, do que pela diminuição da absorção do zinco. Outro factor ainda mais controverso, é a interferência dos teores em cálcio e fósforo da dieta. Ketola (1979), refere que

os sintomas provocados pela deficiência em zinco em salmão, aumentam com a incorporação de um corrector mineral baseado em cálcio e fósforo, hipótese reforçada por Hardy e Shearer (1985), que referem que o aumento de cálcio e fósforo da dieta, reduz a viabilidade do zinco. No entanto, Richardson et al. (1985), referem que teores elevados em cálcio e fósforo, não são suficientes, per si, para induzir o aparecimento de cataratas em salmão "chinnook".

Outro factor importante que tem sido realçado nos últimos anos, é o de que a disponibilidade do zinco das farinhas de peixe e muito variável, estando inversamente relacionada com o teor em cinzas da dieta, o que torna obrigatório a sua suplementação neste nutriente (Watanabe et al., 1980; Satoh et al., 1983; Satoh et al., 1987 a,b, Watanabe et al., 1988).

Por outo lado, o estudo da nutrição mineral em peixes, é dificultado pelo meio natural em que estes vivem, a água, que para além de ser muitas vezes fornecedor directo de alguns minerais através da sua mistura com o alimento, pode ainda permitir uma absorção directa através das guelras. No entanto, este facto não terá para o zinco, a importância que terá por exemplo para o caso do cálcio (NRC, 1981). Para além disso, o aparecimento de sintomas de carência é extremamente longo, não possibilitando muitas vezes que eles sejam visíveis em experiências clássicas de crescimento, com uma duração média situada entre 6 a 12 semanas.

Nesse sentido, e de forma a testar o efeito possível de carências de ordem mineral, nas performances obtidas por peixes submetidos a regimes com utilização exclusiva de proteína animal, ou vegetal, foi efectuada uma experiência de duração mais longa, em que os níveis de zinco, cálcio e magnésio, do plasma, vísceras e carcaça, foram determinados ao longo de 21 semanas, de modo a detectar possíveis alterações aos seus valores habituais. Para além disso, foi igualmente testada uma nova forma de incorporação de zinco à dieta, através da sua associação com um dos ácidos aminados cuja deficiência lhe aparece normalmente associada, a metionina.

2. Material e Métodos

Esta experiência decorreu no Centro Aquícola do Rio Ave, Vila do Conde e teve a duração de 21 semanas, dividida em períodos de três semanas cada. A temperatura oscilou entre os 14 e os 16 ºC durante toda a experiência, e as características dos tanques e do circuito foram descritas na metodologia geral.

Foram formuladas quatro dietas experimentais, duas contendo exclusivamente proteínas de origem animal, e outras duas contendo apenas proteína de origem vegetal. A farinha de peixe como componente principal, mais 10% de farinha de carne, foram as fontes de proteínas utilizadas para as dietas de origem animal, enquanto como fontes de proteínas vegetais foram utilizadas o gluten de milho, soja tostada integral, e tremoço.

A unica diferença na composição das dietas, duas a duas, era a de que numa delas, o zinco da mistura mineral foi substituído por zinco/metionina, sendo o nível de metionina incorporado através deste composto, corrigido pela adição de metionina à dieta anterior. O composto zinco/metionina foi aquirido a uma marca comercial, contendo 40 % de metionina e 21% de zinco na sua composição. As dietas foram formuladas numa base isoproteica e isoenergética, estando a sua formulação e composição química indicadas na tabela 46. A composição em ácidos aminados é indicada na tabela 47.

Cada dieta foi testada em triplicado, em lotes contendo inicialmente 100 peixes cada, com um peso médio inicial de 29,09 ± 0,9 g. Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia (9.00 e 16.00 horas, respectivamente), em regime *ad libitum*. As mortalidades foram registadas diariamente.

Todas as três semanas, era efectuada uma pesagem de grupo e contagem dos peixes. Nesse dia os peixes não eram alimentados. Após a pesagem de todos os grupos, eram retirados cinco peixes de cada tanque, e após anestesia com etilenoglicol-monofenil-eter (1:2500), era retirada uma amostra de sangue por punção da veia caudal. O sangue retirado era de imediato centrifugado e o plasma separado, guardado no congelador a -30 ºC, para análise posterior do seu teor em cálcio, zinco e magnésio. Os peixes em que eram retiradas as amostras de sangue, eram de seguida sacrificados, guardando-se em separado as vísceras e a parte restante da carcaça, para análise posterior

do cálcio, zinco e magnésio. Efectuou-se assim uma amostragem de 15 valores por parâmetro considerado, e por cada tratamento efectuado. O mesmo procedimento foi efectuado no início da experiência, para cinco peixes do lote comum utilizado.

O peso dos peixes sacrificados por cada tanque era registado, para ser descontado ao peso inicial do grupo no período seguinte. Deste modo os balanços verificados para o crescimento, foram sempre considerados para períodos separados de três semanas.

A determinação dos coeficientes de utilização digestiva das dietas experimentais, foi efectuada no circuito automatizado da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, utilizando peixes sobrantes da experiência e de acordo com o descrito na metodologia geral.

Todas as determinações analíticas foram efectuadas conforme descrito na metodologia geral.

Tabela 46. Composição alimentar e composição química das dietas usadas

	ZN1	ZN2	ZN3	ZN4
	%			
Farinha de peixe	60,0	60,0	----	----
Farinha de carne	10,0	10,0	----	----
Dextrina	24,98	24,95	6,18	6,16
Soja integral	----	----	35,0	35,0
Gluten de milho	----	----	40,0	40,0
Tremoço	----	----	15,0	15,0
Óleo fig.bacalhau	2,0	2,0	0,8	0,8
Premix Min.Vitam.	1,0	1,0*	1,0	1,0*
Ligante	2,0	2,0	2,0	2,0
Metionina	0,02	----	0,02	----
Zinco/Metionina	----	0,045	----	0,045
Matéria seca (MS)	94,52	94,66	93,21	93,15
Proteína (Nx6,25) (%MS)	42,34	42,46	43,58	43,24
Gordura bruta (%MS)	8,32	8,30	7,92	8,57
Energia bruta (kJ/gMS)	20,06	19,69	19,70	20,42
Cinzas	14,26	14,23	4,30	4,25
Cálcio (mg/g MS)	11,37	12,03	7,50	5,72
Magnésio (mg/g MS)	2,19	2,19	3,09	3,02
Zinco (mg/Kg)	18,69	24,80	19,77	24,95

* - Premix formulado sem incorporação de sulfato de zinco.

Tabela 47. Composição em ácidos aminados das dietas usadas *

	ZN1	ZN2	ZN3	ZN4	REQUISITOS[1]
	g / 16 g N				
Ác.Aspártico	9,24	9,24	9,05	9,05	
Treonina	4,06	4,06	3,75	3,75	2,2-3,0
Serina	3,96	3,96	5,15	5,15	
Ác.Glutâmico	13,32	13,32	21,61	21,61	
Prolina	4,76	4,76	7,55	7,55	
Glicina	7,72	7,72	3,56	3,56	
Alanina	6,31	6,31	6,40	6,40	
Cistina	0,99	0,99	1,77	1,77	
Valina	5,15	5,15	5,10	5,10	3,2
Metionina	3,56	3,56	2,30	2,30	2,2-3,9
Isoleucina	4,15	4,15	4,40	4,40	2,2
Leucina	7,13	7,13	12,01	12,01	3,9
Tirosina	3,09	3,09	4,56	4,56	5,1 **
Fenilal.	3,92	3,92	5,79	5,79	
Histidina	2,39	2,39	2,42	2,42	1,6-1,8
Lisina	8,30	8,30	4,98	4,98	3,7-6,1
Arginina	6,55	6,55	6,31	6,31	3,3-5,9

* - Estimada a partir da composição em ácidos aminados das matérias-primas usadas; ** - Tirosina + Fenilalanina; **1** - Segundo Wilson (1989). Histidina, Lisina e Arginina estimados em truta arco-íris, sendo os restantes extrapolados a partir dos requistos do salmão do pacífico.

3. Resultados

3.1. Composição química dos alimentos

Os resultados observados para a composição química das dietas experimentais (tabela 46), são reflexo directo das diferenças que existem entre os componentes da sua formulação. Cumprindo o objectivo de serem aproximadamente isoproteicas e isoenergéticas, a diferença mais evidente entre as dietas, surge no teor em cinzas, mais elevado nas que contêm proteínas de origem animal (ZN1 e ZN2), relativamente às outras duas contendo proteínas de origem vegetal (ZN3 e ZN4). Este facto, é explicado pelo teor mais elevado em cinzas da farinha de peixe e da farinha de carne, relativamente aos restantes componentes. Reflexo das diferenças no teor em cinzas, o cálcio das dietas ZN1 e ZN2, é também mais elevado que o teor no mesmo mineral que se verifica para as dietas ZN3 e ZN4.

As dietas em que foi efectuada uma suplementação com zinco/metionina (ZN2 e ZN4), apresentam um teor em zinco um pouco mais elevado que as duas restantes, satisfazendo no entanto todas as dietas, os requisitos de zinco estimados para a truta arco-íris (Ogino e Yang, 1978). Este facto, poderá ser explicado por o teor em zinco da mistura mineral se situar ligeiramente abaixo do indicado na sua composição, a partir da qual foi efectuada a substituição ou, por outro lado, pela não quantificação da quantidade de zinco presente na mistura mineral formulada sem a incorporação de óxido de zinco.

O balanço em ácidos aminados das dietas contendo proteínas de origem vegetal, tende a apresentar valores de lisina e metionina, no limite dos requisitos estimados nestes dois ácidos aminados para a truta arco-íris. Em função do valor considerado, poderá mesmo ocorrer uma deficiência relativa.

3.2. Crescimento e eficiência de utilização dos alimentos

Conforme foi referido no ponto 2. de Material e métodos, os resultados relativos ao crescimento e eficiência de utilização alimentar desta experiência (tabela 48 e figura 12), deverão ser analisados com alguma reserva uma vez que, por cada período considerado, eram retiradas ao acaso, amostras de cinco peixes de cada um dos tanques, o que pode ter causado alguma influência nos resultados verificados.

Ao fim de 21 semanas, as dietas formuladas com base em proteínas de origem animal (ZN1 e ZN2), apresentam valores de ganho de peso e taxa de crescimento específico, significativamente superiores às dietas constituídas por proteínas de origem vegetal (ZN3 e ZN4) ($p < 0,01$). Este facto, deriva fundamentalmente das diferenças observadas no crescimento dos diferentes lotes, durante as últimas 6 semanas de ensaio.

Pese embora as dietas ZN3 e ZN4, tendam a apresentar valores de índice de conversão alimentar e coeficiente de eficácia proteica, ligeiramente mais baixos e mais altos,

respectivamente, que as dietas ZN3 e ZN4, as diferenças observadas não são estatisticamente significativas ($p > 0,05$).

A ingestão voluntária dos alimentos, foi sempre mais elevada nas dietas ZN1 e ZN2, relativamente às dietas ZN3 e ZN4, ao longo de toda a experiência (figura 13), refelectindo-se este facto numa diferença final estatisticamente significativa.

Tabela 48. Crescimento e eficiência de utilização dos alimentos (Período 1); 147 dias; *ad libitum*; 15 ºC

	ZN1	ZN2	ZN3	ZN4	
Peso inicial (g)	29,18	29,51	28,71	28,95	
Peso final (g)	130,71	130,64	104,73	104,48	
Ganho de peso (g)	101,53[a]	101,13[a]	76,02[b]	75,53[b]	
TCE[1]	1,22[a]	1,18[a]	1,04[b]	1,03[b]	
IC[2]	1,55	1,58	1,51	1,49	NS
CEP[3]	1,42	1,43	1,49	1,47	NS
IV[4]	2,29[a]	2,28[a]	1,76[b]	1,72[b]	

1. Taxa de crescimento específico; 2. Índice de conversão; 3. Coeficiente de eficácia proteica; 4. Ingestão voluntária. Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,01$).

Figura 12. Evolução do peso médio das trutas ao longo de 21 semanas (15 ºC; *ad libitum*)

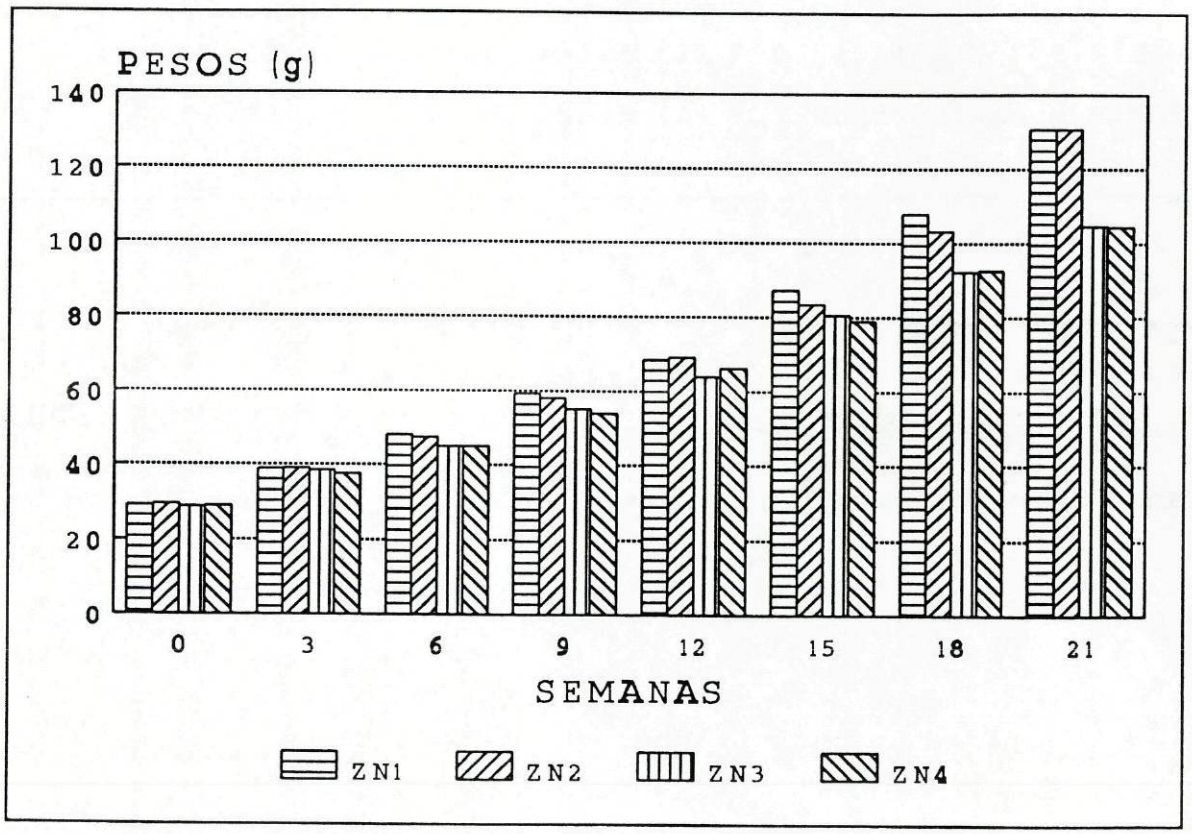
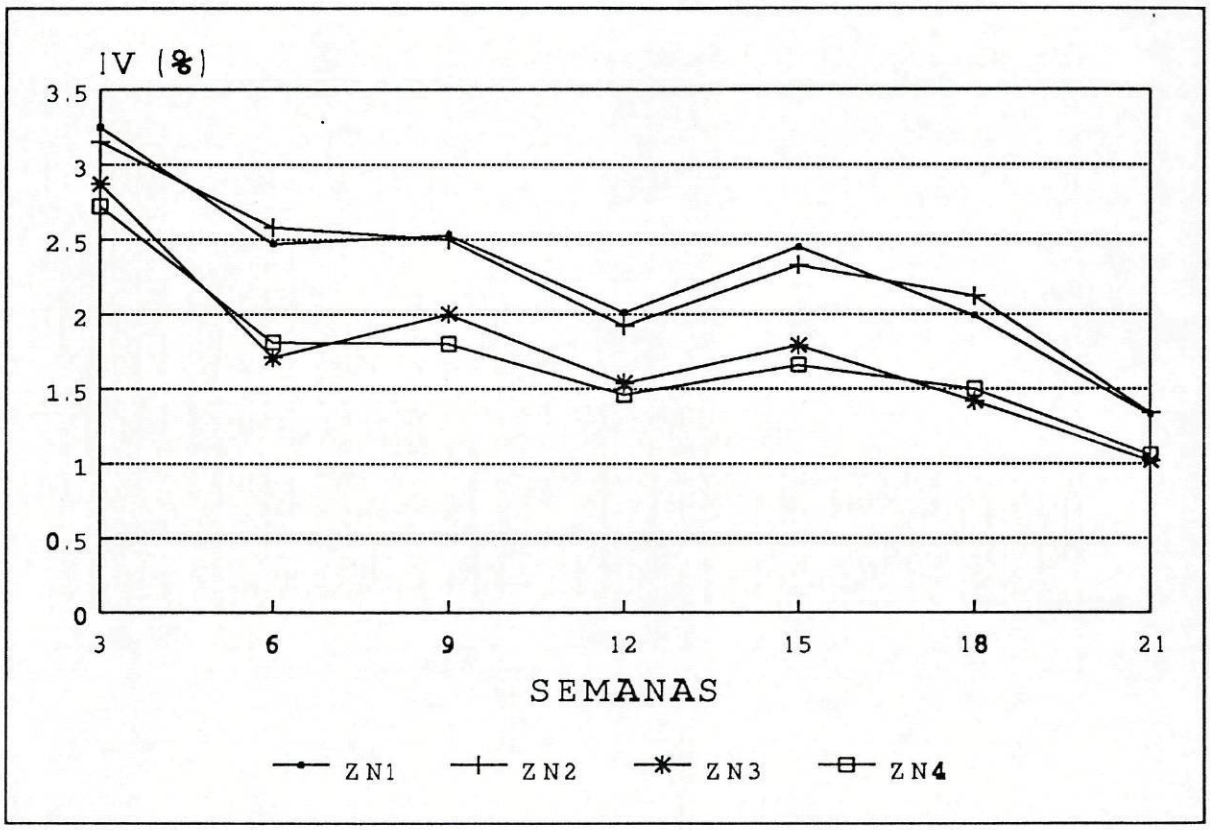


Figura 13. Evolução da ingestão voluntária ao longo de 21 semanas



3.3. Coeficientes de utilização digestiva

Os coeficientes de utilização digestiva da matéria seca das dietas usadas, não apresentam diferenças significativas entre si ($p > 0,05$), (tabela 49).

A digestibilidade da proteína das dietas contendo proteínas de origem vegetal (ZN3 e ZN4), é significativamente mais elevada que a das dietas formuladas com base em proteínas de origem animal (ZN3 e ZN4), ($p < 0,01$).

Pelo contrário, os coeficientes de utilização digestiva da energia são mais elevados nas dietas ZN1 e ZN2, do que nas dietas ZN3 e ZN4 ($p < 0,01$).

Tabela 49. Coeficientes de utilização digestiva das dietas usadas no estudo do zinco/metionina *

	ZN1	ZN2	ZN3	ZN4
	%			
Matéria seca	71,38	71,58	71,97	72,86
Proteína	84,56[a]	83,87[a]	93,64[b]	92,90[b]
Energia	81,92[a]	81,03[a]	73,66[b]	78,05[b]

* - Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,01$).

3.4. Evolução dos teores em Zinco, Cálcio e Magnésio no plasma

A evolução dos teores em zinco, cálcio e magnésio, no plasma das trutas arco-íris alimentadas com proteínas animais ou vegetais, são indicados na tabela 50, e nas figuras 14, 15 e 16.

Apesar de algumas diferenças estatisticamente siginificativas, que se verificam nos períodos 2, 4 e 6, para os teores em zinco do plasma, a tendência global que se verifica é a da não existência de diferenças significativas entre os diversos tratamentos ao longo de toda a experiência ($p > 0,05$). Nos casos em que se verificam essas diferenças, não há uma constância de valores, sendo alternadamente os teores em zinco das trutas alimentadas com as dietas ZN2, ZN3 e ZN1, os que se apresentam com os níveis mais baixos nesse microelemnto ($p < 0,05$).

Os teores em cálcio no plasma das trutas, não apresentam diferenças estatisticamente significativas entre si, ao longo de todo o ensaio ($p > 0,05$).

Do mesmo modo, em cinco dos sete períodos experimentais, não se verificam diferenças significativas para os teores em magnésio no plasma ($p >0,05$). Nos primeiro e sexto períodos experimentais, o teor em magnésio do tratamento ZN1 é respectivamente mais baixo e mais alto, do que o dos tratamentos restantes ($p < 0,05$).

Tabela 50. Teores em Zinco, Cálcio e Magnésio no plasma de trutas arco-íris alimentadas com proteínas animais ou vegetais, ao fim de 3 semanas *. Valores iniciais de 48,72 Ug/ml de Zinco, 179,12 Ug/ml de Cálcio e 99,34 Ug/ml de Magnésio.

	ZN1	ZN2	ZN3	ZN4	
Zinco (Ug/ml)	52,81 ± 6,17	58,64 ± 7,57	45,73 ± 5,05	53,35 ± 7,7	NS
Cálcio (Ug/ml)	176,16 ± 5,60	188,92 ± 13,3	155,33 ± 5,03	173,92 ± 8,62	NS
Magnésio (Ug/ml)	95,25 ± 4,53^{A}	122,15 ± 8,51^{B}	111,17 ± 4,92^{B}	116,90 ± 6,51^{B}	

* - Cada valor é a média ± erro padrão de quinze determinações efectuadas em quinze peixes diferentes; Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,05$). NS - Diferenças estatisticamente não significativas.

TABELA 50 (continuação). Teores em Zinco, Cálcio e Magnésio no plasma de trutas arco-íris alimentadas com proteínas animais ou vegetais ao fim de seis semanas *

	ZN1	ZN2	ZN3	ZN4	
Zinco (Ug/ml)	25,91±2,55^{A}	18,44±1,64^{B}	21,91±2,67^{B}	30,66±3,68^{A}	
Cálcio (Ug/ml)	235,16±9,35	237,50±9,13	231,16±7,04	232,25±5,58	NS
Magnésio (Ug/ml)	92,18±3,09	96,85±5,22	96,15±5,59	103,45±6,56	NS

* - Cada valor é a média ± erro padrão de quinze determinações em quinze peixes diferentes; Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são significativamente diferentes entre si ($p < 0,05$). NS - Diferenças estatisticamente não significativas.

Tabela 50 (continuação). Teores em Zinco, Cálcio e Magnésio no plasma de trutas arco-íris alimentadas com proteínas animais ou vegetais ao fim de nove semanas *

	ZN1	ZN2	ZN3	ZN4	
Zinco (Ug/ml)	26,29±2,63	30,93±3,05	31,27±4,08	34,05±4,85	NS
Cálcio (Ug/ml)	185,41±6,23	197,08±15,4	205,25±11,0	204,75±6,71	NS
Magnésio (Ug/ml)	93,68±5,34	95,45±7,65	95,20±6,05	91,15±4,40	NS

* - Cada valor é a média ± desvio padrão de quinze determinações em quinze peixes diferentes;
NS - Diferenças estatisticamente não significativas.

Tabela 50 (continuação). Teores em Zinco, Cálcio e Magnésio no plasma de trutas arco-íris alimentadas com proteínas animais ou vegetais ao fim de 12 semanas *

	ZN1	ZN2	ZN3	ZN4	
Zinco (Ug/g)	32,43±2,48^{A}	32,34±3,33^{A}	18,95±2,47^{B}	27,70±2,91^{C}	
Cálcio (Ug/g)	219,17±11,7	229,67±9,96	238,00±9,79	218,33±7,00	NS
Magnésio (Ug/g)	90,33±7,03	80,13±7,68	72,50±7,88	75,82±6,77	NS

* - Cada valor é a média ± erro padrão de quinze determinações em quinze peixes diferentes; Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,05$). NS - Diferenças estatisticamente não significativas.

Tabela 50 (continuação). Teores em Zinco, Cálcio e Magnésio no plasma de trutas arco-íris alimentadas com proteínas animais ou vegetais ao fim de 15 semanas *

	ZN1	ZN2	ZN3	ZN4	
Zinco (Ug/ml)	46,77±4,85	55,41±7,26	47,65±6,81	60,51±6,09	NS
Cálcio (Ug/ml)	172,33±9,80	192,33±13,5	190,08±9,10	196,25±9,25	NS
Magnésio (Ug/ml)	92,21±7,13	97,80±5,94	91,26±7,17	73,11±3,96	NS

* - Cada valor, é a média ± erro padrão de quinze determinações em quinze peixes diferentes.

NS - Diferenças estatisticamente não significativas.

Tabela 50 (continuação). Teores em Zinco, Cálcio e Magnésio no plasma de trutas arco-íris alimentadas com proteínas animais ou vegetais ao fim de 18 semsnas *

	ZN1	ZN2	ZN3	ZN4	
Zinco (Ug/ml)	37,08±4,82^{A}	60,75±6,15^{B}	50,13±6,49^{C}	69,79±6,46^{D}	
Cálcio (Ug/ml)	176,50±6,65	171,83±5,52	185,75±8,66	181,16±6,44	NS
Magnésio (Ug/ml)	99,83±7,07^{A}	81,33±5,10^{B}	68,83±5,31^{C}	77,78±6,02^{B}	

* - Cada valor, é a média ± erro padrão de quinze determinações em quinze peixes diferentes; Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,05$). NS - Diferenças estatisticamente não significativas.

Tabela 50 (continuação). Teores em Zinco, Cálcio e Magnésio no plasma de trutas arco-íris alimentadas com proteínas animais ou vegatais ao fim de 21 semanas *

	ZN1	ZN2	ZN3	ZN4	
Zinco (Ug/ml)	42,69±7,06	47,38±7,64	45,06±7,77	44,31±8,52	NS
Cálcio (Ug/ml)	219,08±5,08	230,75±6,78	230,50±5,53	234,16±5,22	NS
Magnésio (Ug/ml)	44,08±2,38	49,65±3,46	48,57±4,21	46,05±3,94	NS

* - Cada valor, é a média ± erro padrão de quinze determinações em quinze peixes diferentes.

NS - Diferenças estatisticamente não significativas

Figura 14. Evolução dos teores em zinco no plasma de truta arco-íris

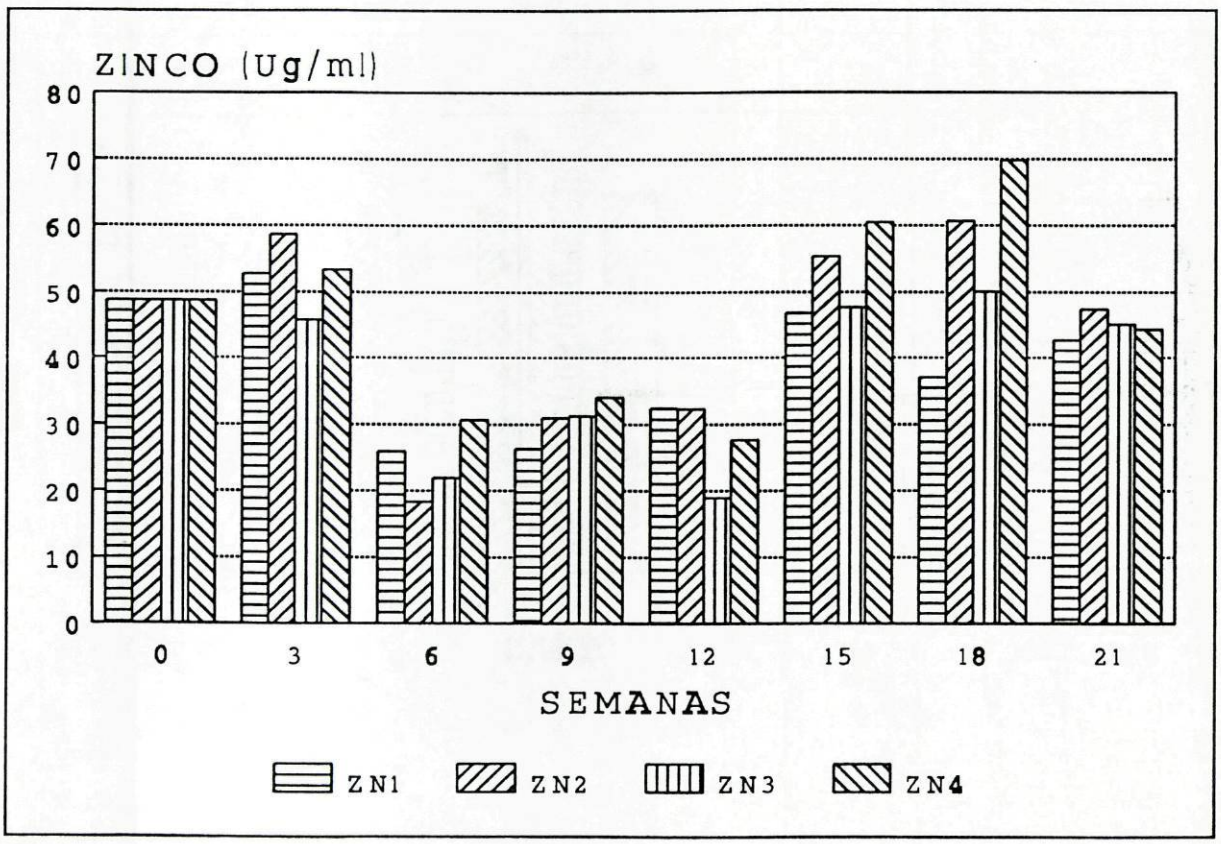


Figura 15. Evolução dos teores em cálcio no plasma de truta arco-íris

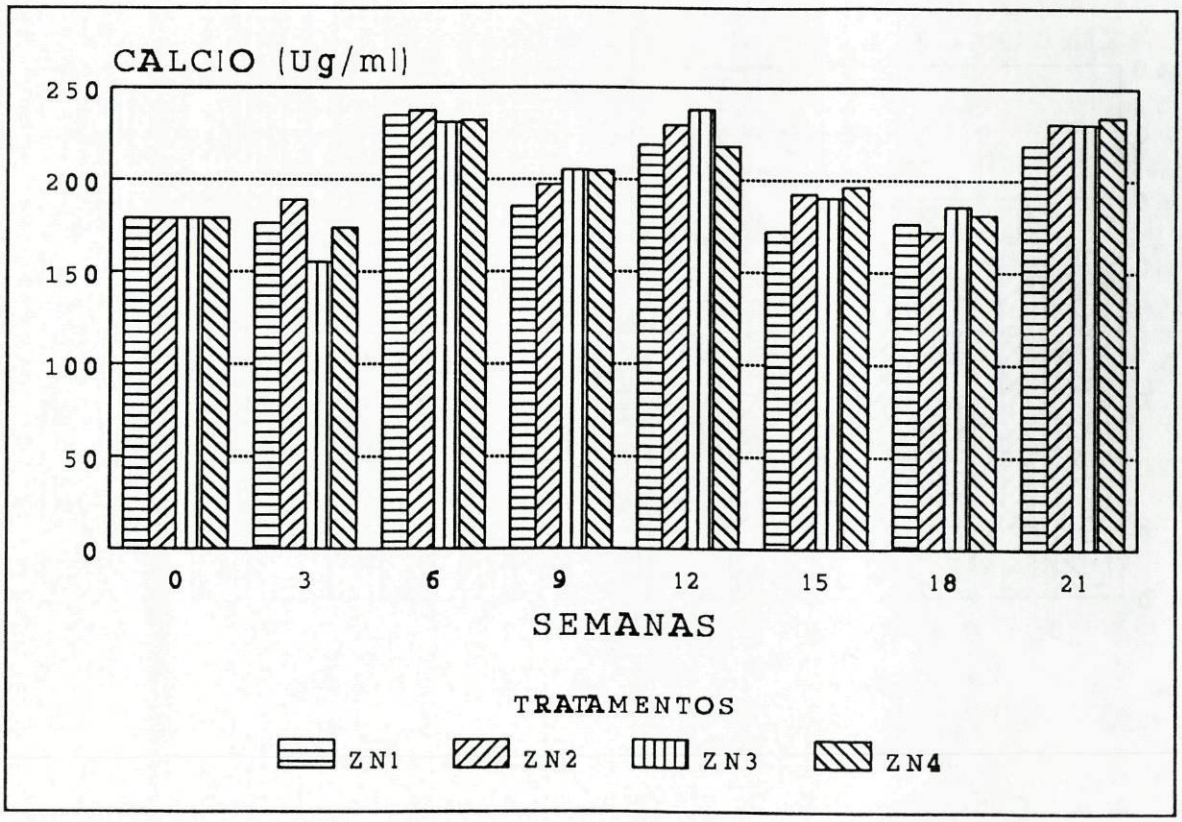
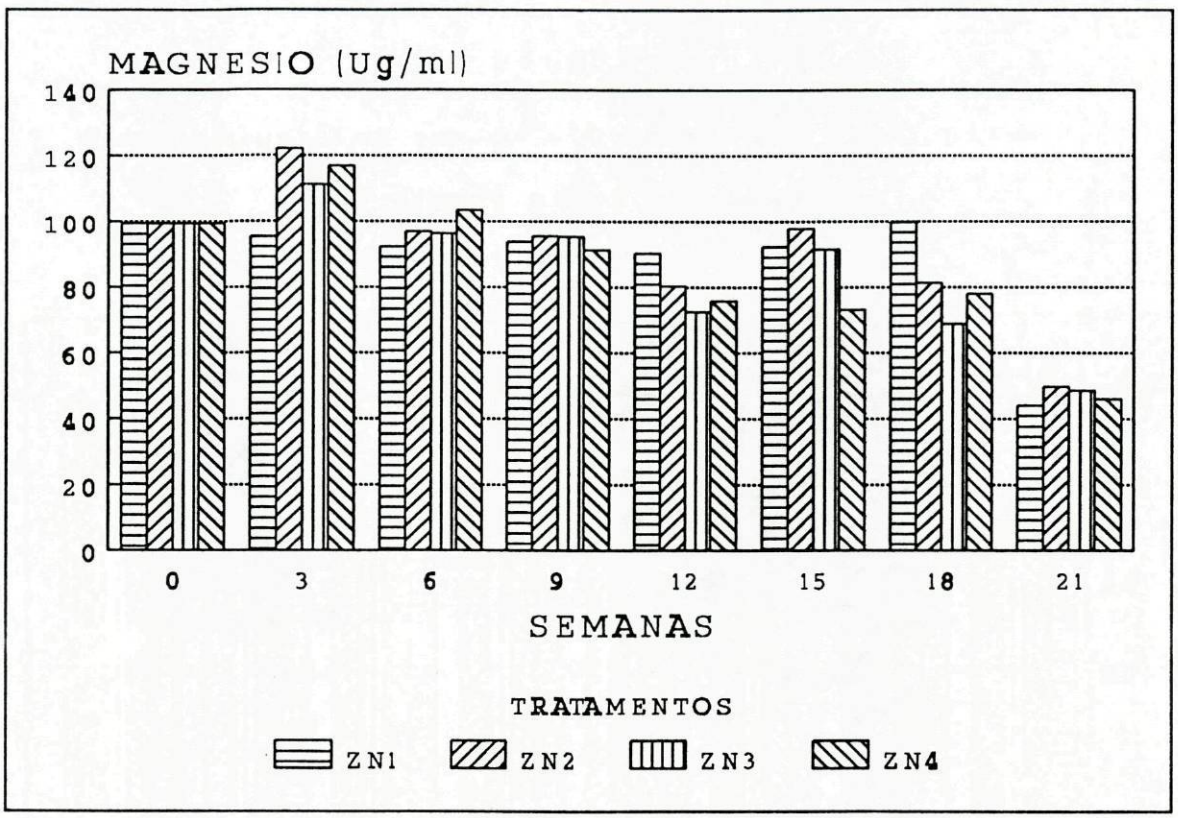


Figura 16. Evolução dos teores em magnésio no plasma de truta arco-íris



3.5. Teores em Zinco, Cálcio e Magnésio na carcaça

Os teores médios em zinco, cálcio e magnésio observados durante 21 semanas nas carcaças das trutas, são indicados na tabela 51, e a sua evolução ao longo do ensaio nas figuras 17, 18 e 19.

Os teores em zinco na carcaça, não apresentam diferenças estatisticamente significativas entre os quatro tratamentos experimentais ($p > 0,05$), durante as primeiras doze semanas de ensaio. Nos períodos restantes, verifica-se alguma oscilação nos valores observados, os quais são alternadamente superiores para as dietas ZN1 e ZN2, ou para as dietas ZN3 e ZN4. A tendência global é a da não existência de diferenças significativas entre os quatro tratamentos.

Do mesmo modo, à excepção de um dos períodos de medida, os teores em cálcio que se observam nas carcaças dos peixes não apresentam diferenças significativas entre si ($p > 0,05$).

No mesmo sentido e pese embora algumas oscilações de valores intermédios, estatisticamente significativas, com tendência para os valores mais elevados se situarem nos tratamentos ZN1 e ZN2, entre a maioria dos resultados observados para os teores em magnésio na carcaça, não se verificam diferenças estatisticamente significativas.

Tabela 51. Teores em Zinco, Cálcio e Magnésio na carcaça de trutas arco-íris alimentadas com proteínas animais ou vegetais, ao fim de 3 semanas *

	ZN1	ZN2	ZN3	ZN4	
Zinco (Ug/gMS)	118,44±9,2	105,10±11,5	116,45±30,0	83,31±5,99	NS
Cálcio (mg/gMS)	33,62±0,79	33,19±1,22	34,62±1,22	34,09±4,20	NS
Magnésio (mg/gMS)	1,50±0,07	1,35±0,03	1,18±0,03	1,14±0,03	NS

* - Cada valor, é a média ± erro padrão de 15 determinações em 15 peixes diferentes; NS - Diferenças estatisticamente não significativas ($p > 0,05$).

Tabela 51. Teores em Zinco, Cálcio e Magnésio na carcaça de trutas arco-íris alimentadas com proteínas animais ou vegetais, ao fim de 6 semanas *

	ZN1	ZN2	ZN3	ZN4	
Zinco (Ug/gMS)	99,63±9,68	92,50±6,84	91,04±3,13	82,98±9,02	NS
Cálcio (mg/gMS)	32,46±9,68	38,55±3,92	36,77±6,42	36,92±7,12	NS
Magnésio (mg/gMS)	1,20±0,05	1,19±0,09	1,20±0,04	1,32±0,01	NS

* - Cada valor, é a média ± erro padrão de 15 determinações em 15 peixes diferentes; NS - Diferenças estatisticamente não significativas ($p > 0,05$).

Tabela 51. Teores em Zinco, Cálcio e Magnésio na carcaça de trutas arco-íris alimentadas com proteínas animais ou vegetais, ao fim de 9 semanas *

	ZN1	ZN2	ZN3	ZN4	
Zinco (Ug/gMS)	111,77±5,61	94,94±5,77	96,47±9,11	94,03±9,54	NS
Cálcio (mg/gMS)	31,00±2,43	34,72±4,28	35,06±1,27	31,81±4,25	NS
Magnésio (mg/gMS)	1,34±0,04	1,12±0,04	1,08±0,17	1,20±0,26	NS

* - Cada valor, é a média ± erro padrão de 15 determinações em 15 peixes diferentes; NS - Diferenças estatisticamente não significativas ($p > 0,05$).

Tabela 51. Teores em Zinco, Cálcio e Magnésio na carcaça de trutas arco-íris alimentadas com proteínas animais ou vegetais, ao fim de 12 semanas *

	ZN1	ZN2	ZN3	ZN4	
Zinco (Ug/gMS)	$89,17\pm2,19^{AB}$	$79,79\pm5,54^{A}$	$110,37\pm20,3^{CB}$	$122,31\pm22,9^{C}$	
Cálcio (mg/gMS)	29,75±0,75	31,06±4,64	30,41±2,14	26,43±2,67	NS
Magnésio (mg/gMS)	1,17±0,11	1,19±0.03	1,22±0,02	1,17±0,04	NS

* - Cada valor, é a média ± erro padrão de 15 determinações em 15 peixes diferentes; Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,05$); NS - Diferenças estatisticamente não significativas.

Tabela 51. Teores em Zinco, Cálcio e Magnésio na carcaça de trutas arco-íris alimentadas com proteínas animais ou vegetais, ao fim de 15 semanas *

	ZN1	ZN2	ZN3	ZN4	
Zinco (Ug/gMS)	64,95±12,5^{AC}	78,10±15,9^{AB}	58,30±2,65^{C}	67,27±14,4^{AC}	
Cálcio (mg/gMS)	22,88±0,60	19,26±3,51	19,07±1,42	20,94±5,02	NS
Magnésio (mg/gMS)	0,94±0,06^{A}	0,97±0,10^{A}	0,88±0,04^{AB}	0,77±0,10^{B}	

* - Cada valor, é a média ± erro padrão de 15 determinações em 15 peixes diferentes; Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,05$); NS - Diferenças estatisticamente não significativas ($p > 0,05$).

Tabela 51. Teores em Zinco, Cálcio e Magnésio na carcaça de trutas arco-íris alimentadas com proteínas animais ou vegetais, ao fim de 18 semanas *

	ZN1	ZN2	ZN3	ZN4
Zinco (Ug/gMS)	83,68±9,05^{B}	119,11±7,11^{B}	88,38±3,88^{A}	94,07±7,46^{AB}
Cálcio (mg/gMS)	27,74±3,66^{A}	29,58±4,91^{A}	20,92±2,81^{B}	28,43±5,66^{A}
Magnésio (mg/gMS)	0,74±0,03^{A}	1,18±0,11^{B}	0,96±0,04^{BC}	0,82±0,12^{AC}

* - Cada valor, é a média ± erro padrão de 15 determinações em 15 peixes diferentes; Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,05$).

Tabela 51. Teores em Zinco, Cálcio e Magnésio na carcaça de trutas arco-íris alimentadas com proteínas animais ou vegetais, ao fim de 21 semanas *

	ZN1	ZN2	ZN3	ZN4	
Zinco (Ug/gMS)	66,62±1,62^{A}	117,21±8,77^{B}	78,51±6,17^{A}	98,40±3,15^{B}	
Cálcio (mg/gMS)	18,75±2,65	17,97±0,91	15,77±1,05	24,93±8,91	NS
Magnésio (mg/gMS)	0,70±0,04	0,74±0,07	0,80±0,04	0,68±0,03	NS

* - Cada valor, é a média ± erro padrão de 15 determinações em 15 peixes diferentes; Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,05$); NS - Diferenças estatisticamente não significativas ($p > 0,05$);

Figura 17. Evolução do teor em zinco

na carcaça de truta arco-íris

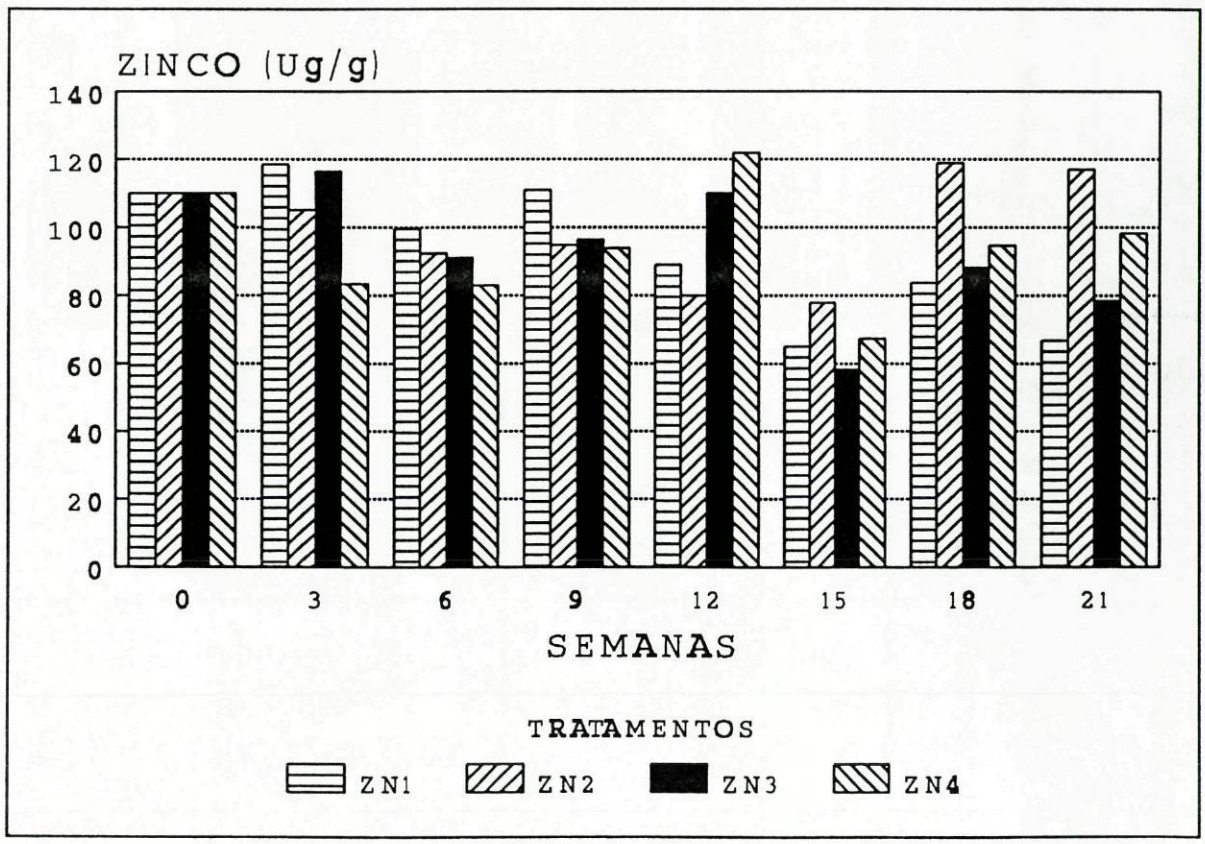


Figura 18. Evolução do teor em cálcio na carcaça de truta arco-íris

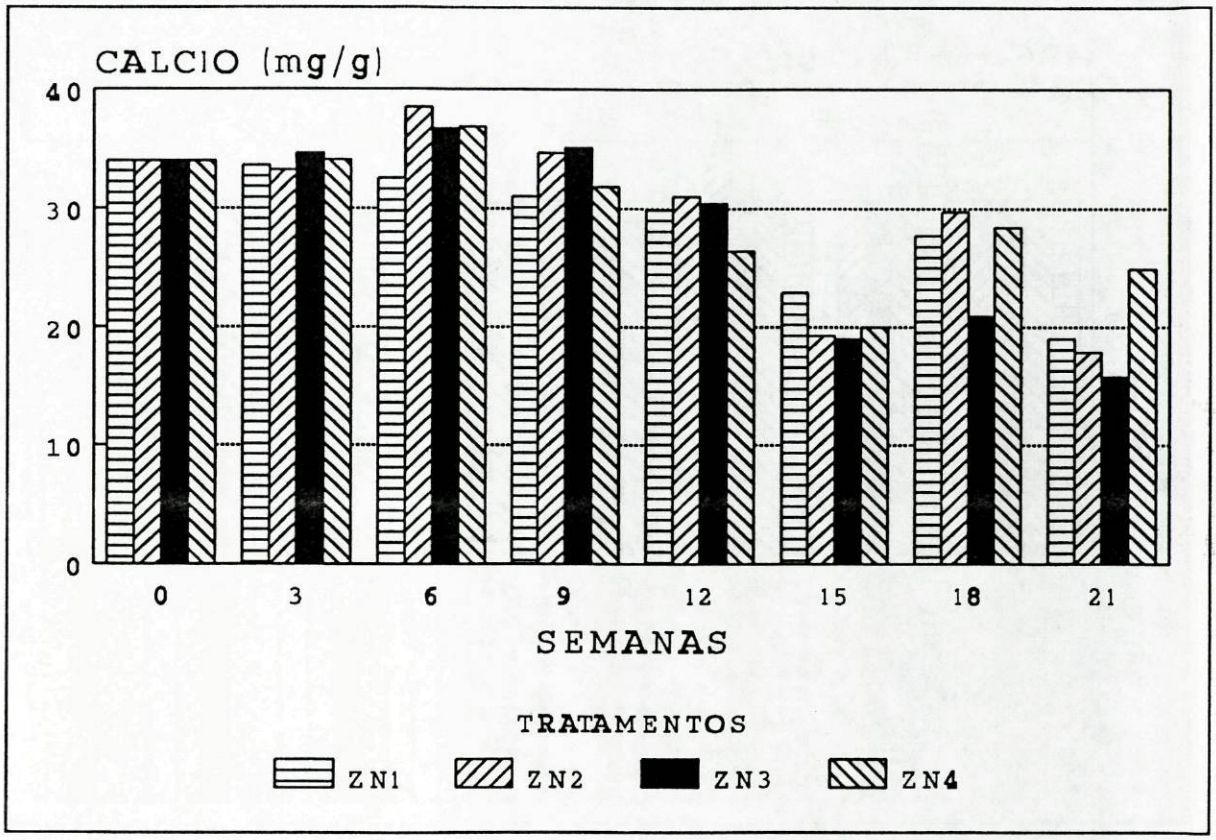
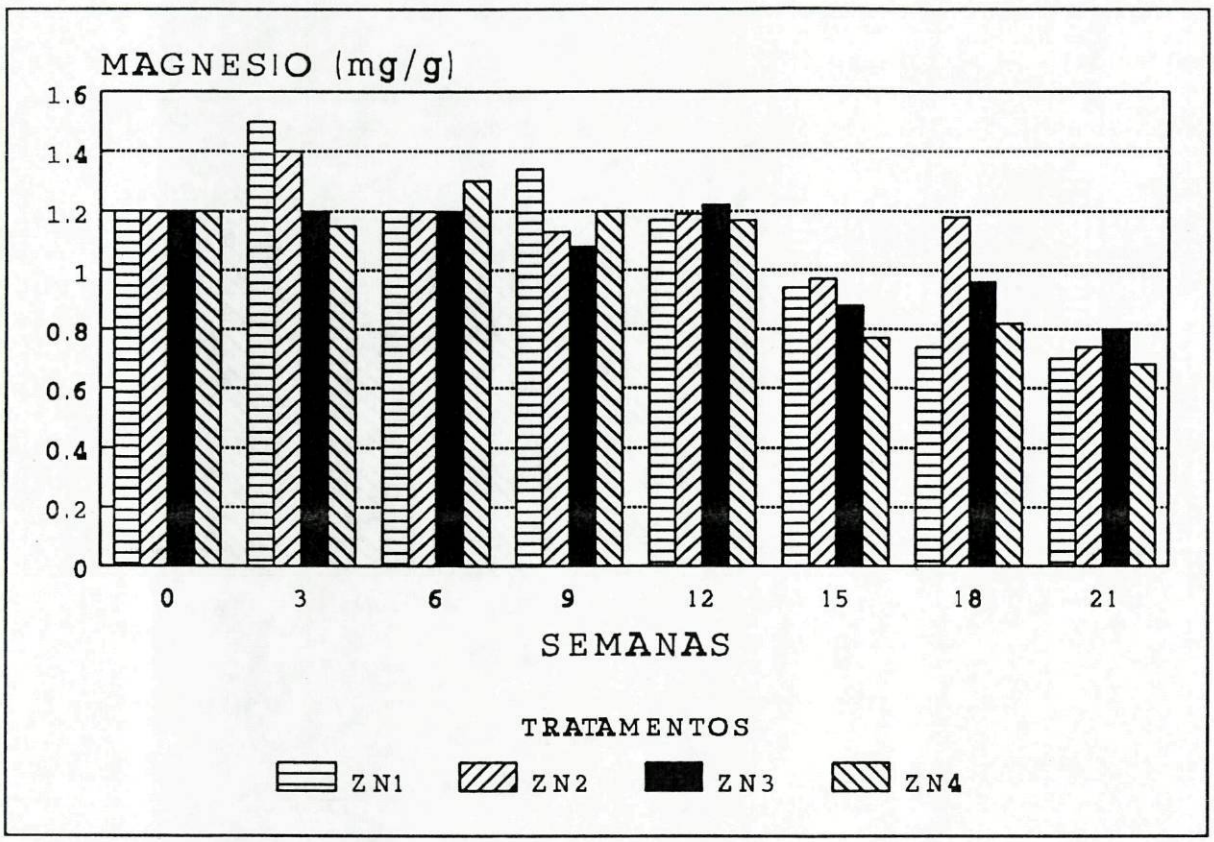


Figura 19. Evolução do teor em magnésio na carcaça de truta arco-íris



3.6. Teores em Zinco, Cálcio e Magnésio nas vísceras

Os teores em zinco das vísceras das trutas, apresentam uma variabilidade relativamente constante ao longo de toda a experiência (tabela 52), alternando-se a observação de valores mais elevados, entre os diversos tratamentos e não se mantendo a tendência inicial para a obtenção de resultados mais elevados nos tratamentos com suplementação em zinco/metionina (ZN2 e ZN4).

Os valores verificados para o teor em cálcio nas vísceras, apresentam uma tendência para obtenção de valores significativamente mais elevados nos tratamentos ZN1 e ZN2, relativamente aos verificados para os dos peixes alimentados com as dietas ZN3 e ZN4 ($p < 0,05$).

Os teores em magnésio nas vísceras, apresentam variações relativas, superiores às verificadas para os valores do cálcio, podendo apenas observar-se uma tendência para valores mais elevados nas dietas contendo zinco/metionina (ZN2 e ZN4), relativamente às duas restantes.

Tabela 52. Teores em Zinco, Cálcio e Magnésio em vísceras de trutas arco-íris alimentadas com proteínas animais ou vegetais, ao fim de 3 semanas *

	ZN1	ZN2	ZN3	ZN4
Zinco (Ug/gMS)	26,64±2,30^{AB}	31,35±5,55^{A}	16,29±2,10^{B}	21,79±5,65^{B}
Cálcio (mg/gMS)	1,19±0,03^{A}	1,20±0,04^{A}	0,66±0,02^{B}	0,80±0,03^{B}
Magnésio (Ug/gMS)	410,7±34,7^{A}	550,8±55,2^{A}	276,0±0,22^{B}	287,5±35,6^{B}

* - Cada valor, é a média ± erro padrão de 15 determinações em 15 peixes diferentes; Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,05$).

Tabela 52. Teores em Zinco, Cálcio e Magnésio em vísceras de trutas arco-íris alimentadas com proteínas animais ou vegetais, ao fim de 6 semanas *

	ZN1	ZN2	ZN3	ZN4
Zinco (Ug/gMS)	18,09±1,77^{A}	16,66±1,55^{A}	20,05±3,33^{A}	32,97±7,55^{B}
Cálcio (mg/gMS)	1,72±0,02^{A}	2,39±0,04^{B}	1,80±0,03^{A}	1,61±0,02^{A}
Magnésio (Ug/gMS)	305,9±20,2^{A}	244,2±15,5^{A}	542,5±54,5^{B}	563,7±75,5^{B}

* - Cada valor, é a média ± erro padrão de 15 determinações em 15 peixes diferentes; Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,05$).

Tabela 52. Teores em Zinco, Cálcio e Magnésio em vísceras de trutas arco-íris alimentadas com proteínas animais ou vegetais, ao fim de 9 semanas *

	ZN1	ZN2	ZN3	ZN4	
Zinco (Ug/gMS)	22,56±1,12^{AB}	25,53±5,55^{A}	19,56±1,12^{B}	17,48±1,10^{B}	
Cálcio (mg/gMS)	1,24±0,05^{AB}	0,92±0,03^{A}	1,34±0,05^{AB}	1,70±0,10^{B}	
Magnésio (Ug/gMS)	415,1±67,5	309,7±75,5	308,5±54,5	332,9±25,5	NS

* - Cada valor, é a média ± erro padrão de 15 determinações em 15 peixes diferentes; Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,05$); NS - Diferenças estatisticamente não significativas ($p > 0,05$);

Tabela 52. Teores em Zinco, Cálcio e Magnésio em vísceras de trutas arco-íris alimentadas com proteínas animais ou vegetais, ao fim de 12 semanas *

	ZN1	ZN2	ZN3	ZN4	
Zinco (Ug/gMS)	$23,55\pm3,44^{A}$	$15,76\pm4,55^{B}$	$18,59\pm2,55^{AB}$	$15,05\pm2,56^{B}$	
Cálcio (mg/gMS)	$1,09\pm0,04$	$1,07\pm0,18$	$0,99\pm0,07$	$0,98\pm0,07$	NS
Magnésio (Ug/gMS)	$228,5\pm21,5^{A}$	$631,9\pm55,6^{B}$	$344,3\pm22,2^{AC}$	$460,9\pm45,5^{C}$	

* - Cada valor, é a média ± erro padrão de 15 determinações em 15 peixes diferentes; Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,05$); NS - Diferenças estatisticamente não significativas ($p > 0,05$).

Tabela 52. Teores em Zinco, Cálcio e Magnésio em vísceras de trutas arco-íris alimentadas com proteínas animais ou vegetais, ao fim de 15 semanas *

	ZN1	ZN2	ZN3	ZN4	
Zinco (Ug/gMS)	15,05±2,33^{AB}	10,63±1,55^{A}	9,49±0,99^{A}	21,67±8,88^{B}	
Cálcio (mg/gMS)	0,65±0,02	0,77±0,04	0,44±0,02	0,65±0,03	NS
Magnésio (Ug/gMS)	245,5±35,5	227,7±5,50	216,3±50,6	215,3±45,9	NS

* - Cada valor, é a média ± erro padrão de 15 determinações em 15 peixes diferentes; Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,05$); NS - Diferenças estatisticamente não significativas ($p > 0,05$).

Tabela 52. Teores em Zinco, Cálcio e Magnésio em vísceras de trutas arco-íris alimentadas com proteínas animais ou vegetais, ao fim de 18 semanas *

	ZN1	ZN2	ZN3	ZN4	
Zinco (Ug/gMS)	22,62±2,25	25,25±2,20	32,20±10,5	22,46±5,55	NS
Cálcio (mg/gMS)	1,12±0,04	1,19±0,02	1,39±0,07	0,97±0,02	NS
Magnésio (Ug/gMS)	350,4±34,4	402,5±50,5	351,2±55,9	290,1±67,2	NS

* - Cada valor, é a média ± erro padrão de 15 determinações em 15 peixes diferentes; NS - Diferenças estatisticamente não significativas ($p > 0,05$);

Tabela 52. Teores em Zinco, Cálcio e Magnésio em vísceras de trutas arco-íris alimentadas com proteínas animais ou vegetais, ao fim de 21 semanas *

	ZN1	ZN2	ZN3	ZN4	
Zinco (Ug/gMS)	17,57±1,55^{A}	27,41±0,08^{B}	28,01±5,67^{B}	22,46±5,55^{AB}	
Cálcio (mg/gMS)	0,21±0,01	0,25±0,02	0,18±0,03	0,24±0,04	NS
Magnésio (Ug/gMS)	310,2±23,3^{A}	357,5±34,9^{AC}	200,5±22,8^{B}	240,5±38,7^{BC}	

* - Cada valor, é a média ± erro padrão de 15 determinações em 15 peixes diferentes; Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,05$); NS - Diferenças estatisticamente não significativas ($p > 0,05$).

Figura 20. Evolução dos teores em zinco nas vísceras de truta arco-íris

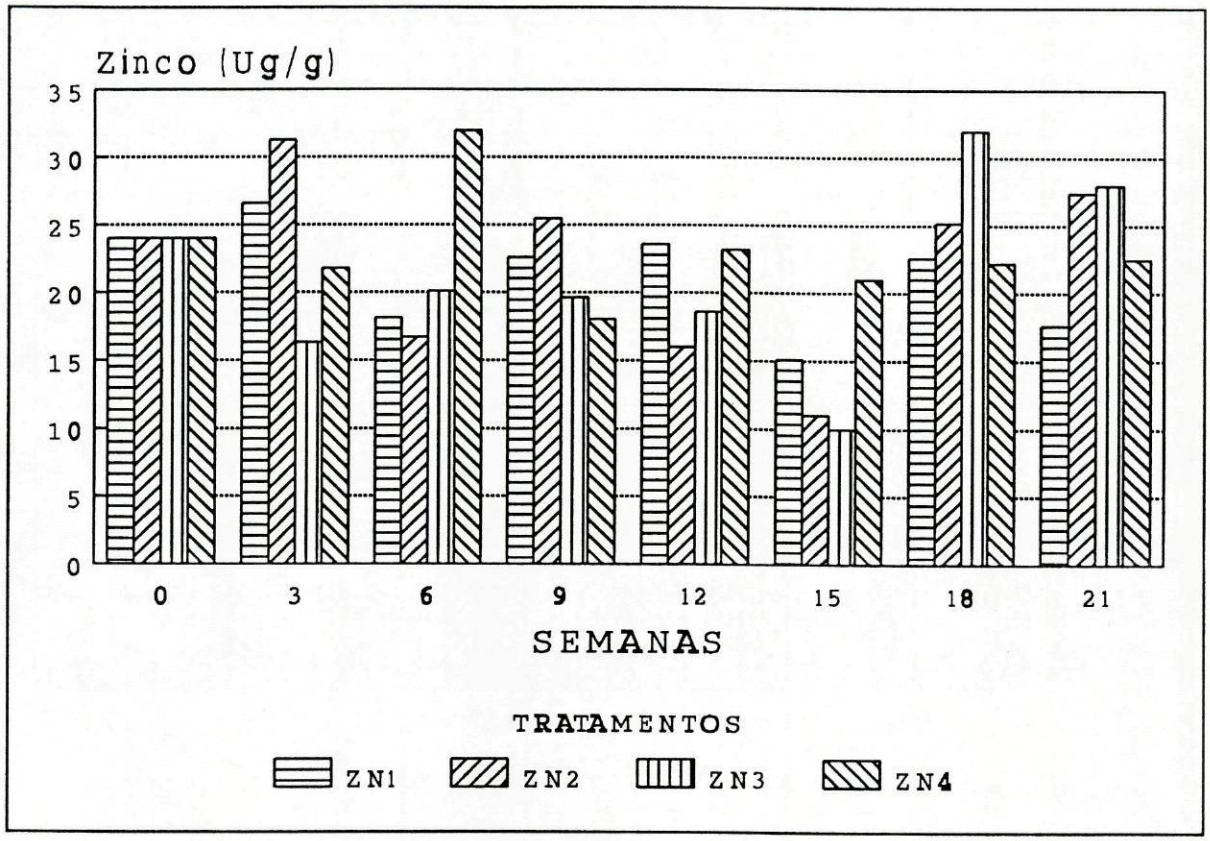


Figura 21. Evolução do teor em cálcio nas vísceras de truta arco-íris

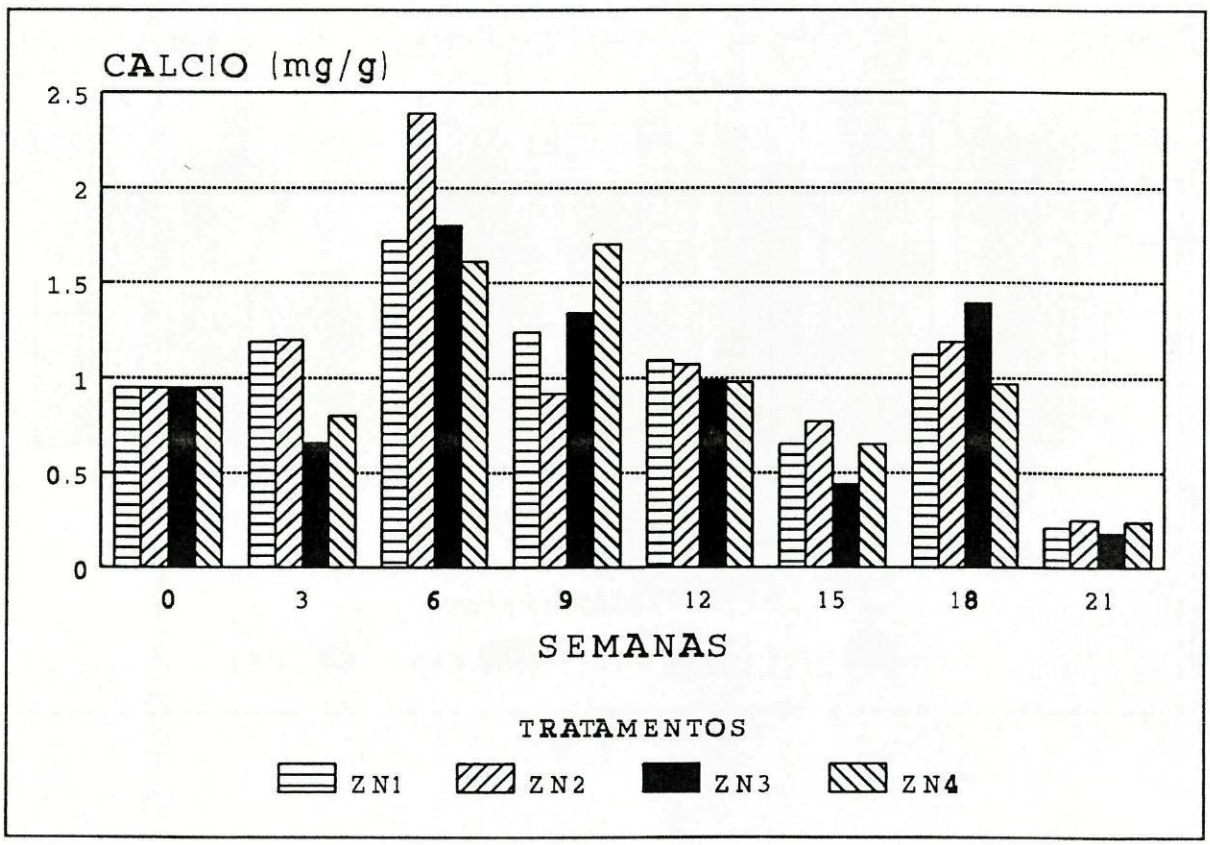
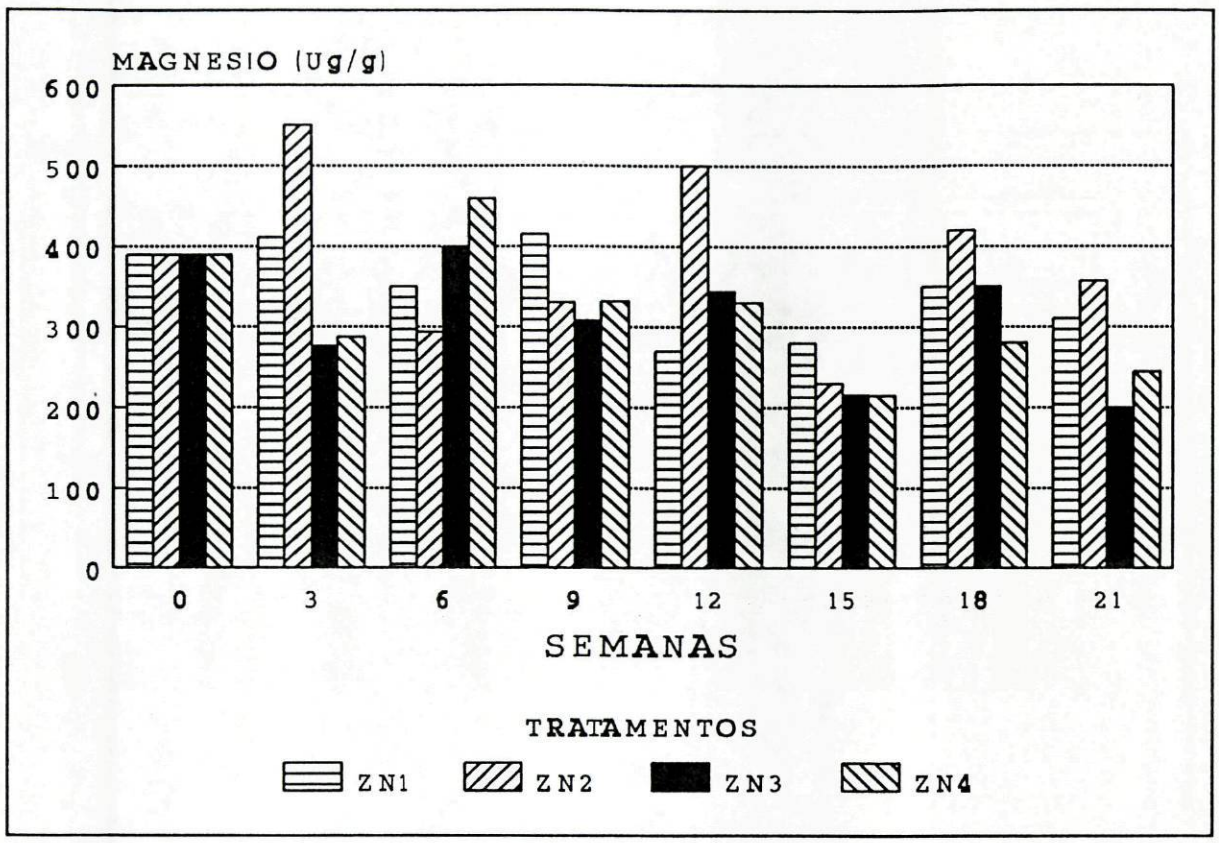


Figura 22. Evolução do teor em magnésio nas vísceras de truta arco-íris



4. DISCUSSÃO

O conjunto de factores que são referidos de forma mais frequente, pela sua importância na relação entre o tipo de proteína utilizada, a disponibilidade de alguns elementos minerais e o crescimento, apresentam habitualmente alguma variação nos resultados dos estudos que têm sido efectuados, devendo por isso ser analisados de forma cuidada na sua comparação com a experiência presente.

Os teores elevados em cálcio e fósforo na dieta podem reduzir a disponibilidade do zinco, aumentando de forma substancial os requisitos neste microelemento, necessários à obtenção de um crescimento normal (Hardy e Shearer, 1985; Satoh et al., 1987; Richardson et al., 1985). No entanto, os valores de cálcio referidos por estes autores são de quatro a sete vezes superiores aos registados na nossa experiência, condicionando por isso as conclusões a retirar.

A utilização de proteínas de origem vegetal ou animal, conjuntamente ou não, com a suplementação em zinco/metionina, não provoca diferenças significativas no crescimento dos peixes durante as primeiras quinze semanas de experiência. No entanto, seis semanas depois a diminuição das performances dos animais ingerindo as dietas constituídas por proteína vegetal, é já evidente e significativa. Este facto é importante, e reforça a ideia de que por vezes em ensaios de crescimento de duração mais limitada, esses efeitos não são evidenciados. Satoh et al.

(1983), só observam a influência da deficiência em zinco nos peixes, após 70 semanas de experiência. Este período, é por exemplo superior a um ciclo completo de produção de uma "truta dose", que se situa hoje entre os dez e os doze meses.

A presença de ácido fítico nas dietas dos peixes, afecta negativamente o crescimento e o índice de conversão alimentar (Spinelli et al., 1983; Satoh et al., 1983; Richardson et al., 1985; Satoh et al., 1989). No entanto, durante as vinte e uma semanas de ensaio, ou não se verificam diferenças significativas para o índice de conversão alimentar e coeficiente de eficácia proteica dos diversos tratamentos ou, quando se verificam, os melhores resultados são apresentados pelas dietas contendo proteínas de origem vegetal. Sendo conhecida a presença em quantidades mais elevadas de ácido fítico neste tipo de proteínas (Davies e Reid, 1979; Sauver, 1989), é de admitir que o seu teor nas dietas ZN3 e ZN4, não foi suficiente para provocar os efeitos referidos. A obrigatoriedade de utilização de tratamentos tecnológicos com o emprego de calor, nas matérias-primas utilizadas, dimimuiu fortemente a actividade dos fitatos (Davies e Reid, 1979; Duhan et al., 1989; Morris e Ellis, 1980), sendo essa a razão mais provável para explicar os resultados verificados.

A ingestão voluntária dos alimentos é fortemente reduzida para as dietas contendo proteínas de origem vegetal. Sendo o nível de energia das dietas idêntico entre si, a presença de factores de palatibilidade que afectem negativamente a

ingestão, ou a inexistência de outro tipo de factores intrínsecos à farinha de peixe, serão as hipóteses possíveis a considerar (Tacon et al., 1983; Wiseman e Cole, 1988), se bem que deva ser posto em causa a seu carácter anti-nutricional, em função dos resultados da eficiência de utilização alimentar referidos no parágrafo anterior.

Na parte final da experiência, o crescimento e a eficiência de utilização alimentar das trutas submetidas às dietas ZN3 e ZN4, sofrem uma quebra acentuada. Os valores de digestibilidade da proteína são mais elevados para estas dietas relativamente às restantes mas, pelo contrário, são significativamente mais baixos para a energia. Pelos valores bastante baixos verificados para a ingestão, é de admitir que a quantidade de energia digestível ingerida através das dietas ZN3 e ZN4 (145,3 e 159,0 kJ/Kg peixe/dia), se tornou insuficiente para a manutenção de um crescimento normal dos peixes (Cho e Kaushik, 1990).

Os teores em zinco e cálcio no plasma, são relativamente estáveis ao longo de todo o ensaio, e idênticos para todos os tratamentos experimentais. Apenas o teor em magnésio no plasma sofre uma quebra durante o último período, comum a todas as dietas. Os valores verificados para os teores em zinco, são um pouco mais elevados do que os observados por Graf e Eaton (1984) em ratos, e Gatlin e Wilson (1984), em plasma de peixe gato. Os níveis de zinco verificados por estes autores são relativamente estáveis, independentemente do seu teor na

dieta. Os nossos resultados, não confirmam assim os obtidos por Knox et al. (1982), e Richardson et al. (1985), que relacionam directamente os níveis de zinco no plasma, com o seu teor na dieta e o nível de cálcio da mesma. Conforme já referimos, na maioria destes estudos os teores em ácido fítico e em cálcio, são fornecidos de forma externa à composição das dietas, e em quantidades bastante superiores às obtidas nesta experiência, através da formulação efectuada (Nolan e Duffin, 1987; Spinelli et al., 1983; Forbs et al., 1984; Richardson et al., 1985; Richardson et al., 1986; Satoh et al., 1987;).

Tem sido geralmente aceite que uma deficiência em zinco, pode originar o aparecimento de cataratas nos peixes, bem como deformações ao nível do esqueleto (Ketola, 1979; Watanabe et al., 1980; Richardson et al., 1985,1986; Satoh et al., 1983, 1987;). Após 21 semanas de experiência, nenhum desses sintomas foi observado nos peixes alimentados com qualquer das quatro dietas experimentais. Este espaço de tempo é considerado suficiente para o aparecimento desse tipo de sintomas (Watanabe et al., 1980; Richardson et al., 1986), facto que confirma os valores indicados por Ogino e Yang (1978), para os requisitos em zinco para a truta arco-íris, bem como a disponibilidade neste mineral para as diversas fontes utilizadas.

É ao nível da composição mineral das carcaças e principalmente das vísceras das trutas, que nos aparecem algumas variações relacionadas com a dieta, e que confirmam a hipótese de Hardy et al. (1987), de que as vísceras poderão ser um bom

local de indicação da aborção de minerais pela truta arco-íris. No entanto, esta hipótese deverá ser sempre analisada com alguma reserva, dado o risco elevado de existência de resíduos de contaminação alimentar. Os teores em cálcio mais elevados das dietas ZN3 e ZN4, reflectem-se no mesmo sentido para o seu conteúdo nas vísceras, mas o mesmo tipo de variação já não é observada para o caso do magnésio. Por outro lado, verificam-se com maior frequência diferenças ao nível do teor em zinco, para as vísceras das trutas alimentadas com as dietas ZN2 e ZN4, o que parece indicar uma maior disponibilidade deste mineral quando incorporado sob forma de zinco/metionina. Esta diferença, é mais evidente entre as dietas constituídas por proteínas vegetais. Este facto, não é no entanto suficiente para se reflectir ao nível das performances de crescimento, o que está de acordo com Hardy e Shearer (1985), que referem que o aumento do zinco da carcaça provocado pelo aumento da sua concentração na dieta, não altera os resultados obtidos para o crescimento.

É assim possível afirmar que para o tipo de proteínas vegetais que são utilizadas mais correntemente em dietas para peixes, fruto do melhoramento genético e tratamento tecnológico mais recentes, não é possível explicar diferenças nas performances dos animais, através de factores relacionados com a indisponibilidade de microelementos como o zinco.

Os teores em cálcio obtidos através de uma formulação corrente baseada em proteínas animais ou vegetais, não parecem também ser suficientes para interferir na disponibilidade do

zinco.

O zinco associado à metionina, se bem que forneça alguma indicação de poder ser uma forma mais disponível do que o zinco inorgânico, não apresenta um efeito significativo para o período e zona de crescimento testados, mas poderá revelar-se interessante no seu estudo para aplicação nas dietas de outras espécies de salmonídeos mais sensíveis a este problema, e que sejam obrigados a ciclos de produção bastante mais alargados.

Em função do padrão de requisitos considerado, o balanço em ácidos aminados essenciais das dietas ZN3 e ZN4 poderá, ou não, apresentar uma deficiência relativa em lisina e metionina. No entanto, a grande variabilidade que se observa na estimativa dos requisitos em ácidos aminados essenciais na truta arco-íris (Wilson, 1989), bem como a referência à inexistência de efeitos benéficos da suplementação de proteínas vegetais com lisina e metionina (De La Higuera et al., 1988), sugerem alguma reserva na extrapolação possível de outras consequências para este facto.

Foi demonstrado que os principais problemas da utilização de proteínas vegetais em peixes carnívoros, se colocam ao nível da ingestão voluntária, sendo este um problema a justificar um tipo de estudo mais detalhado para a sua melhor compreensão.

CAPÍTULO V. EFEITO DA UTILIZAÇÃO DE PROTEÍNAS ANIMAIS OU VEGETAIS NO CRESCIMENTO DE TRUTAS ARCO-ÍRIS ESTIMADO A PARTIR DA DETERMINAÇÃO DA PROTEÍNA E ENERGIA DIGESTÍVEIS

1. Introdução

Nas experiências descritas nos três capítulos anteriores, foi utilizado um conjunto diverso de matérias-primas, que de uma forma mais ou menos frequente constituem a base da formulação de uma dieta comercial para salmonídeos.

A maioria dos ingredientes, por si só, não constitui um alimento balanceado capaz de satisfazer os requisitos da espécie de peixe a alimentar. Assim, quando se pretende avaliar o coeficiente de utilização digestiva, per si, essa determinação deverá ser efectuada pelo recurso a uma dieta de referência, de digestibilidade préviamente conhecida (Cho et al., 1985).

A utilização de uma dieta de referência, pressupõe a natureza aditiva da digestibilidade, ou seja, a inexistência de interações entre os diversos componentes durante a digestão (Cho et al., 1982; Cho e Kaushik, 1990). A formulação de uma dieta de referência, correctamente balanceada para os requisitos da espécie, bem como a padronização de um nível de ingestão e condições ambientais, serão pois factores fundamentais a considerar.

A variação da digestibilidade das dietas, é geralmente o factor que afecta mais directamente a sua utilização como fonte energética e de nutrientes para o animal, uma vez que as perdas pelas fezes são, quantitativamente, a fracção maior do total de alimento ingerido. A maioria das dietas comerciais disponíveis para peixes, apresentam perdas de energia através das fezes situadas entre os 20 e os 40 %, existindo mesmo ingredientes em que essas perdas, atingem valores que vão dos 50 aos 80 % (Cho e Kaushik, 1990). Estimando a digestibilidade de uma dieta comercial Portuguesa, Oliva Teles (1988), confirma uma perda superior a 50 % da energia do total de alimento ingerido.

Dado o atraso relativo ainda evidente da nutrição de peixes relativamente aos animais superiores, tem existido alguma dificuldade na definição de um sistema energético de referência, passível de ser utilizado na formulação das dietas para estes animais. Por norma, recorre-se aos valores habitualmente utilizados para as aves e os suínos, que nem sempre serão os mais correctos para o caso dos peixes.

Na tentativa de avaliar o valor energético dos nutrientes utilizados em dietas para truta arco-íris, Kim (1989), demonstrou que, havendo uma grande variação na tentativa de estimar a quantidade de energia bruta necessária para produzir um kilograma de peixes, esse valor é relativamente constante e independente das matérias-primas utilizadas, se quantificado em termos de energia digestível. O mesmo já não acontece de forma tão clara para a quantidade de proteína digestível, a qual está

fortemente relacionada com o teor em energia digestível da dieta e a sua contribuição para este parâmetro (Cowey et al., 1981). Assim, aumentando a concentração de energia digestível, menor é a quantidade de proteína utilizada para fins de requisitos em energia e que, por isso mesmo, é utilizada para a síntese de proteína corporal, existindo no entanto um limite óptimo para essa substituição.

Para o conjunto de todas as matérias-primas utilizadas nas experiências deste trabalho de doutoramento, foram avaliados os coeficientes de utilização digestiva da matéria seca, proteína e energia. Com base nestes valores, foram formuladas dietas de teor idêntico em proteína e energia digestíveis procurando avaliar, em condições próximas de situações de produção, o potencial de combinação óptimo das matérias-primas de origem animal e vegetal, que foram o objecto de estudo desta dissertação.

2. Material e métodos

Esta experiência foi realizada em duas fases e em duas estações experimentais diferentes. A primeira parte, em que foram determinados os coeficientes de utilização digestiva de cada uma das matérias-primas, foi efectuada no circuito automático de recolha de fezes da estação experimental da UTAD. A segunda parte, em que foi efectuado um ensaio de crescimento, baseado nos resultados obtidos na primeira fase, decorreu na piscicultura do

posto experimental de Covas, Caminha.

Em cada um dos tanques do circuito de digestibilidade, foram colocadas vinte trutas com cerca de 80 g de peso vivo. Os peixes foram adaptados ao circuito durante quinze dias, alimentados com uma dieta comercial, após o que era iniciado o fornecimento da dieta experimental e a recolha das fezes de acordo com o processo indicado na metodologia geral. Cada dieta foi fornecida a três lotes diferentes de peixes.

Para a determinação da digestibilidade das matérias-primas, foi formulada uma dieta de referência (tabela 53), balanceada de acordo com os requisitos estimados para a truta arco-íris, segundo a metodologia indicada por Cho et al. (1985). Determinados os coeficientes de utilização digestiva da dieta referência, efectuou-se a sua mistura com cada uma das matérias-primas a testar, numa proporção de 70 para 30 %, respectivamente. De seguida era determinada a digestibilidade da mistura efectuada. A digestibilidade das matérias-primas era calculada de acordo com a formula seguinte:

CUD mat.prima (%)= (CUD mistura - 0,7xCUD dieta refer.) : 0,3

De forma a confirmar a fiabilidade do valor de 30 % de incorporação da matéria-prima a testar na mistura (Cho et al., 1985), foi efectuado um teste com 20 % de incorporação, para um dos ingredientes em que a probabilidade de efeitos de interacção entre nutrientes fosse maior. Dado o seu teor elevado em fibra, foi escolhida a cultivar *Lupinus angustifolius* do treomoço doce.

Avaliada a digestibilidade da matéria seca, proteína e energia, dos diversos ingredientes utilizados ao longo das experiências anteriores, efectuou-se então a formulação das quatro dietas a testar em ensaio de crescimento. Em cada uma das dietas formuladas, foi variando a relação proteína animal/proteína vegetal. Assim a dieta C0 continha 100% de proteínas de origem animal, enquanto a dieta C100 continha 100% de proteínas de origem vegetal. As dietas C33 e C66, eram constituídas por 33 e 66% de proteína vegetal, respectivamente, sendo o conteúdo proteico restante de origem animal.

As quatro dietas foram formuladas com o recurso ao programa QSB, tendo como objectivo manter constantes os teores em proteína e energia digestíveis. A preparação das dietas foi efectuada de acordo com o descrito na metodologia geral, estando a sua composição indicada na tabela 55.

Em doze tanques de crescimento foram distrubuídas, ao acaso, 240 trutas arco-íris com um peso médio inicial de 54,5 ± 4,6 g, o que, de acordo com o volume de água de cada tanque, originava uma carga previsível no final da experiência de cerca de 20 a 25 Kg de peixe por 1000 litros de água. Esta carga é considerada como a média de ocupação de uma piscicultura em regime intensivo (Cachafero, 1984).

Cada uma das dietas foi assim avaliada em triplicado, durante um período de oito semanas. Os alimentos foram

distribuídos em duas refeições diárias, em regime *ad libitum*. A temperatura da água oscilou entre os 14 e os 16 ºC durante toda a experiência.

Tabela 53. Composição alimentar e composição química da dieta referência

Ingrediente	**%**
Farinha de peixe	40
Farinha de carne	7
Soja tostada integral	15
Gluten de milho	10
Farinha de trigo	18
Óleo fig. bacalhau	6
Mistura Min.Vitamínica	1
Óxido de crómio	1
Ligante	2
Matéria seca (MS)	89,9
Proteína bruta (Nx6,25) (%MS)	46,7
Gordura bruta (%MS)	11,2
Energia bruta (KJ/gMS)	20,3
Cinzas (%MS)	10,3

3. Resultados

3.1. Coeficientes de utilização digestiva das matéria-primas

De um modo geral, os coeficientes de utilização digestiva da matéria seca, proteína e energia das matérias-primas utilizadas, são relativamente elevados, em especial para os ingredientes de origem animal (tabela 54).

As duas farinhas de peixe testadas, apresentam entre si, uma diferença clara na sua utilização digestiva pelos peixes, em especial no que se refere à utilização da fracção energética. A farinha de carne, apresenta uma digestibilidade muito elevada de todos os nutrientes.

De entre as proteínas vegetais, o gluten de milho, a colzapro e a soja integral, são aquelas que apresentam coeficientes de utilização digestiva mais elevados. Os valores encontrados para a ervilha, tremoço e feverol, são idênticos entre si. A digestibilidade da dextrina, é também muito alta, sendo os valores relativos ao triticale, os mais baixos de entre as matérias-primas usadas.

A utilização de 20 ou 30 % de tremoço, não altera de forma pronunciada os coeficientes de utilização digestiva.

Tabela 54. Coeficientes de utilização digestiva da matéria seca, proteína e energia das matérias-primas usadas

INGREDIENTE	MS	PROTEÍNA	ENERGIA
		%	
Farinha de peixe 89	89,4	92,3	93,8
Farinha de peixe 90	78,0	86,6	69,7
Farinha de carne	94,1	90,8	92,1
Tremoço	63,3	85,5	61,2
Ervilha	66,1	80,4	59,2
Feverol	66,1	80,2	60,2
Gluten de milho	90,7	95,3	91,8
Soja integral	75,4	86,4	80,2
Dextrina	87,5	----	88,2
Triticale	60,8	80,3	60,4
Colzapro	89,6	94,5	87,2
Tremoço*	67,6	89,3	60,2

* - CUD determinado com 20 % de incorporação

Tabela 55. Composição alimentar e composição química das dietas usadas na experiência de crescimento

	C0	C33	C66	C100
Tremoço doce	----	----	3,0	2,5
Feverol	----	2,7	5,4	6,9
Ervilha	----	4,0	----	----
Gluten de milho	----	13,2	25,0	38,0
Soja integral	----	8,3	22,4	32,4
Colzapro	----	0,9	----	----
Farinha de carne	9,4	----	----	----
Farinha de peixe	52,8	40,5	20,0	----
Dextrina	30,8	23,4	17,2	13,2
Óleo de fig. bac.	4,0	4,0	4,0	4,0
Mist.Min.Vit.	1,0	1,0	1,0	1,0
Ligante	2,0	2,0	2,0	2,0
Lisina	----	----	0,5	1,0
Metionina	----	----	0,2	0,25
Matéria seca (MS)	92,5	91,7	91,0	90,7
Proteína (Nx6,25) (%MS)	43,1	42,7	44,7	45,2
Gordura bruta (%MS)	8,5	8,9	11,1	12,7
Energia (KJ/gMS)	21,6	22,1	22,7	23,1
Cinzas (%MS)	12,4	10,0	8,0	4,7
Prot. digestível*	39,5	38,5	38,7	38,5
Energia digestível*	19,3	19,0	19,0	19,0

* - Valores calculados a partir dos resultados da tabela 54

3.2. Crescimento e eficiência de utilização dos alimentos

O ganho de peso e a taxa de crescimento específico das dietas contendo de 0 a 66 % de proteínas vegetais (C0, C33 e C66), não apresentam diferenças significativas entre si ($p > 0,05$). Pelo contrário, estes parâmetros sofrem um decréscimo significativo para os peixes alimentados com a dieta C100 ($p < 0,01$) (tabela 56, figura 23).

Da mesma forma, a ingestão voluntária dos alimentos sofre uma redução significativa na dieta C100, relativamente a todas as restantes ($p < 0,01$).

Para o índice de conversão alimentar e coeficiente de eficácia proteica, não se verificam diferenças estatisticamente significativas entre os quatro tratamentos experimentais ($p > 0,05$).

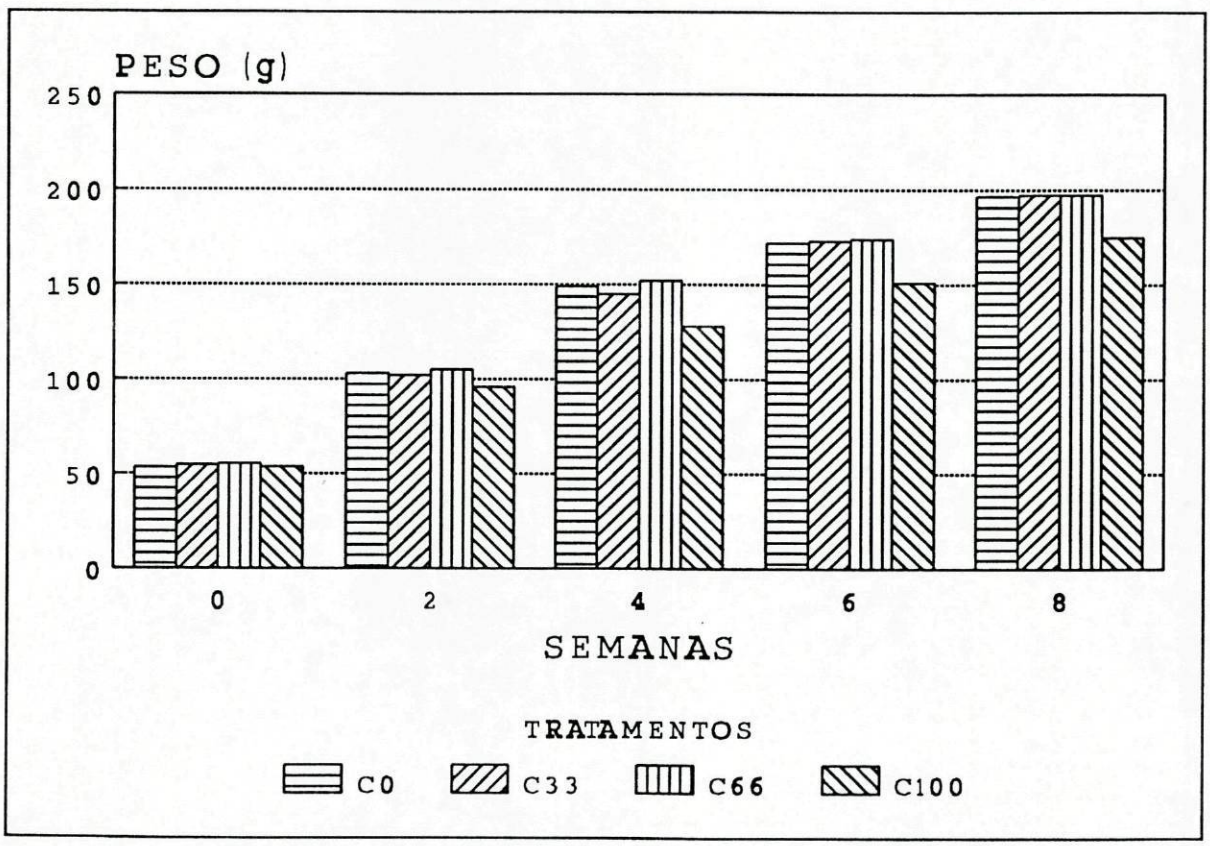
Tabela 56. Crescimento e eficiência de utilização alimentar das dietas usadas *

(8 semanas; 15 ºC; *ad libitum*)

	C0	C33	C66	C100
Peso inicial (g)	53,5	54,8	55,5	53,9
Peso final (g)	196,5	197,3	197,3	175,0
Ganho de peso (g)	143,0[a]	142,5[a]	141,8[a]	121,1[b]
TCE[1]	2,71[a]	2,68[a]	2,63[a]	2,42[b]
IC[2]	1,04	1,09	1,01	1,06
CEP[3]	2,24	2,15	2,25	2,18
IV[4]	4,86[a]	4,90[a]	4,32[a]	3,72[b]

1. Taxa de crescimento específico; **2.** Índice de conversão alimentar; **3.** Coeficiente de eficácia proteica; **4.** Ingestão voluntária. *****. Valores situados na mesma linha, com expoentes diferentes, são estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,01$).

Figura 23. Evolução do peso médio das trutas arco-íris (8 semanas; 15 ºC; *ad libitum*)



4. Discussão

O conhecimento da digestibilidade dos diversos ingredientes passíveis de ser incorporados em dietas para peixes, é um factor fundamental para a obtenção de uma dieta capaz de satisfazer os requisitos dos animais. O facto de os peixes viverem num meio, a água, que funciona ao mesmo tempo como veículo de nutrientes e de produtos de excreção, dificulta a tarefa de recolha das fezes, operação indispensável para a determinação dos coeficientes de utilização digestiva. Os métodos directos, que pressupõem a recolha integral das fezes, são assim pouco utilizados, dada a sua dificuldade de execução prática. O recurso ao método indirecto, com a utilização do óxido de crómio como marcador externo, é pois o processo habitualmente usado em nutrição de peixes. De entre os métodos de recolha das fezes, o "sistema Choubert" (Choubert et al., 1982), e o "sistema Cho", são considerados como os mais aperfeiçoados (Talbot, 1985, Spyridakis et al., 1988; Nose, 1989).

A extrapolação para 100%, da variação obtida pela incorporação de 30 % do ingrediente a testar à dieta de referência, é a base de cálculo da digestibilidade, e pressupõe, a sua natureza aditiva e variação linear com a taxa de incorporação (Cho et al., 1982; Cho e Kaushik, 1990). No entanto, uma forte crítica a esta metodologia é referida por Spyridakis et al. (1988), que verificam por exemplo uma depressão acentuada na digestibilidade da proteína da soja, à medida que o seu teor na dieta aumenta (de 19 para 58 %). Estes autores concluem que,

em vez de um só valor de substituição, os coeficientes de utilização digestiva deveriam ser calculados por regressão, com um mínimo de três pontos estimados. O trabalho de Spyridakis et al. (1988), comete no entanto alguns erros básicos que alteram substancialmente as conclusões a retirar. Na dieta referência os valores da farinha de peixe variam entre 25,7 e 51,4 %, e a celulose entre 1,5 e 7,1 %. Assim sendo, a digestibilidade da proteína da soja em função do seu teor na dieta, não foi estimada em relação a uma dieta referência, mas sim a um conjunto de dietas completamente diferentes. A metodologia referida por Cho et al. (1979), e consolidada pelo seu grupo de investigação ao longo de vários anos, é de grande fiabilidade, o que é confirmado no teste por nós efectuado nesta experiência com um ingrediente, o tremoço, cuja composição seria susceptível de provocar alguma hipotética interacção entre os diversos nutrientes da dieta, em função do seu teor na mesma.

A digestibilidade das farinhas de peixe utilizadas durante as diversas experiências realizadas, apresenta uma variação considerável, em especial para o valor da energia.

Segundo Gouveia (1989), o índice de ácidos aminados essenciais pode ser um bom indicador da qualidade das farinhas de peixe, o que é suportado pela referência de Nose (1989), de que o crescimento dos peixes aumenta numa relação directa com o índice de ácidos aminados essenciais da dieta. No entanto, Kaushik (1990), refere que o índice de ácidos aminados essenciais das farinhas de peixe, não coloca problemas de desiquilíbrio em

relação aos requisitos dos peixes, e que essa não será a razão principal da variação da qualidade das farinhas de peixe.

De facto, não nos parece também ser as diferenças no perfil em ácidos aminados das farinhas de peixe (tabela 9), a explicar a variação observada na digestibilidade. A relação entre o teor excessivo em cinzas da farinha de peixe com valores de CUD da energia mais baixos, é uma hipótese mais sólida e habitualmente referida por diversos autores, como factor de abaixamento da qualidade, quando presente em teores elevados (Cho, 1980; Windsor e Barlow, 1981; Hilton, 1981; NRC, 1981;). Por outro lado, embora tivesse havido o cuidado de obter sempre farinhas de laboração recente, o desconhecimento do estado de frescura do peixe utilizado, pode condicionar bastante as conclusões a retirar (Goldhor e Regenstein, 1987). Haverá ainda a referir que o teor em proteína não parece ser nas farinhas de peixe nacionais, um indicador seguro da sua utilização digestiva pelos peixes (Gouveia, 1989).

Assim, de acordo com os valores indicados na tabela 54, apenas uma das farinhas de peixe utilizadas apresenta coeficientes de utilização digestiva, próximos do que é normalmente aceite para as farinhas de boa qualidade (Watanabe et al., 1983; Wojno e Dabrowska, 1984; Andorstottir et al., 1989).

Os coeficientes de utilização digestiva da farinha de carne são bastante elevados e de acordo com os valores que Cho

et al. (1982) e Cho e Kaushik (1990), referem para este ingrediente. Os resultados destes autores, são ligeiramente inferiores aos verificados no nosso trabalho, o que é explicado pelo facto de o teor em cinzas mais elevado da farinha de carne utilizada, sendo mais correcta a designação de farinha de carne-e-osso, que provoca um decréscimo no conteúdo proteico, bem como no valor nutritivo global da matéria-prima. No entanto, a qualidade das farinhas de carne é muitas vezes afectada mais por parâmetros ligados às características microbiológicas do produto, do que à sua composição química. Este facto, origina variações frequentes no valor nutritivo das farinhas de carne, sendo assim possível de encontrar valores de digestibilidade mais baixos, como por exemplo os referidos no NRC (1981).

De entre as matérias-primas de origem vegetal, o gluten de milho e a colzapro são as que apresentam coeficientes de utilização digestiva mais elevados, situando-se os valores da soja integral ligeiramente abaixo. se o gluten de milho e a soja, são duas das proteínas vegetais que demonstram maior potencial na sua utilização pelos peixes, com valores de digestibilidade frequentemente elevados (NRC, 1981; Cho et al., 1982; Nose, 1989; Cho e Kaushik, 1990), a colzapro é um produto recente, resultante da aplicação de novas tecnologias de tratamento térmico. O efeito benéfico da extrusão na eliminação de factores anti-nutritivos, bem como a sinergia da associação de ingredientes diversos, são aqui claramente demonstrados (Tacon e Jackson, 1985; Melcion et al., 1988; Kaushik, 1989). Os valores de digestibilidade da colzapro obtidos, são assim manifestamente superiores aos valores

anteriormente referidos para as diversas veriedades de colza testadas em peixes (Cho et al., 1982; Hilton e slinger, 1986; Abdou et al., 1990).

O tremoço a ervilha e a feverol, apresentam valores de digestibilidade sensivelmente idênticos, sendo componentes de qualidade aceitável para incorporar dietas de salmonídeos, mesmo sem a aplicação de qualquer tipo de tratamento térmico. A referência a valores de digestibilidade em peixes neste tipo de ingredientes, é inexistente na literatura, havendo apenas os valores obtidos com a luzerna desidratada, habitualmente mais baixos. No entanto, o valor elevado de digestibilidade *in vitro* da proteína de vicia faba, observado por Grabner e Hofer (1985), parece assim sofrer uma confirmação nestes resultados *in vivo*.

Se a dextrina confirma os valores elevados esperados para a sua digestibilidade, o tritricale apresenta igualmente coeficientes de utilização digestiva muito interessantes, para uma fonte de energética sem tratamento térmico prévio, confirmando assim os bons resultados obtidos na experiência de crescimento, especialmente quando foi utilizado triticale sujeito a pré-cozedura.

A transferência dos resultados de digestibilidade obtidos, de acordo com as teorias mais recentes sobre a utilização das fracções de proteína e energia digestíveis (Cowey et al., 1981; Cho e Kaushik, 1985, 1990; Kaushik e Oliva Teles, 1985, Kim, 1989), para uma experiência de crescimento em situação

próxima das condições de produção, não deve ser efectuada de uma forma absolutamente linear. De facto, em termos teóricos poderíamos esperar que para dietas com o mesmo nível em energia digestivel, o crescimento observado fosse idêntico (Kim, 1989). Para além disso, a contribuição da proteína para o total da energia digestível da dieta, situou-se dentro dos parâmetros de optimização (cerca de 60 %), indicados por Cowey et al. (1981) e Cho e Woodward (1988). No entanto, e se ao nível da eficiência de utilização dos alimentos se verificou uma equivalência das dietas, independentemente da maior ou menor percentagem de proteínas vegetais ou animais, o factor ingestão voluntária, já evidenciado na experiência do capítulo anterior, condicionou de forma clara as performances obtidas pelos animais. Assim, a possibilidade de com dietas de concentração em energia digestível idêntica, ser possível obter crescimentos idênticos, variando a origem e tipo de matérias-primas utilizadas, é restringida em peixes carnívoros, por factores intrínsecos à origem dos alimentos, os quais reduzem a sua ingestão e inviabilizam por isso esse objectivo.

Fica no entanto demonstrado, que para o tipo de farinhas de peixe existentes no mercado nacional, a utilização em percentagem substancial de proteínas vegetais de boa qualidade, não reduz as performances dos animais, nem origina o aparecimento de qualquer outro tipo de factores carenciais.

Em conclusão, poderemos dizer que existe um leque vasto de matérias-primas alternativas que poderão substituir de

uma forma, pelo menos parcial, a farinha de peixe disponível no mercado nacional. Este facto, tende a ser reforçado com o aparecimento de novos tipos de ingredientes, fruto do recurso à utilização dos tratamentos tecnológicos mais recentes. Dentro de um contexto de produção intensiva, haverá no entanto que referir que, excluído o caso dos salmonídeos, é necessário reforçar a informação escassa que existe relativamente a outras espécies, em especial às de águas temperadas. De um ponto de vista nutricional, é hoje possível dizer-se nos peixes, que as restrições impostas pelas condicionantes económicas à formulação dos alimentos compostos comerciais, serão possíveis de ultrapassar sem prejuízo da qualidade do alimento final obtido.

III. CONCLUSÕES GERAIS

A demonstração do potencial de utilização das proteaginosas como proteínas alternativas, a importância dos tratamentos tecnológicos na utilização das fracções proteica e energética, as consequências digestivas e metabólicas das variações da composição alimentar e as implicações práticas destes factores nas condições de produção, foram os objectivos que se pretendeu evidenciar de forma mais exaustiva.

Em função dos resultados obtidos e da discussão efectuada ao longo dos diversos capítulos, cremos ser importante realçar as conclusões seguintes:

1. A metodologia utilizada para os estudos de crescimento de uma proteína de substituição da farinha de peixe, é fortemente influenciada pela qualidade da proteína de referência. Neste trabalho, a oscilação da qualidade da farinha de peixe, interfere directamente nas conclusões relativas a retirar sobre o valor nutritivo de cada uma das matérias-primas testadas;

2. Foi uma vez mais demonstrada a oscilação anormal da qualidade das farinhas de peixe nacionais, quer do ponto de vista da composição química, quer ainda do seu valor nutritivo. Esta variação tem consequências directas na utilização da fracção

proteica, indicada pelo nível de excreção de amónia. Verifica-se igualmente uma variação significativa nos valores de digestibilidade da energia;

3. Os resultados deste trabalho demonstraram que as proteaginosas testadas (tremoço, ervilha e feverol), são componentes promissores das dietas para truta arco-íris, com ou sem a aplicação de tratamentos térmicos prévios;

4. O tratamento pelo calor em meio húmido é igualmente benéfico na utilização de cereais como fonte de energia glucídica sendo, nesse caso, o triticale um ingrediente passível de ser incorporado com sucesso nas dietas de truta arco-íris;

5. Para além do tratamento térmico em si, ficou demonstrada a possibilidade da existência de um efeito sinérgico, resultante da associação de matérias-primas de composição diferente, tais como por exemplo a colza integral e a ervilha. O estudo realizado com a mistura extrudida "colzapro", apresenta um efeito benéfico evidente para este tipo de proteínas;

6. Satisfeitos os requisitos em ácidos gordos essenciais, os óleos de origem vegetal, são fontes energéticas bem utilizadas pela truta arco-íris. No entanto, em consequência da influência directa da composição da dieta no perfil em ácidos gordos do músculo, haverá que ter em atenção os efeitos possíveis ao nível da "qualidade da carcaça";

7. A utilização de um critério histológico para a observação de possíveis alterações ao nível da tiróide, provocadas pela ingestão de glucosinolatos contidos na "colzapro", não se revelou minímamente conclusiva. O teor muito baixo em glucosinolatos das dietas, devido ao tratamento térmico, será uma das razões para este insucesso. No entanto, estudos mais detalhados em que seja efectuada a sua comparação com a medida directa dos níveis hormonais de T3 e T4 no plasma, deverão contribuir para uma confirmação mais pormenorizada;

8. A formulação de dietas contendo proteínas de origem animal ou vegetal, baseda nas matérias-primas testadas neste trabalho e que representam a base das dietas comerciais para peixes, não é suficiente para provocar deficiências em microelementos minerais, tais como o zinco. Do mesmo modo e para o tipo de formulação utilizada, não existem efeitos de interação negativos entre os níveis de cálcio da dieta e a disponibilidade do zinco e magnésio da mesma;

9. Sendo reconhecida a importância da medida directa da digestibilidade das diversas matérias-primas, disponíveis no mercado e passíveis de ser incorporadas em dietas para peixes, foi efectuada a determinação dos coeficientes de utilização digestiva de todas as matérias-primas usadas;

10. Da utilização extreme de proteínas de origem vegetal em substituição das proteínas animais, nas dietas para truta arco-íris, não resulta qualquer efeito patológico visível nos animais. No entanto, as performances dos peixes são afectadas negativamente pela utilização exclusiva de proteínas de origem vegetal, devido ao decréscimo pronunciado que se verifica na ingestão voluntária dos alimentos. Esta quebra verifica-se, pese embora o facto de as dietas possuirem o mesmo teor em energia digestível;

11. Em conclusão poderemos afirmar que existe uma gama relativamente variada de matérias-primas de origem vegetal que são componentes promissores para incorporar em dietas para truta arco-íris, sem provocar quebras no crescimento e o aparecimento de patologias devidas à presença de factores anti-nutricionais. No entanto, será necessário continuar a realização de estudos de natureza fisiológica mais fundamental, que possam explicar a origem e natureza dos mecanismos responsáveis pelos efeitos depressivos na ingestão voluntária dos alimentos;

De um ponto de vista do desenvolvimento da aquacultura intensiva em Portugal, com a necessária evolução em paralelo da indústria de alimentos compostos para peixes, a persistência da má qualidade das farinhas de peixe disponíveis, bem demonstrada ao longo dos últimos cinco anos, poderá representar por si só um factor de estrangulamento a este desenvolvimento. A consciencialização da necessidade do fabrico de alimentos compostos para peixes segundo critérios mínimos de qualidade, torna-se cada vez mais urgente. De facto, segundo o tipo de produção actualmente existente, o recurso em exclusivo à importação de farinhas de peixe será obrigatório, com a perda de competividade inevitável, quer da produção de rações quer da aquacultura. A alternativa de persistir na manutenção da situação actual, será por si só suficiente para inviabilizar o desenvolvimento da produção industrial de alimentos para peixes, bem como de contibuir para um prolongar excessivo da situação de estagnação da aquacultura em Portugal.

III. SUMMARY

The demonstration of the potencial utilization of alternate protein sources, the importance of the technological treatments on energy and protein utilization, the digestive and metabolic consequences of dietary changes and finally the pratical implications under production conditions, were the objectives that we intended to study in detail.

Based on the results obtained and on the discussion of the different chapters, we can put forward the following conlusions:

1. The methodology utilized on growth studies to test an alternative to fish meal is clearly influencied by the quality of the reference protein itself. The possible variations in the fish meal quality have some direct infleunce on the relative conclusions about the nutritive value of the different raw materials tested;

2. The abnormal variation in chemical composition and nutritive value of the locally produced fish meal is demonstrated once again. This variation provokes significant differences on nitrogen balance, specially on the rate of ammonia excretion. This leads also to large variations in digestibility energy values;

3. Results show that legume seeds (lupin seed meal, peas and faba bean), are promising components for inclusion in rainbow trout diets, with or without preliminary thermal treatments;

4. The cooking treatment has also a beneficial effect on cereal utilization as a source of carbohydrate energy and in this case, triticale was an interesting ingredient to incorporate in rainbow trout diets;

5. It was also demonstrated the possibility of the existence of an sinergic effect that results from the association of raw materials with different chemical composition, like full-fat rapseed and peas. The study realized with a co-extruded product like "colzapro" suggested a clear improvement of nutritive value of this type of proteins;

6. Once the requirements for essential fatty acids are met, vegetable oils are good energy sources well utilized by rainbow trout. Nevertheless, in consequence of the direct effect of diet composition on muscle fatty acid profile, the potential effects on the quality of fish flesh needs more attention;

7. The histological crieria for the observation of possible alterations at thiroide folicules provoked by the ingestion of glucosinolates provied by "colzapro" were not conclusive. The low glucosinolate content of the diets, due the extrusion treatment of the raw material was one probable reason for such a lack of effect, but more detailed and confirmatory sudies based on the direct measurement of plasma levels of T3 and T4 hormones are needed;

8. The diet formulation with vegetable or animal proteins, based on the raw materials utilized in this work, which represent the major constituents of the commercial fish diets, was not enough to provoke deficiencies on micronutrients like zinc. In the same way no evidence for a negative effect of the dietary calcium interaction with zinc or magnesium availability for rainbow trout was also demonstrated;

9. Reconizing the importance of digestibility measurement of feed ingredients, data were obtained for different raw materials available in the market and utilized in this work;

10. The utilization of vegetable ingredients as the only protein source instead of animal proteins, does not provoke any pathological effects on rainbow trout. However, fish performances were negatively affected with diets containing only vegetable

proteins because of a significant effect on voluntary feed intake. This decrease was seen despite the same levels of digestible energy in all diets;

11. In conclusion, we can affirm that a different kind of vegetable raw materials, are promising ingredients to incorporate in rainbow trout diets without decrease on growth and without pathological signs provoked by the ingestion of anti-nutritional factors. Nevertheless, more fundamental studies are necessary to explain the origin and nature of the mechanisms responsible for the depressive effects on voluntary intake.

From a view point of the development of intensive aquaculture in Portugal, with the necessary and simultanius development of industrial fish feeds, the persistence of bad quality of fish meals (tested for fish diets over the last five years), can represent indeed a negative fact which in itself is probably enough to strangle this development. It is urgent to change this situation and start fish feed production in Portugal with a minimum quality criterium. Instead of this, the exclusive utilization of imported fish meals can compromise industrial feeds and aquaculture competitivity. The maintenance of status quo will inviablize the increase of indigenous industrial production of fish feeds and hence lead to stagnation of portuguese aquaculture.

IV - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOU, B.D., AGUIRRE, P., BLANC, D. et KAUSHIK, S., 1990. Incorporation du colza 00 sous forme de torteau ou d'amande dans les aliments de la truite arc-en-ciel: performance zootechnique et digestibilité. Bull. Française Pisciculture, Vol. 317: 50-57;

AKIYAMA T., MURAI T., HIDRASAWA J., NOSE T., 1984. Supplementation of various meals to fish meal diets for chum salmon fry. Aquaculture,Vol. 37: 217-223;

AKIYAMA D., 1988. Soybean meal utilizaton in fish feeds.Korean Feed Assoc. Conf. Seoul, Korea. American Soybean Association;

ALEXIS, M., PAPAPARASKEVA-PAPOUTSOGLOU, E. and TEOCHARI, V., 1985. Formulation of pratical diets for rainbow trout (Salmo gairdneri) made by partial or complete substitution of fish meal by poultry by-products and certain plant by products. Aquaculture, Vol. 50: 61-73;

ANDORSTOTTIR, G., STOREBAKKEN, T., and AUSTRENG, E., 1989. Fish meal quality, methionine supplementattion and fat levels in diets for fingerlings of Atlantic Salmon. Aquaculture,

ANGLESEA, J.D. and JACKSON, A.J., 1985. Thiaminase activity in fish silage and moist fish feed. Animal feed Science and Technology, Vol. 13: 39-46;

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS (A.O.A.C.), 1975. Official methods of analysis, 12ª edição, Washington, Dc.

APPELQVIST, L.A. and OHLSON, R., 1972. Rapeseed: cultivation, composition, processing and utilization. Elsevier Pub. Co., Amesterdan;

ASGARD T., AUSTRENG E., 1985. Dogfish offal, ensiled or frozen, as feed for salmonids. Aquaculture, Vol.49: 289-305;

AUSTRENG, E., 1979. Muligheten av a utnytte avfallsstoffer i fiskeproduksjonen. Norsk Fiskeoppdrett, Vol. 4 (4): 4-7 and Vol. 4 (5): 4-7;

AUSTRENG, E., 1982. Aktuelt fra statene fagtjeneste I landbruket (husdyrforsoksmotet 1982). Norwergian Agricultural University, 525 pp.;

BARLOW, S, and PIKE, I.H., 1977. The role of fat in fish meal in pig and poultry nutrition. Technical Bulletin of The International Association of Fish Meal Manufacters, Nº4: 1-38;

BARLOW S., WINDSOR M., 1984. Fishery by-products. Technical Bulletin of The International Association of Fish Meal Manufacturers, Nº19, September;

BARRY, T.N. and MANLEY, 1986. Interrelationships between the concentrations of total condensed tannin, free condensed tannin and lignin in Lotus sp. and their possible consequences in ruminant nutrition. Journal of the Science of food and Agricultural, Vol. 37: 248-254;

BECK, H., GROPP, J., KOOPS, H. and TIEWS, K., 1979 . Single cell protein in trout diets. Finfish Nutrition and Fishfeed Technology. J. Halver and K. Tiews (editors), Vol. 2: 269-281;

BECK, H. and GROPP, J., 1979. Zur verwendung von raps, lupine und ackerbohne im forellenfutter. Inf. Fischwirtsch., Vol. 26 (1): 30-31;

BELL, J.M., 1984. Nutrients and toxicants in rapeseed meal : a review. Journal of Animal Science, Vol. 58 (4): 996-1010;

BELLIDO, L., 1980. Estado actual del lupino en el mundo. Proceedings of the First International Lupine Workshop, Lima, Peru, 12-21 Abril 1980;

BENE, W., ABBEY, R., NEALE, J. and NORTON, G., 1979 I. Nutritional effects of field bean (Vicia faba L.) proteinase inhibitors fed to rats. Brit. J. of Nutrition, Vol. 41: 31-37;

BENE, W., ABBEY, R., NORTON, G. and NEALE, J., 1979 II. Effects of dietary proteinase inhibitors from field bean (Vicia faba L.) and field-bean meal on pancreatic function in the rat. Brit. Journal of Nutrtition, Vol. 41: 39-45;

BERGOT, F., 1979. Carbohydrates in rainbow trout diets: effects of the level and source of carbohydrates and the number of meals on growth and body composition. Aquaculture, Vol. 18: 157-167;

BERGOT, F. e BREQUE, J., 1983. Digestibility of starch by rainbow trout: effects of the physical state of starch and of the intake level. Aquaculture, Vol.34: 203-212;

BERNARD, M. et GUEDES PINTO, H., 1983. Etude comparative de quelques cultivars de blé, seigle et triticale dans le Nord du Portugal. II. Adaptation du matérial vegetal au milieu. Agronomie, Vol. 3 (8): 723-733;

BIXLER, E., SCHAIBLE, P.S. e BANDEMER, S., 1986. Preliminary studies on the nutritive value of triticale as chicken feed. Bull. Michigan Agric. Exp. State Univers. Vol.50 (3), 276.

BOUCHEZ, P., 1990. Biotechnology: Use of hydrolityc enzymes in pre-processing of feedstuffs. Proceedings of the International Symposium in Feeding Fish in Our Water, University of Guelph, Ontario, Canadá. In press;

BOURDON, D. E PEREZ, J.M., 1982. Valeur nutritive du triticale pour le porc: comparaison avec le blé, le seigle et un mais riche en protéines. Journées Rech. Porcine en France, INRA, ITP ed, Paris, 14: 223-230;

BOURDON, D. et BAUDET, J., 1983. Valeur nutritive et possibilités d'utilisation du torteau de colza zérothio dépelliculé pour le porc à l'engrais. 6th Congtés International sur le Colza. Paris, 17-19 Mai;

BOURDON, D., 1985. Perspectives d'utilisation des nouveaux torteaux de colza à basse teneur en glucosinolates et depellicules chez les monogastriques, porcs à l'engrais et poulet de chair. Colloque Tourteaux de Colza, "L'enjeu", Paris, pp. 242-254;

BOURDON, D., 1989. Les noveaux colzas à basse teneur en glucosinolates: composition chimique et valeur nutritive des torteaux et graines pour le porc. INRA, Prod. Anim. Vol. 2(4): 267-273;

BOWEN, S.H., 1987. Dietary protein requirements of fishes - a reassessment. Can. Journal Fish. Aquatic Sciences, Vol. 44: 1995-2001;

BRAGG, D.B., e SHARBY, T.F., 1970. Nutritive value of triticale for broiler chick diets. Poultry Science, Vol.49: 1022-1027;

BRILLOUET, J.M., 1984. Carbohydrates of lupin seed. Actes 3º Congrés International du Lupin, La Rochelle, France, pp.365-383;

BUDDINGTON, R.K., 1979. Digestion of an aquatic macrophyte by tilapia zilli (Gervais). Journal of Fish Biology, Vol. 15: 449-455;

BUDDINGTON, R.K. and HILTON, J., 1987. Intestinal adaptations of rainbow trout to changes in dietary carbohydrate. American Journal Physiol. 253 (Gastrointest. Liver Physiol.16): G489-G496;

CAMPBELL, L.D., 1987. Intact glucosinolates and glucosinolate hydrolisis products as causative agents in liver hemorrhage in laying hens. Nutrition International reports, Vol. 36 (3): 491-496;

CHOUBERT, G., DE LA NOUE, J. and LUQUET, P., 1979. Continous quantitative automatic collector for fish feces. Progressive Fish-culturist. Vol. 41 (2): 64-67;

CHOUBERT, G., DE LA NOUE, J. e LUQUET, P., 1982. Digestibility in fish: improved device for the automatica collection of feces. Aquaculture, Vol.29: 185-189;

CIVERA, R. and GUILLAUME, J., 1989. Effect of sodium phytate on growth and tissue mineralization of Penaeus Japonicus and Penaeus vannamei juveniles. Aquaculture, Vol. 77: 145-156;

CHEFTEL, J.C., 1986. Nutritional effects of extrusion-cooking. Food Chemistry, Vol. 20: 263-283;

CHO, C.Y., BAYLEY, H. and SLINGER, S.J., 1974. Partial replacement of the herring meal and other changes in a diet for rainbow trout (Salmo gairdneri). Journal Fish. Res. Board Canad., Vol. 31(9): 1521-1528;

CHO, C.Y. and SLINGER, S.J., 1979. Apparent digestibility measurement in feedstuffs for rainbow trout. Proceedings World Symp. on Finfish Nutrition and Fish-Feed Technology, Vol. II: 239-247;

CHO, C.Y., 1980. Recent advances in the diet formulation and the nutrition of salmonid fishes - type of fat and its quality. Proceedings of the Sixteenth Annual Nutrition Conference for Feed Manufacturers, Guelph: pp 23-27;

CHO, C.Y., SLINGER, S.J. e BALEY, H.S., 1982. Bioenergetics of salmonid fishes: energy intake, expenditure and productivity. Comp. Biochemestry and Physiology, Vol.73(B): 25-41;

CHO, C.Y., COWEY, C. and WATANABE, T., 1985. Finfish nutrition in Asia. Methodological approaches to research and development. International Developmente Research Centre, Ottawa, Canadá K1G 3H9;

CHO, C.Y. and KAUSHIK, S., 1985. Effect of protein intake on metabolizable and net energy values of fish feeds. Nutrition and Feeding in Fish. C. B. Cowey, A. Mackie and J. Bell (editors). Academic Press, London, pp. 95-117;

CHO, C.Y., 1987. Studies on nutritional energeticas and protein utilization in rainbow trout (Salmo gairdneri Richardson). Tokyo University of Fisheries, Fish Nutrition Laboratory, Japan. 160 pp.;

CHO, C.Y. and WOODWARD, B., 1988. Studies on the protein-to-energy ratio diets for rainbow trout (Salmo gairdneri). Energy Metabolis of Farm Animals. Proceedings of the IIth Symposium, Lunteren, Netherlands. EAAP Publication, Nº 43: 37-40;

CHO, C.Y., and KAUSHIK, S., 1990. Nutritional Energetics in Fish: energy and protein utilization in rainbow trout (Salmo gairdneri). World Review of Nutrition and Dietetics, Vol. 61: 132-172;

CHO, C.Y., HYNES, J., WOOD, K. and YOSHIDA, H., 1990. Biological and chemical estimates of fish culture waste and its control through formulation of high nutrient-dense diets. Proceedings of the International Symposium in Feeding Fish in Our Water, University of Guelph, Ontario, Canadá. In press.

COELHO, J.F., 1984. Nutrição de truta arco-íris: Valor nutritivo de farinha de carne. Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias, Vol. LXXIX, Nº 472: 269-280;

COWEY C., SARGENT J., 1972. Fish nutrition. Adv. mar. biol., Vol.10: 383-492;

COWEY, C.B., COOKE, D., MATTY, J. and ADRON, J., 1981. Effects of quantity and quality of dietary protein on certain enzyme activities in rainbow trout. Journal of Nutrition, Vol. 111 (2): 336-345;

COWEY, C.B., BEGENER, E., TACON, A., YOUNGSON, A. and BELL, J., 1984. The effect of vitamin E and oxidised fish oil on the nutrition of rainbow trout grown at natural, varying water temperatures. Brit. Journal of Nutrition, Vol. 51: 443-451;

COWEY, C.B.and LUQUET, P., 1983. Physiological basis of protein requirements of fishes. Critical analysis of allowances. Protein Metabolism and Nutrition, Vol. I, INRA, Paris, pp. 365-384;

CUBILLOS, A., CACERES, O., DE VEER, C., MORA, S. and MEGE, R., 1982. Estudio comparativo de tres espécies de lupinos dulces (L. angustifolius, L. albus e L. luteos) en la alimentation de broilers. Proceedings of the II International Lupin Conference, Torremolinos, May 1982;

CHUBB, L.G., 1982. Anti-nutritive factores in animal feedstuffs. Recent Advances Anim. Nut., pp. 21-37;

DABROWSKI, K. and KAZLOWSKA, H., 1981. Rapeseed meal in the diet of common carp reared in heated waters. I. Growth of fish and utilization of the diet. Aquaculture in Heated Effluents and Recirculation Systems. K. Tiews (editor). pp. 263-274;

DAVIES, N. and OLPIN, S., 1979. Studies on the phytate:zinc molar contents in diets as a determinant of Zn availability to young rats. Brit. Journal of Nutrition, Vol. 41: 590-603;

DAVIES, N. and REID, H., 1979. An evaluation of the phytate, zinc, copper, iron and manganese contents of, and Zn availability from, soya-based textured-vegetable-protein meat-substitutes or meat-extenders. Brit. Journal of Nutrition, Vol. 41: 579-589;

DAVIES, R.L., 1989. Triticale's potencial as a source of amino acids for pigs. Anim. Prod. Australia, Vol.20: 140-143;

DAVIES S., MACONNEL S., BATESON R., 1990. Potential of rapeseed as an alternative protein source in complete diets for tilapia (Oreochnomis mossambicus peters). Aquaculture B.V., Amsterdam Vol.87: 145-155;

DIAS DA SILVA, A., 1985. Valorização alimentar das palhas de cereais usando a ureia como fonte de amoníaco. Tese de doutoramento. Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, 189pp.;

DORSA, W., and ROBINETTE, R., 1982. Effects of dietary cottonseed meal and gossypol on growth of young channel catfish. Trans. of the American Fisheries society, Vol.111: 651-655;

DUHAN, A., CHAUHAN, B., PUNIA, D. and KAPOOR, A., 1989. Phytic acid content of chickpea (Cicer arietinum) and black gram (Vigna mungo): varietal differences and effect of domestic processing and cooking methods. J. of Sc. Food Agricult., Vol. 42: 449-455;

DUNCAN, D.B., 1955. Multiple range and multiple F tests. Biometrics, Vol. 11: 1-42;

ELLIOT, J.M. and DAVISON, W., 1975. Energy equivalents of oxygen consumption in animal energetics. Oecologia, Vol.19: 195-201;

EDWARDS, D.J., AUSTRENG, E., RISA, S. and GJEDREM, T., 1977. Carbohydrate in rainbow trout diets. I. Growth in fish of different families fed diets containing different proportions of carbohydrate. Aquaculture, Vol. 11: 31-38;

FALISSE, A., 1980. La culture du triticale. Ministére de L'Agriculture, Manhattan Center, Office Tower, 1210 Brussels;

FENWICK, G.R., 1986. The natural toxicants of commom foods for animals and man. Proc. Nut. Soc. Aust., Vol. 11: 11-23;

FERNANDEZ, R. and MACGINNIS, J., 1974. Nutritive value of triticale for young chicks and effect of different amino acid supplements on growth. Poultry Science, Vol. 53: 47-53;

FERRUZZI, C., 1984. Manuale del lombricicoltore. Edagricole, Bologne, 2ªedc., 121 pp.;

FOLCH, J., LEES, M. and STANLEY, G., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. Journal Biol. Chem., Vol 226: 497-509;

FORBES, R., PARKER, H. and ERDMAN, J., 1984. Effects of dietary phytate, calcium and magnesium levels on zinc bioavailability to rats. Journal of Nutrition, Vol. 114: 1421-1425;

FORD, J.E. and HEWITT, D., 1979. Protein quality in cereals and puls. 3. Bioassays with rats and chickens on sorghum (Sorghum vulgare pers.) barley and field beans (Vicia faba L.). Influence of polyethylene glycol on digestibility on the protein in high-tanin grain. Brit. Journal of Nutrition, Vol 42: 325-339;

FOWLER L., 1985. Tests with blood meal, shrimp meal and condensed fish solubles as components of fall chinook salmon diets. U.S. Fish and Wildlife Service, Longview, Washington 98632, 16 pp.;

FOWLER, L. and BANKS, J., 1976. Animal and vegetable substitutes for fish meal in the abernathy diet, 1973. Progressive Fish-Culturist, Vol. 38 (3): 123-126;

FOWLER, L. and BANKS, J., 1976a. Animal and vegetable substitutes for fish meal in the abernathy diet. Progressive Fish-Culturist, Vol. 38 (3): 123-126;

FOWLER, L. and BANKS, J., 1976 b. Fish meal and wheat germ meal substitutes in the abernathy diet, 1974. Progressive Fish-Culturist, Vol. 38 (3): 127-130;

FREIG, A.A., CAMPBELL, L. and STANGER, N., 1987. Fate of ingested glucosinolates in poultry. Nutrition Reports International, Vol. 36: 1337-1345;

FURUKAWA, A. and TSUKAHARA, H. 1966. On the acid method for determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. Bull. Jap. Soc. Scient. Fish., Vol. 32: 502-506;

GATLIN, D.M. and WILSON, R.P., 1983. Dietary zinc requirement of fingerling channel catfish. Journal of Nutrition, Vol. 113: 630-635;

GATLIN, D.M. and WILSON, R.P., 1984. Zinc supplementation of pratical channel catfish diets. Aquaculture, Vol. 41: 31-36;

GERRY, R.W., 1975. Triticale in broiler rations. Feedstuffs, Vol. 47(49): 24-25;

GOERING, H.K. and VAN SOEST, P., 1970. Forage fiber analysis. USDA, ARS Agric. Handbook, Nº 379;

GOLDHOR S., REGENSTEIN J., 1987. Fish meal in livestock feeds: New firdiigs. Pro. Cornell. Nutr. Conf. Feed. Manuf., 98-104;

GOMES, E.F., 1987. Estudos em nutrição de truta arco-íris. Provas de Aptidão Pedagógica e Capacidade Científica, Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar da Universidade do Porto;

GOUVEIA A., 1989. The bromatological characterization of six brown fish meals of a poultry by product and hydrolysed feather meal and of a meat and bone meal. Nato Scientific Affairs Division Science for Stability Programme, J.N.I.C.T.;

GOUVEIA A., 1989 b. The nutritional evaluation of six brown fish meals as feeds for rainbow trout (Salmo gairdneri Richardson). Nato Scientific Affairs Division Science for Stability Programme,J.N.I.C.T.;

GRABNER, M. and HOFER, R., 1985. The digestibility of the proteins of broad bean (Vicia faba) and soya bean (Glycine max) under in vitro conditions simulating the alimentary tracts of rainbow trout (Salmo gairdneri) and carp (Cyprinus carpio). Aquaculture, Vol. 48: 111-122;

GRAF, E. and EATON, J., 1984. Effects of phytate on mineral bioavailability in mice. J. of Nutrition, Vol. 114: 1192-1198;

GRAVE H., 1981. Fluoride content of salmonids feed on antarctic knill. Aquaculture B.V. Amsterdam, Vol.24: 191-195;

GROPP, J., KOOPS, H., TIEWS, K. and BECK, H., 1976. Replacement of fish meal in trout feeds by other feedstuffs. FAO Technical Conference on Aquaculture. FAO-FIR, AQ/Conf./76-E.24: 596-601;

GULBRANDSEN K., 1986. Qualites speciales de farines de poisson dans l'alimentation des visons et des poissons. Communication Presentee au Congres I.A.F.M.M;

HADJIPANAYIOTOU, S. ECONOMIDES, S. and GEORGHIADES, E., 1985. Nutritive value of triticale and barley grain and straw. Agric. Res. Inst., Nicosia, Cyprus;

HANCZAKOWSKI, P., 1980. Nutritive value for chicks of lupine seed protein supplemented with various sulphur sources. Proc. I International Lupine Workshop, Lima, Peru, pp. 585-591;

HARDY R., SULLIVAN C., 1983. Canola meal in rainbow trout (Salmo gairdneri) production diets. Con. J. Fish. Aquat. Sci. Vol.40: 281-286;

HARDY R., SHEARER K:; SPINELLI J.; 1984. The nutritional properties of co-dried fish silage in rainbow trout (Salmo gairdneri) dry diets. Aquaculture B.V., Amsterdam Vol.38 ;

HARDY, R.W. and SHEARER, K., 1985. Effect of dietary calcium phosphate and zinc supplementation on whole body zinc concentration of rainbow trout. Can Journal of Fish. Aquatic Sciences, Vol. 42: 181-184;

HARDY, R.W., SULLIVAN, G. and KOZIOL, A., 1987. Absorption, body distribution and excretion od dietary zinc by rainbow trout (Salmo gairdneri). Fish Phys. and Biochem., Vol. 3 (3): 133-143;

HASTINGS, W.H., 1970. Study of pelleted fish foods stability in water. Report of the 1970 Workshop on Fish Feed Technology and Nutrition, Stuttgart, Arkansas, USA;

HASTINGS, W. and DICKIE, L., 1972. Feed formulation and evaluation. Fish Nutrition, Halver, J. (editor), Academic Press, New York, pp. 327-370;

HILGE, V., 1979. Preliminary results with krill meal and fish meal in diets for channel catfish (Ictalurus punctatus Raff.). Proc. World Symp. on Finfish Nutrition and Fish Feed Technology, Vol. II: 167-170;

HIGGS D., MARKERT J., MACQUARRIE D., MACBRIDE J.; DOSANJH B.; NICHOLS C.; HOSKINS G., 1979. Development of practical dry diets for coho salmon (Oncorhynchus kisutch), using poultry by product meal, feather meal, soybean meal and rapeseed meals as major protein sources. Proc. World Symp. on Finfish Nutrition and Fishfeed Technologgy Hamburg, Vol.II:191-217;

HIGGS D., MACBRIDE J., MARKERT J., DOSANJH B., PLOTNIKOFF M., ALARKE W.; 1982. Evaluation of tower and candee rapeseed (canola) meal and bronowski rapeseed protein concentrate as protein supplements in practical dry diets for juvenile chinooks salmon (Oncorhynchus tshawytscha). Aquaculture B.V., Amsterdam, 1-31;

HIGGS, D.A., FAGERLUND, U.H. J.R., MCBRIDE, J.R., PLOTNIKOFF, M.D., DOSANJH, B.S. MARKERT, J.R. and DAVIDSON, J., 1983. Protein quality of altex canola meal for juvenile chinook salmon (Oncorhynchus tshawytscha) considering dietary protein and 3,5,3 -Triiodo-L-Thyronine content. Aquaculture, Vol.34:213-238;

DE LA HIGUERA, M., GARCIA-GALLEGO, M., SANZ, A., CARDENETE, G., SUAREZ, M.D. and MOYANO, F.J., 1988. Evaluation of lupin seed meal as an alternative protein source in feeeding of rainbow trout (Salmo gairdneri). Aquaculture, Vol. 71: 37-50;

DE LA HIGUERA, M. e CARDENETE, G., 1987. Fuentes alternativas de proteina e energia en acuicultura. Alimentation en Qcuicultura, Espinosa de Los Monteros e U. Labarta (editores), CAICYT, pp. 59-129;

HILL,G.D., 1977. The composition and nutritive value of lupin seed. Nutrition Abstracts and Reviews, B: Livestock Feeds and Feeding. Vol.47, 511-529;

HILTON, J.W. and ATKINSON, J.L, 1982. Response of rainbow trout (Salmo gairdneri) to increased levels of available carbohydrate in pratical tout diets. Br. Journal of Nutrition, Vol. 47: 597-607;

HILTON, J.W. and SLINGER, S., 1981. Nutrition and feeding of rainbow trout. Can. Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences, 15pp.;

HILTON, J.W., ATKINSON, J.L. and SLINGER, S., 1982. Maximum tolerable level, digestion and metabolism of D-glucose (cerelose) in rainbow trout (Salmo gairdneri) reared on a pratical trout diet. Can. Journal Fish. Aquatic Sciences, Vol. 39: 1229-1234;

HILTON J., 1983. Potential of freeze-dried worm meal as a replacement for fish meal in trout diet formulations. Aquaculture B.V., 277-283;

HILTON J., SLINGER S., 1986. Digestibility and utilization of canola meal in practical- type diets for rainbow trout (Salmo gairdneri). Aquat. Science, Vol.43: 1149-1155;

HILTON, J.W., ATKINSON, J.L. and SLINGER, S., 1987. Evaluation of net energy value of glucose (cerelose) and maize starch in diets for rainbow trout (Salmo gairdneri). Br. Journal of Nutrition, Vol. 58: 453-461;

HILTON, J.W., 1989. The interaction of vitamins, minerals and diet composition in the diet of fish. Aquaculture, Vol. 79: 223-244;

HOGAN, D.L., KRAEMER, K.L. and ISENBERG, J., 1982. The use of high-performance liquid chromatografy for quantitation of plasma amino acids in man. Analitical Bioch., Vol. 127: 17-24;

HUGHES, S.G., 1988 Assessment of lupin flour as a diet ingredient for rainbow trout (Salmo gairdneri). Aquaculture, Vol. 71: 379-385;

HUISMAN, J., POEL., T.F. and LIENER, I. (editors), 1989. Recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds. Pudoc, Wageningen, 388 pp.;

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO) [ISO 5983-1979 (E)]. Animal Feeding Stuffs - Determination of nitrogen content and calculation of crude protein content.;

KANAZAWA, A., 1985. Essential fatty acid and lipid requirement of fish. Nutrition and Feeding in Fish. C.B. Cowey and Matty (editors), Academic Press, London;

KARARA, A., Moustafa, E.K. and Rahman, A.Y., 1985. Effects of lupin seed oil on carp lipids during chilling; 2-Changes in fatty acid composition. Fette Seifein Anstrichmittel, No.3: 109-111;

KAUSHIK, S., 1980. Influence on nutritional status on the daily patterns of nitrogen excretion in the carp (Cyprinus carpio L.) and the rainbow trout (Salmo gairdneri R.). Reprod. Nut. Dévelop., Vol. 20 (6): 1751-1765;

KAUSHIK, S. and LUQUET, P., 1980. Influence of bacterial protein incorporation and of sulphur amino acid supplementation to such diets on growth of rainbow trout. Aquaculture, Vol. 19: 163-175;

KAUSHIK, S. and LUQUET, P., 1983. Relationship between protein intake and voluntary energy intake as affected by body weight with an estimation of maintenance needs in rainbow trout. Z. Tierphysiol., Tierernahrg U. Futtermittelkde, Vol. 51: 57-69;

KAUSHIK, S. and OLIVA TELES, A., 1985. Effect of digestible energy on nitrogen and energy balance in rainbow trout. Aquaculture, Vol. 50: 89-101;

KAUSHIK, S.J., 1988. Major constrants and recent advances in the field of nutrition and feeding of fish larvae. Univ. Esteu Cataluna, Barcelona, Espanha;

KAUSHIK, S.J., 1989. Alternative protein sources in the diets for carnivorous fishes. Proc. Symp. Aquac. Mediterreneenne., Barcelona.

KAUSHIK, S, LUQUET, P, BLANC, D. and PABA, A., 1989. Studies on the nutrition of siberian sturgeon, Acipenser baeri. I. Utilization of digestible carbohydrates by sturgeon. Aquaculture, Vol. 76: 97-107;

KAUSHIK, S., MEDALE, F., FAUCONNEAU, B. and BLANC, D., 1989. Effect of digestible carbohydrates on protein energy utilization and on glucose metabolism in rainbow trout (Salmo gairdneri). Aquaculture, Vol. 79: 63-74;

KAUSHIK, S. and COWEY,C.B., 1990. Ammoniogenesis and dietary factors affecting N excretion. Proceedings of the International Symposium in Feeding Fish in Our Water, University of Guelph, Ontario, Canadá. In press.;

KAY, D.E., 1979. Legumbres alimenticias. Editorial Acribia, Saragoça, 437 pp.;

KETOLA, G., 1979. Influence of dietary zinc on cataracts in rainbow trout (Salmo gairdneri). Journal of Nutrition, Vol. 109: 965-969;

KETOLA, G., SMITH, C.E. and KIND, S., 1989. Influence of diet and oxidative rancidity on fry Atlantic and Coho Salmon. Aquaculture, Vol. 79: 417-423;

KIM, I., LEE, S. and KANG., S., 1984. On the efficiency of soybean meal as a protein source substitute in fish feed for commom carp. Bull. Korean Fish. Soc., Vol. 17 (1): 55-60;

KIM, J.D., 1989 Comparaison des valeurs nutritionnelles des nutriments energetiques chez la Truite arc-en-ciel (Oncorhynchus mykiss). These Univ Paris VI., 130 pp;

KLAUSEN, N.K. and LUNDE, E., 1986. Formation of biogenic amines in herring and mackerel. Z. Levensm, Unters Forsch, Vol. 182: 459-463;

KNIGHTS, B., 1985. Energetics and fish farming. Fish Energetics, New Perspectives, Tytler, P. and Calow, P. (editors), pp. 309-340;

KNOX, D., COWEY, C.B. and ANDRON, J., 1982. Effects of dietary copper and copper:zinc ratio on rainbow trout (Salmo gairdneri). Aquaculture, Vol. 27: 111-119;

KNOX, D., COWEY, C.B. and ANDRON, J., 1984. Effects of dietary zinc intake upon copper metabolism in rainbow trout (Salmo gairdneri). Aquaculture, Vol. 40: 199-207;

KOOPS, H., TIEWS, K., BECK, H. and GROPP, J., 1976. Die verwertung von sojaprotein durch die regenbogenforelle (Salmo gairdneri). Arch. Fish. Wiss., Vol. 26: 181-191;

KOOPS, H., TIEWS, K., GROPP, J. and BECK, H., 1979. Krill in trout diets. Finfish Nutrition and Fishfeed Technology, Vol. II: 281-292;

KOOPS, H., TIENS, K., GROPP, J. and SCHWALB-HUHLING, 1981. Further results on replacement of fish meal by other protein feedstuffs in pelleted feeds for rainbow trout. Arch. Fischwiss, Vol. 32: 59-75;

JACKSON A., KERR A., COWEY C., 1984 a. Fish silage as a dietary ingredient for salmon I. Nutritional and stonage characteristics. Aquaculture, Vol.38: 221;

JACKSON A., KERR A., BULLOCK A., 1984, b. Fish salmon II. Preliminary growth findings and nutritional pathology. Aquaculture, Vol.40;

JENSEN, N., 1986. Evaluation of the influence of drying methods on the value of fish meal for rainbow trout. Int. Assoc. Fish Meal Manufactors, Rec. of Ann. Conf., pp. 74-86;

LACASSAGNE L., 1988. Alimentation des volailles: substituts au tourteau de soja. INRA Prod. Anim., Vol.1: 47-57;

LARA C., URBINA R., LIZARRAGA M., TUESTA L., 1980. Test with non-debittered lupinus-mutabilis cake as a substitute for soy meal in balanced rattions for fattening broiler chickens. Lima-Peru, 605-619;

LEATHERLAND J., HILTON J., SLINGER S., 1987. Effects of thyroid harmone supplementation of canola meal based diets on growth, and interrenal and thyroid gland physiology of rainbow trout (Salmo gairdneri). Fish Physiology and Biochemistry, Vol.3: 73-82;

LEATHERLAND J., HILTON J., 1988. Thyroidal compensation in rainbow trout (Salmo gairdneri). Fish Physiology and Biochemistry, Vol.5: 199-207;

LECQLERCQ, B., Lessire, M., Guy., Hallouis, J.M. and Conan, L., 1989. Utilisation de la graine de colza en aviculture. INRA Prod. Anim., Vol. 2: 129-136;

LE CORRE, P. and TREGUER, P., 1976. Contribution à l'étude de la matière organique dissoute et des sels nutritifs dans l'eau de mer. Caractéristiques chimiques du Golfe de Gascogne et des upwellings côtiers de l'afrique du Nort-Ouest. Thèse d'Etat, Univ. Bretagne Occidentale, Brest, France, 490 pp.;

LIENER, I.E., 1974. Phytohemagglutinins: their nutritional significance. Journal Agricultural Food Chem., Vol.22: 17-25;

LIENER, I.E., 1979. Effects of anti-nutritional and toxic factors on the quality and utilization of legume proteins. Protein Nutritional Quality of foods and feeds, Academic press, London, pp. 533-550;

LIENER, I.E., 1980. Toxic constituents of plant foodstuffs. Academic press, New York, 502 pp.;

LIM CH., DOMIY W., 1989. Utilization of plant by warmwater fish. American Soybean Association, Vol.3 AQ 15 89-4;

LOWELL, R.T., 1984. Use of soybean products in diets for aquaculture spicies. American Soybean Association, St. Louis, Missouri, 10 pp.;

LUQUET, P., 1971. Efficacité des proteines en relation avec leur taux d'incorporation dans l'alimentation de la truite arc-en-ciel. Ann. Hydrobiol., Vol. 2: 175-186;

LUQUET, P. et KAUSHIK, S., 1978. Progrés récent dans le domaine de l'alimentation protéique des salmonidés: épargne des protéines et matières premières de substitution à la farine de poisson. La Pisciculture Française, Vol. 53-54: 14-17;

LUQUET, P and KAUSHIK, S., 1980. Besoin en protéines et en acides aminés. Nutrition des Poissons, CNRS, Paris, pp. 171-183;

MACDONALD, P., EDWARDS, R. and GREENHALGH, J., 1981. Animal Nutrition. 3 th Edition, Longman, London;

MANN, L., 1978. Secondary metabolism. Atkin, P., Holken, J. and Holliday, A. (editors), 316 pp.;

MACKIE, I.M., 1982. Anim. Feed Science and Technology, Vol.7: 113-124;

MELCION, J.P., Zernicki, W. and Conan, L., 1988. L'aliment extrude colza-pois: une nouvelle matiere premiere? Revue de L'Alimentation Animale, Mai: 36-42;

MILLÁN, M., GUERRERO, C. e SAN JUAN, P., 1987. Selección y valoración de materias primas. Control de calidad de los alimentos. Alimentacion en Acuicultura, Espinosa de Los Monteros y Uchio Labarta (editores), Caicyt, Madrid;

MILLIKIN M., 1982. Qualitative and quantitative nutrient requirements of fishies: A review. Fishery Bulletin, Vol.80: 655-686;

MITARU, B., REICHERT, R. and BLAIR, R., 1984. The binding of dietary protein by sorghum tanins in the digestive tract of pigs. Journal of Nutrition, Vol. 114: 1787-1796;

MORRIS, E. and ELLIS, R., 1980. Effect of dietary phytate/zinc molar ratio on growth and bone zinc response of rats fed semipurified diets. Journal of Nutrition, Vol. 110: 1037-1045;

MORRISON, W.R. and SMITH, L., 1964. Separation of fatty acid methyl esters and dimethyl-acetols from lipids with baron fluoride-methanol. Journal Lipid Research, Vol. 5: 600-608;

MOSSÉ J., 1990. Acides amines de 16 cereales et proteagineux variations et cles du calcul de la composition en fonction du taux d'azote des grain(e)s. Consequences nutritionneles. INRA prod. anim. Vol.3: 103-119;

NEWTON, S.D. and HILL, G., 1983. The composition and nutritive value of field beans. Nutrition Abstracts and Reviews, Series B, Vol. 52 (2): 99-115;

NOLAN, K., DUFFIN, P. and McWEENEY, 1987. Effects of phytate on mineral bioavailability. In vitro studies on Mg2+, Ca2+, Fe2+, Cu2+ and Zn2+ (also Dc2+) solubilities in the presence of phytate.Journal of Science Food Agricultural,Vol.40: 79-85;

NOSE, T., 1971. Determination of nutritive value of food protein in fish. III. Nutritive value of caseine, white fish meal and soybean meal in rainbow trout fingerlings. Bull. Fish. Res. Lab. Tokyo Univ., Vol. 21: 85-98;

NOSE, T., 1979. Diet compositions and feeding techniques in fish culture with complete diets. Finfish Nutrition and Fish Feed Technology, Vol.II: 191-218;

NOSE T., 1989. Protein and amino acid nutrition in fish. Tagungsbericht ETH-Zurich, Institut fur Nutztierwssenschaften, 21-51 pp;

NOMURA, M., NOSE, T., UEMATSU, Z., INABA, D., 1972. Application of imported Peru fish meal in fish feed. I. Feeding experiment with rainbow trout fingerlings. Bull. Freshwater Res. Lab., Tokyo, Vol. 21 (1): 85-97;

NRC, (NATIONAL RESEARCH COUNCIL), 1981. Nutrient Requirements od Domestic Animals. Nutrient Requirements of coldwater fishes. National Academy of Sciences, Washington DC, USA, 63 pp;

NRC, (National Research Council), 1983. Nutrient Requirements of Domestic Animals: Nutrient requirements of warmdwater fishes. National Academy of Sciences, Washington DC, 102 pp.;

OGINO, C. and YANG, G., 1978. Requirement of rainbow trout for dietary zinc. Bull. Jap. Soc. Scient. Fish., Vol. 44(9): 1015-1018;

OGINO, C., 1980. Requirements of carp and rainbow trout for essential amino acids. Bull. Jap. Soc. Scient. Fish., Vol. 48: 171-174;

OLIVA TELES, A., 1988. Efeito da ploidia e da relação proteina-energia das dietas no crescimento e utilização do alimento em truta arco-íris. Tese de doutoramento, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, 328 pp.;

OPSTEVEDT J., 1985. Fish lipids in animal nutrition. International Association of the Fish Meal Manufactors (I.A.F.M.M.), Vol.22: 1-26;

ORME, L.E., 1970. Trout feed formulation and development. Report of the 1970 Workshop on fish feed technology and nutrition, Stuttgart, Arkansas, pp. 172-185;

OWEN, J.M., ADRON, J., MIDDLETON, C. and COWEY, C., 1975. Elongation and desaturation of dietary fatty acids in turbot, Scophthalmus maximus L. and rainbow trout, Salmo gairdneri R. diet. Lipids, Vol. 10: 528-531;

PALMER, T.N. and RYMAN, B.E., 1972. Studies on oral glucose intolerance in fish. Journal of Fish Biology, Vol. 4: 311-319;

PAVLASOVA, M. and VESLEY, Z., 1983. Amino acid composition of animal meals in relation to a possibility of replacing fish meals. Zivoc. Vyr., Vol. 28: 481-486;

PEREZ, J.M. et BOURDON, D., 1986. Valeur énergétique et azotée des triticales français: synthése des résultats. Journées Rech. Porcine, INRA, ITP ed, Paris, Vol. 18: 79-82;

PEYRONNET C., 1989. Le colza OO contre-attaque...et gagne. Cultivar Vol.19: 36-38;

PICARD, J., 1983. Les protéagineux, situation actuelle et perspectives. C. R. Seanc. Acad. Agric., Vol. 69 (12): 889-899;

PIEPER, A. and PFEFFER, E., 1979. Studies on the effect of increasing proportions of sucrose or gelatinized maize starch in diets for rainbow trout (Salmo gairdneri R.) on the utilization of dietary energy and protein. Aquaculture, Vol. 20: 333-342;

PIKE I., 1990. The role of fish oil in feeds for farmed fish-estimated aurrent and potential use. Technical Bulletin, I.A.F.M.M. Vol.25;

PIKE I., ANDORSDOTTIR G., MUNDHEIM H., 1990. The role of fish meal in diets for salmonids. International Association of Fish Meal Manufactures, Vol.24: 1-35;

PHILLIPS, A.M., BROCKWAY, D.and VAUGHN, R., 1957. Pelleted foods for hatchery-reared trout. Fisheries Research Bulletin Nº 21, Cortland Hatchery Report Nº26, pp.11-15;

PHILLPS, A.M., PODOLIAK, H. and LIVINGSTON, D., 1960. Dry concentrates as a complete trout food. Fisheries Research Bulletin Nº 24, Cortland Hatchery report Nº29, pp. 67-73;

PHILLIPS, A.M., PODOLIAK, H., POSTON, H. and LIVINGSTON, D., 1962. Dry concentrates as complete trout foods. Fisheries Research Bull. Nº26, Cortland Hatchery Rep. Nº 31, pp.31-37;

PHILLIPS, A.M., PODOLIAK, H., POSTON, H., LIVINGSTON, D., BOOKE., PYLE., E. and HAMMER, G., 1964. Dry concentrates as complete trout foods. Fisheries Research Bulletin Nº27, Cortland Hatchery Report;

PLISSERO, C., CUISSET, B. and LE MENN, F., 1989. Influence of sex steroids in commercial fish meals and fish diets on plasma concentrations of androgens and vitellogenin in the cultured siberian sturgean (Acipenser baeri). Aquatic Living Resouces, (in press);

REFSTIE, T. and AUSTRENG, E., 1981. Carbohydrate in rainbow trout diets. III. Growth and chemical composition of fish from different families fed four levels of carbohydrate in the diet. Aquaculture, Vol. 25: 35-49;

REINITZ, G.L., ORME, L., LEMM, C. and HITZEL, F., 1978. Full-fat soybean meal in rainbow trout diets. Feedstuffs, Vol. 50 (3): 23-24;

REINITZ, G.L. and YU, T., 1981. Effects of dietary lipids on growth and fatty acid composition of rainbow trout. Aquaculture, Vol. 22: 359-366;

REINITZ, G., 1983. Relative effect of age, diet and feeding rate on the body composition of young rainbow trout (Salmo gairdneri). Aquaculture, Vol. 35: 19-27;

RICHARDSON, N., HIGGS, D., BEAMES, R. and McBRIDE, J., 1985. Influence of dietary calcium, phosphorus, zinc and sodium phytate level on cataract incidence, growth and histopathology in juvenile chinook salmon (Oncorhynchus tshawytscha). Journal of Nutrition, Vol.115: 553-567;

RICHARDSON, N., HIGGS, D. and BEAMES, R., 1986. The susceptibility of juvenile chinook salmon (Oncorhynchus tshawytscha) to cataract formation in relation to dietary changes in early life. Aquaculture, Vol. 52: 237-243;

ROBERTSON, J.B. and VAN SOEST, P., 1981. The detergent system of analysis and its application to human foods. The analysis of dietary fiber in food. Marcell Dekker, Inc., New York, pp. 123-158;

ROBINSON, E., RAWLES, S. and STICKNEY, R., 1982. Evaluation of glanded and glandless cottonseed products in catfish diets. Department of Wildlife and Fisheries Sciences, Texas 77843, pp.93-97;

ROSA J., 1980. The effects of pressing of lupine seed on the nutritional value of feed for swine. Lima-Peru, 626-641 pp;

RUMSEY, G.L. and KETOLA, G., 1975. Amino acid supplementation of caseine in diets of Atlantic salmon (Salmo salar) fry and of soybean meal for rainbow trout (Salmo gairdneri) fingerlings. Journal of Fish. Res. Bd. Can., Vol. 32: 422-426;

RYCHLY, J. and SPANHOF, L., 1979. Nitrogen balance in trout. I. Digestibility of diets containing varying levels of protein and carbohydrate. Aquaculture, Vol. 16: 39-46;

SALGUEIRO T., 1989. Producao de proteaginosas. Vida Rural, quinzena de setembro Vol.14;

SATOH, S., TAKEUCHI, T., NARABE, Y. and WATANABE, T. 1983. Effects of deletion of several trace elements from fish meal diets on growth and mineral composition of rainbow trout fingerlings. Bull. Jap. Soc. Scient. Fish., Vol. 49 (12): 1909-1916;

SATOH, S., TAKEUCHI, T., WATANABE,T. and HOSHI, M., 1984. Nutritional evaluation of scrap meal as a protein source in diets for rainbow trout and carp. Bull. Jap. Soc. Scient. Fish., Vol. 50 (12): 2077-2083;

SATOH, S., TAKEUCHI, T. and WATANABE, T., 1987 a. Availability to rainbow trout of zinc contained in various types of fish meals. Nippo Suisan Gakkaaishi, Vol. 53 (10): 1861-1866;

SATOH, S., TABATA, K., IZUME, K., TAKEUCHI, T. and WATANABE, T. 1987 b. Effect of dietary tricalcium phosphate on availability of zinc to rainbow trout. Nippon Suisan Gakkaishi, Vol. 53(7): 1199-1205;

SATOH, S., POE, W. WILSON, R., 1989. Effect of supplementation phytate and or tricalcium phosphate on weihgt gain, feed efficiency and zinc content in vertebrae of channel catfish. Aquaculture, Vol. 80: 155-161;

SAUVER, B., 1989. Phosphore phytique et phytases dans l'alimentation des volailles. INRA Prod. Anim., Vol. 2(5): 343-351;

SCHWARTZ, V., HURZINGER, H. and KIRCHGEBNER, M., 1986. Zur verdaulichkeit des rohproteins von blutmehl, kartoffeleiweib und bitterlupinen in mischfuttermittln fur karpfen (Cyprinus carpio L.). Bayer. Landw. Jahrb., Vol. 63: 595-602;

SCHULTZ, D., HARTFIEL, W. and GREUEL, E., 1982. Verwendung von nebenprodukten tierischer herkunft in der ernarhung von regenbogen forellen (Salomo gairdneri R.). II. Einsatz von blut-feder- und geflugelschlachtabfallmehl sowie gelatine in einer gereinigten diat. Z. Tierphysiol. Tierernahrg.u. Futtermittlekde, Vol. 48: 267-275;

SINGH, R.P. and NOSE, T., 1967. Digestibility of carbohydrates in young rainbow trout. Bull. Freshwater Fish. Res. Lab., Vol. 17: 21-25;

SMITH, R.R., 1977. Recent research involving fullfat soybean meal in salmonid diets. Salmonid, Vol. 17: 21-25;

SMITH R., RUMSEY G., 1988. Heat increment associated with dietary protein fat, carbohydrate and complete diets in salmonids: comparative energetic efficiency. 1025-1031 pp;

SOEVIK T., BRARKKAN., 1979. Fluoride in Antarctic Knill (Euphousia superbo) and Atlantic Knill (Meganyctiphones norvegica). J. Fish. Res. Board Can., Vol.36;

SPANHOF, L. and PLANTIKOW, H., 1983. Studies on carbohydrate digestion in rainbow trout. Aquaculture, Vol. 30: 95-108;

SPIES, J.R., 1957. Colorimetric procedures for amino acids. Methods in Enzymology (Colowick SP, Kaplan NO, eds) Academic Press, New York, Vol. 3: 467-477;

SPINELLI, J., CLIFFORD, R. and WEKELL, J., 1983. The effect of phytates on the growth of rainbow trout (Salmo gairdneri) fed purified diets containing varying quantities of calcium and magnesium. Aquaculture, Vol. 30: 71-83;

SPYRIDAKIS P., GABAUDAN J., METAILLER R., GUILLAUME J., 1988. Digestibilite des proteines et disponibilite des acides amines de quelques mutieres premieres chez le bar (Dicentrarchus labrax). Reprod. Nutr. Develop., Vol.28 (6A): 1509-1517;

STAFFORD, E.A., TACON, A., 1985. The nutritional evaluation of dried earthworm meal (Eisenia foetida, Savigny, 1826) included at low levels in production diets for rainbow trout, Salmo gairdneri Richardson. Aquaculture and Fisheries Management, Vol. 16: 213:222;

STEFFENS, W., 1985. Poultry wastes as a source of protein in diets for rainbow trout. Archiv. Fur Tierernahrung, Vol. 35 (5): 361-368;

STEFFENS, W., 1987. Further results of complete replacement of fish meal by means of poultry by-products meal in feed for trout fry and fingerling (Salmo gairdneri). Arch. Animal Nutrition, Berlin, Vol. 37: 1135-1139;

STEEL, R.G. and TORRIE, J.H., 1980. Principles and procedures of statistics-abiometrical approach. McGraw - Hill Book Company, USA;

TACON, A.G. Haastar, J.V. Featherstone, P.B., Herp, K. and Jackon, A.J., 1983. Studies on the utilizaton of fullfat soybean and solvent extracted soybean meal in a complete diet for rainbow trout. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., Vol. 49: 1437-1443;

TACON, A., STAFFORD, E. and EDWARDS, C., 1983. A preliminary investigation of the nutritive value of three lumbricid worms for rainbow trout. Aquaculture, Vol. 35: 187 - 199;

TACON, A. and RODRIGUES, A.M., 1984. Use of chromic oxide, crude fibre, polyethylene and acid-insoluble ash as dietary markers for the estimation of apparent digestibility in rainbow trout (Salmo gairdneri). Aquaculture, Vol. 43(4): 391-400;

TACON, A. and COWEY, C.B., 1985. Protein and amino acid requirements. Fish Energetics. New Perspectives. Tytler, P. and Calow, P. (editors), pp.125-183;

TACON, A. and JACKSON, A.J., 1985. Utilization of conventional and unconventional protein sources in pratical fish feeds. A review. Fish Feeding and Nutrition. Cowey, C. and Mackie, J. (editors), Academic Press, London, pp. 119-145;

TAKEUCHI, T. and WATANABE, T., 1977. Effect of eicosapentaenoic acid and docohexanoic acid in pollock liver oil on growth and fatty acid composition of rainbow trout. Bull. Jap. Soc. Scient. Fish., Vol. 43: 947-953;

TAKEUCHI, T., WATANABE, T. and OGINO, C., 1978. Optimum ratio of protein to lipid in diets of rainbow trout. Bull. Jap. Soc. Scient. Fish., Vol. 44: 683-688;

TAKEUCHI, T., WATANABE, T., OGINO, C., SAITO, M, NISHIMURA, K. and NOSE, T., 1981. A long-term feeding with rainbow trout by a low protein diet with a high energy value. Buul. Jap. Soc. Scient. Fish., Vol. 47: 637-643;

TALBOT, C., 1985. Laboratory methods in fish feeding and nutritional studies. Fish Energetics, New Perspectives, Tytler, P. and Calow, P. (editors), pp. 125-154;

TANNOUS, R.I. and Ullah, M., 1969. Effects of autoclaving on nutritional factors in legume seeds. Tropical Agriculture, Trinidad, Vol. 46: 123-129;

THIVEND, P., MERCIER, C. and GGUILBOT, A., 1972. Determination of starch with glucoamylase. Methods in Carbohydrate Chemistry (Whistler RL, Bremiller JN, eds), Academic Press, New York, Vol. 6: 100-105;

THOMASON, D.M., 1988. Processing systems for full-fat soy: a review. American Soybean Association, Vol. P01 (1988), MC (P), Singapura;

TIEWS, K., KOOPS., H., GROPP, J. and BECK, H., 1979. Compilation of fish meal-free diets obtained in rainbow trout (Salmo gairdneri) feeding experiments at Hamburg (1970-1977/78). Proc. World Symposium Finfish Nutrition and Fish Feed Technology, Vol. II: 219-228;

TOYOMA, K., HOSHI, M., TAKASHIMA, Y., SATOH, S., TAKEUCHI, T. and WATANABE, T., 1984. Chemical evaluation of japanese scrap fish meal as a protein source of fish foods. Bull. Jap. Soc. Scient. Fisheries, Vol. 50 (12): 2065-2075;

WATANABE, T., 1977. Sparing action of lipids on dietary protein in fish - low protein with higher caloric content. Technocrat, Vol. 10: 34-39;

WATANABE, T., 1982. Lipid nutrition in fish. Comp. Biochemestry and Physiol., Vol. 73 (B): 3-15;

WATANABE, T., TAKEUCHI, T. and OGINO, C., 1980. Effect on rainbow trout elements from fish meal diet. Bull. Jap. Soc. Scient. Fisheries, Vol. 46: 1521-1525;

WATANABE, T., NANRI, H., SATOH, S., TAKEUCHI, T. and NOSE, T., 1983. Nutritional evaluation of brown meals as a protein source in diets for rainbow trout. Bull. Jap. Coc. Scient. Fish., Vol. 49: 1083-1087;

WATANABE, T., SATOH, S. and TAKEUCHI, T., 1988. Availability of minerals in fish meal to fish. Asian Fisheries Science, Vol. 1: 175-195;

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

WILSON, R.P., 1989. Protein and amino acid requirements of fishes. Progress in Fish Nutrition. Proc. Symposium in Fish Nutrition. Marine Food Science Series, Nº 9: 51-76;

WINDSOR, M. and BARLOW, S., 1981. Introduction to fishery by-product. Fishing new books, Ltd., Farnham, England: 187 pp.;

WISEMAN, J. and COLE, J., 1988. European legumes in diets for non-ruminants. Recent Advances in Animal Nutrition, Haresign, W. and Cole, D. (editors), pp. 13-36;

WOJNO, T., and DABROWSKA, H., 1984. Proba zastosowania maczki Odpadow drobiowych oraz dabatku wybreanych ami nokwasów syntetycznych w zywieniu pstraga reczowego (Salmo gairdneri Rich.). Rocziniki Nauk Rolniczych HT100, pp. 143-146;

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

VIOLA, S. and ZOHAR, Y., 1988. Unusual feedstuffs (tapioca and lupin) as ingredients for carp and tilapia feeds in intensive culture. Departement of Fisheries, POB 33, Tiberias, Israel;

VOGT, H., HARNISCH, S and KRIEG, R., 1980. Sweet lupines in poultry rations. I International Lupin Workshop, Lima, Peru, pp. 593-602;

YAMADA, K., KOBAYASHI, K. and YONE, Y., 1980. Conversion of linolenic acid to W3-highly unsaturated fatty acids in marine fishes and rainbow trout. Bull. Jap. Soc. Scient. Fish., Vol. 46: 1231-1233;

YU, T.C., SINHUBER, R. and PUTNAM, G., 1977. Effect of dietary lipids on fatty acid composition of rainbow trout. Lipids, Vol. 12: 495-499;

YURKOWSKI, M., BAILEY, J., EVANS, R., TABACHEK, J., AYLES, G. and EALES, J., 1978. Acceptability of rapeseed proteins in diets of rainbow trout (Salmo gairdneri). Journal of Fish. Res. Board Canadian, Vol. 35: 951-962;

ZAMORA, S., 1985. Comunicação pessoal. Curso Superior de Piscicultura, Instituto de Agronomia Mediterrânica, Saragoça, Setembro de 1985;