



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**FARELO DE PINHÃO-MANSO DESTOXIFICADO
NA ALIMENTAÇÃO DA TILÁPIA-DO-NILO**

MARCO AURÉLIO LOPES DELLA FLORA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Grande Dourados, UFGD, Área de Concentração em Produção Animal, como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Zootecnia**.

**Dourados, MS, Brasil
Janeiro/2014**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**FARELO DE PINHÃO-MANSO DESTOXIFICADO
NA ALIMENTAÇÃO DA TILÁPIA-DO-NILO**

MARCO AURÉLIO LOPES DELLA FLORA
Zootecnista

Orientador: Dr. Hamilton Hisano

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Grande Dourados, UFGD, Área de Concentração em Produção Animal, como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Zootecnia**.

Dourados, MS, Brasil
Janeiro/2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

D357f	<p>Della Flora, Marco Aurélio Lopes. Farelo de pinhão-manso destoxificado na alimentação da tilápia-do-nilo. / Marco Aurélio Lopes Della Flora. – Dourados, MS : UFGD, 2014. 75f.</p> <p>Orientador: Dr. Hamilton Hisano. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal da Grande Dourados.</p> <p>1. Pinhão-manso. 2. Tilápia-do-nilo. 3. Nutrição de peixes. I. Título.</p> <p>CDD – 639.31</p>
-------	--

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.

©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.

“Farelo de pinhão-manso destoxificado na alimentação da tilápia-do-nilo”

por

MARCO AURÉLIO LOPES DELLA FLORA

Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título
de MESTRE EM ZOOTECNIA

Aprovada em: 28/01/2014

Dr. Hamilton Hisano
Orientador – Embrapa Agropecuária Oeste

Dra. Mariana Silveira Guerra Moura e Silva
Embrapa Meio Ambiente

Dr. Ricardo Borghesi
Embrapa Pantanal

Dedico esta dissertação

À Deus, minha família, amigos, colegas de trabalho e orientador pelo apoio, força, incentivo, companheirismo e amizade.
Sem eles nada disso seria possível.

AGRADECIMENTOS

À Deus e aos meus mentores por me amparar nos momentos difíceis, me dar força interior para superar as dificuldades, mostrar os caminho nas horas incertas e me suprir em todas as minhas necessidades.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo;

À Embrapa Agropecuária Oeste pela oportunidade de estágio e posteriormente pela oportunidade de desenvolver esta pesquisa;

À FINEP pelo financiamento de parte desta pesquisa;

À UFGD e Programa de Pós Graduação em Zootecnia pela oportunidade concedida;

Aos meus pais Sidnei (*in memorian*) e Zilda, meu infinito agradecimento. Sempre acreditaram em minha capacidade e me apoiaram nas decisões. Obrigado pelo amor incondicional!;

Aos meus irmãos, Kátia e Eduardo, e a meus sobrinhos Pedro, Henrique e Maria Eduarda meu agradecimento especial, pois, sempre se orgulharam de mim e confiaram em meu trabalho;

À Luana Brasil pelo apoio, dedicação, incentivo, conselhos e força durante todo período do mestrado, teu carinho e compreensão foram muito importante durante todo processo. Esta vitória é tua também;

Ao Dr. Hamilton Hisano, pela orientação, ensinamentos, amizade, paciência, conselhos e incentivos que colaboraram para meu crescimento profissional;

À Dra. Márcia Ishikawa, pela oportunidade, ensinamentos, amizade, e exemplo de profissional;

À Prof. Dra. Fabiana Cavichiolo e Dra. Tarcila de Castro Silva, pelas sugestões durante a qualificação;

À doutora Simone Mendonça pela doação do farelo de pinhão-manso e análises químicas;

Ao Sr. Ari Sgarbi, pela doação dos peixes para execução deste estudo;

Aos colegas do Laboratório de Piscicultura: Thiago, Kelly, Vanessa, Nathália, Juliana, Santiago, Débora, Flávio, Glauber, Pamela, Bianca, Emily e José Luiz;

À Debora Bastos pela amizade, carinho, incentivo, conselhos, apoio e pelo grande auxílio nas análises químicas;

Aos funcionários e amigos do Laboratório de Solos da Embrapa, Mário, Paulo e Willian pelo auxílio nas análises;

Aos amigos de graduação e pós-graduação;

Enfim, agradeço a todas as pessoas que me apoiaram, de um modo ou outro, na condução dessa pesquisa.

“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei;
não fosse por elas, eu não teria saído do lugar.
As facilidades nos impedem de caminhar.
Mesmo as críticas nos auxiliam muito.”

Francisco Cândido Xavier

SUMÁRIO

CAPÍTULO I.....	ix
1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	10
2. OBJETIVOS	11
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3.1 Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	12
3.2 Características gerais e nutricionais do pinhão-manso	13
3.3 Pinhão-manso na alimentação animal	14
3.4 Destoxificação do farelo de pinhão-manso	17
3.5 Fatores antinutricionais	18
3.5.1 Éster de forbol	18
3.5.2 Inibidores de protease.....	21
3.5.3 Fitato.....	22
3.5.4 Saponina	23
3.5.5 Lectina	24
4. BIBLIOGRAFIA	25
CAPÍTULO II	37
Crescimento e metabolismo de tilápias-do-nilo alimentadas com farelo de pinhão-manso destoxificado	38
Resumo	39
Abstract.....	40
1. Introdução.....	41
2. Material e métodos	42
3. Resultados.....	48
4. Discussão	50
5. Conclusão	57
6. Referências	57
7. Tabelas.....	65
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	72
9. Anexos.....	73

CAPÍTULO I

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Estatísticas recentes publicadas pelo Ministério da Pesca e Aquicultura - MPA indicaram importante avanço da piscicultura brasileira em 2011, apresentando produção de 544.490 toneladas. Quando comparado com anos anteriores apresentou aumento de 31,1% e 51,2%, em relação a 2010 e 2009, respectivamente.

As fábricas de rações tem acompanhado tal expansão, alcançando no ano de 2012 uma produção de 740.000 t. para o segmento de aquicultura, que correspondeu ao aumento de 15%, quando comparado ao ano anterior (ZANI, 2013). Por outro lado, os custos com alguns alimentos para ração de peixes aumentaram substancialmente nesses últimos anos. O farelo de soja (FS), ainda é fonte proteica de origem vegetal mais utilizada, porém, a saca de soja de 60 kg está cotada no estado do Mato Grosso do Sul em R\$ 70,00 (AGROLINK, 2013). Dessa forma, as indústrias estão investindo na busca de potenciais sucedâneos ao FS capazes de proporcionar equivalente desempenho com custo reduzido.

O pinhão-manso destaca-se como possível substituto ao FS, com perfil nutricional superior, quando previamente descascado e desengordurado. Seu cultivo está ganhando destaque no Brasil, em virtude de seu potencial para produção de biodiesel e também por apresentar características agrônômicas interessantes, como tolerância à seca e a solos de baixa fertilidade, e principalmente, pelo alto teor de óleo da semente.

Além de alternativa para produção de biodiesel, seu óleo também pode ser empregado para iluminação em pequenas propriedades, produção de sabão e velas (EL-GAMASSY, 2008). Além disso, outras partes da planta também possuem variadas aplicações, como o uso na medicina popular, uso veterinário, ação anti-inflamatória, anticoagulante, propriedade acaricida e inseticida (MUJUMDAR & MISAR, 2004; ABDEL-SHAFY et al., 2011)

No entanto, o uso de seus coprodutos, como tortas e farelos, é limitado em função de alguns fatores tóxicos como o éster de forbol, e de antinutrientes como fitato, lectina, inibidores de protease, polissacarídeo não amiláceo e saponina. Portanto, estudos estão sendo realizados objetivando eliminar ou modificar a estrutura química do éster de forbol, para que o mesmo diminua sua toxicidade, tornando assim viável a utilização deste coproduto na alimentação animal (MENDONÇA & LAVIOLA, 2009).

A tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma espécie que se destaca pelo rápido crescimento, rusticidade e por ser amplamente difundida no país. Além disso, é representativa para a piscicultura nacional, sendo atualmente a espécie mais produzida (253.824,1 toneladas), representando 53,4% da produção aquícola continental (BRASIL, 2013).

Considerando as informações apresentadas, torna-se necessária a avaliação do potencial de uso das tortas e farelos destoxificados de pinhão-manso na alimentação de espécies com relevada importância para a aquicultura nacional, visando contribuir para o desenvolvimento das cadeias produtivas do biodiesel e da piscicultura.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral:

- Avaliar a viabilidade do uso do farelo de pinhão-manso destoxificado em rações para juvenis de tilápia.

2.2. Objetivos específicos

- Caracterizar a composição nutricional e antinutricional do farelo de pinhão-manso destoxificado;
- Substituir parte do farelo de soja pelo farelo de pinhão-manso destoxificado em dietas para juvenis de tilápia;
- Avaliar o efeito da inclusão do farelo de pinhão-manso sobre o crescimento, digestibilidade de rações experimentais, metabolismo, fisiologia e composição do filé de tilápia-do-nilo.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Tilápia (*Oreochromis niloticus*)

A produção mundial de tilápias pela aquicultura cresceu 160,27% em dez anos (2000 a 2009), enquanto o Brasil apresentou incremento da produção em 309,62%, quando considerado este mesmo período (FAO, 2011). Atualmente, é a segunda espécie mais produzida no mundo, depois das carpas, e a tendência é que se torne a principal em algumas décadas (FAO, 2011). No Brasil, a tilápia mantém a liderança na produção continental, representando 53% do total produzido (253.824,1 t.) pela aquicultura continental, cabendo destaque para o estado do Paraná (BRASIL, 2013). O país também se destaca como maior produtor de tilápia da América do Sul, seguido pela Colômbia e Equador (FAO, 2008).

Existem mais de 100 espécies de tilápias registradas mundialmente e que são agrupadas em seis gêneros: *Tilapia*, *Tristamella*, *Danakilia*, *Saroterodon*, *Oreochromis* e *Pelmatochromis*, além dos híbridos comerciais. No entanto, cerca de 20 espécies de tilápia são produzidas, especialmente nos países que apresentam clima tropical e subtropical, e as que se destacam comercialmente são: tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*), tilápia azul (*O. aureus*), tilápia Zanzibar (*O. hornorum*), tilápia-do-congo (*T. rendalli*), *O. galilaeus* e a *Tilapia zillii* (EL-SAYED, 2006).

No Brasil, a tilápia-do-nilo foi introduzida em 1971 no município de Pentecoste, estado do Ceará, por meio do Departamento Nacional de Obras Contra a Seca, DNOCS. Os animais foram importados da Costa do Marfim, na África Ocidental, e então distribuídos para as demais regiões do país (LOVSHIN, 2002; MOREIRA et al., 2007).

Animal de rápido crescimento, rústico, fácil manejo, reprodução simples, apresenta carne de ótima qualidade e possibilidade de comercialização de filés sem espinhas intramusculares (DEGANI & REVACH, 1991). É um peixe de águas quentes, 21 e 35 °C, embora tolere o frio até 15 °C ou calor acima da faixa de conforto e que aproveita eficientemente a proteína de origem animal e vegetal, além de elevados teores de carboidrato, reduzindo os custos com ração (GALLI & TORLONI, 1999). Estas

características são proporcionadas pelas adaptações fisiológicas: baixo pH estomacal e intestino longo (KUBARIK, 1997).

3.2. Características gerais e nutricionais do pinhão-mansão

O pinhão-mansão (*Jatropha curcas*) pertence à família das euforbiáceas, a qual engloba também a mamona (*Ricinus communis*), mandioca (*Manihot esculenta*) e seringueira (*Hevea brasiliensis*). Apesar de algumas divergências, grande parte dos pesquisadores afirmam que o pinhão-mansão é nativo da América do Sul e Central, tendo o México como provável país de origem, sendo também cultivado no Sudoeste da Ásia, Índia e África (NUNES, 2007; GUSMÃO, 2010).

O *J. curcas* é um arbusto perene, caducifólia que atinge em média dois a três metros de altura, sendo tolerante à seca e solos com baixa fertilidade e pedregosos (GONÇALVES et al., 2009). Por outro lado, Gusmão (2010) relata que o pinhão-mansão apresenta susceptibilidade a solos com déficit hídrico e fertilidade aquém de sua exigência, e também a pragas e doenças. A produção de óleo é cerca de três vezes superior ao da soja, com rendimento médio de 1500 kg de óleo ha⁻¹ (BECKER & MAKKAR, 1998; KING et al., 2009; NITHIYANANTHAM et al., 2012).

Informações divulgadas pela “International *Jatropha curcas* Organization”, prospectam que a área plantada em 2017 em todo o mundo alcançará 330.000 km², resultando em 160 milhões de toneladas de sementes, e cerca de 53 milhões de toneladas de torta e farelo resultantes do processo de extração do óleo (XIAO & ZHANG 2011). No Brasil, acredita-se que a área de produção atual esteja próxima de 30 mil ha, com estimativa de produção em torno de 90 mil toneladas de sementes, o que corresponderia cerca de 58 mil toneladas de torta ano por ano (MENDONÇA & LAVIOLA, 2009).

A torta de pinhão-mansão, resultante da prensagem das sementes, apresenta elevado valor nutritivo, com proteína bruta variando de 25,00 a 63,00%, extrato etéreo de 4,00 - 14,21 %, fibra bruta 36,68 - 45,00% e energia bruta em torno de 12,82 KJ g⁻¹ (ABDALLA et al., 2008; SOUZA, et al., 2009; FERNANDES, 2010). De acordo com Nunes (2007), a composição química da torta de pinhão-mansão varia conforme o genótipo e processamento, apresentando bom perfil de aminoácidos, exceto para lisina.

O autor salienta que o pinhão apresenta em média a seguinte composição: arginina (12,90%), cistina (1,58%), fenilalanina (4,89%), histidina (3,08%), isoleucina (4,85%), leucina (7,50%), lisina (3,40%), metionina (1,76%), tirosina (3,78%), treonina (3,59%), triptofano (1,31%) e valina (5,30%).

No entanto, seu uso na alimentação animal está limitado devido à presença de compostos de natureza tóxica (éster de forbol-EF), e antinutricionais como fitato, lectina, saponina, inibidores de tripsina e polissacarídeos não amiláceos (PNA) (MAKKAR et al., 1997; HAAS & MITTELBAACH, 2000; GONÇALVES et al., 2009; LAVIOLA et al., 2010; SOUSA et al., 2011; KUMAR, et al., 2011a), porém, muitos destes antinutrientes são termolábeis, exceto o fitato e PNA.

O EF (12-deoxi 16-hidroxiforbol) é o principal componente tóxico presente no pinhão, e quando ingerido pelos animais, induz respostas inflamatórias intensas, tumores, redução no consumo de ração, piora da conversão alimentar, e consequente redução no ganho de peso (GONÇALVES et al., 2009; FERNANDES, 2010). Está localizado principalmente no albúmen, e sua composição varia conforme o genótipo (DEVAPPA et al., 2010). Em variedades cultivadas no Brasil, pesquisadores encontraram concentrações de EF de 1,41 a 8,97 mg g⁻¹ (FERRARI et al., 2009; LAVIOLA et al., 2010).

Em função do conteúdo de EF, processos de destoxificação por métodos químicos e físicos são necessários para tornar viável a aplicação do farelo de pinhão-manso na alimentação animal (MENDONÇA & LAVIOLA, 2009). Por outro lado, também existe possibilidade de avaliação de acessos atóxicos oriundos de regiões do México como Quintana Roo, Vera Cruz e Morelos (MAKKAR et al., 1998).

3.3. Pinhão-manso na alimentação animal

O pinhão-manso caracteriza-se como um alimento proteico alternativo, contudo, poucos são os trabalhos desenvolvidos com acessos tóxicos, atóxicos e destoxificados sob os diferentes métodos químicos, físicos e biológicos na alimentação de várias espécies de interesse zootécnico, visando avaliar seus efeitos sobre o desempenho, digestibilidade, metabolismo e saúde dos animais.

Apenas um trabalho com a utilização do farelo de pinhão-manso foi desenvolvido para peixes até o momento no país. O farelo não tratado foi incluído em rações para tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus*) em níveis crescentes, variando de 1 a 16%. Os animais que consumiram acima de 2% de torta na ração apresentaram sinais de anorexia, hemorragia nos opérculos, escoliose, inanição, alterações teciduais das vilosidades do intestino. O tratamento com 16% de inclusão resultou em 100% de mortalidade do lote, demonstrando o efeito dos fatores antinutricionais e tóxicos do produto estudado (FERNANDES, 2010).

Na Alemanha, alguns pesquisadores da Universidade de Hohenheim estão em processo de patenteamento do método de destoxificação do farelo de pinhão-manso a partir de tratamento com solvente seguido de autoclavagem. Com os resultados obtidos por Kumar et al. (2011b), foi possível verificar que a substituição de até 50% da proteína da farinha de peixe (FP) pela do farelo de pinhão-manso destoxificado (FPMD) é viável para carpa. Além disso, o farelo apresentou alta digestibilidade para matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo e energia bruta. No entanto, os peixes alimentados com pinhão-manso apresentaram significativa redução da atividade de enzimas digestivas, atribuída à presença de alguns antinutrientes.

Resultados semelhantes foram obtidos para juvenis de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), no qual também foi possível substituir em 50% a proteína da FP pela FPMD, sem prejuízo ao desempenho, utilização dos nutrientes, metabolismo e alguns parâmetros hematológicos dos peixes que receberam o pinhão-manso em sua alimentação (KUMAR et al., 2011a).

Em pesquisa realizada com camarão-do-pacífico (*Litopenaeus vannamei*), Harter et al. (2011) observaram melhores resultados de desempenho e utilização de nutrientes nos animais que receberam dieta com FPMD em comparação aos animais que receberam a dieta controle (FP como principal fonte proteica). Estes autores também verificaram boa aceitação das rações e comportamento normal em toda fase experimental.

Em função da expansão mundial do cultivo do pinhão-manso, alguns estudos estão sendo executados com várias espécies de animais. Abdel-Shafy et al. (2011) avaliaram o efeito do farelo de semente de pinhão-manso tóxico e desengordurado (2,5; 5,0; 7,5 e 10% de inclusão) sobre os parâmetros de desempenho, efeito acaricida e

hemograma de coelhos alimentados durante oito semanas. Verificou-se redução no ganho de peso, consumo de matéria seca e piora na eficiência alimentar dos animais nos níveis de 5 a 10% de inclusão. Além de redução na concentração de hemoglobina, volume de células, conteúdo de células vermelhas, aumento do volume corpuscular; leucopenia, linfopenia e neutropenia. No grupo alimentado com 10% de farelo de *J. curcas*, verificou-se efeito acaricida, com 60-90% de rejeição dos carrapatos (*Hyalomma marginatum marginatum*).

De acordo com El-Fadel et al. (2011), cordeiros ao serem alimentados com farelo de pinhão-manso atóxico sob tratamento térmico ou biológico (*Lactobacillus acidophilus*) em substituição ao farelo de soja (25 ou 50%) apresentaram melhora na cinética de degradação; degradabilidade efetiva da matéria seca, matéria orgânica e proteína bruta, quando submetidos ao tratamento com bactéria, comparadas ao farelo não tratado, e com tratamento térmico. Para o desempenho, a substituição de 50% de farelo tratado biologicamente não interferiu no peso final, ganho médio diário e consumo alimentar dos animais alimentados durante 150 dias, confirmando a eficiência do processamento, quando corretamente utilizado, sobre a inativação dos fatores antinutricionais.

Katole et al. (2011) avaliaram o hidróxido de cálcio Ca(OH)_2 e cloridrato de sódio (NaCl) na destoxificação do farelo de pinhão-manso e posterior utilização da torta tratada quimicamente na alimentação de ovelhas. Ao término do período experimental (90 dias), os animais apresentaram redução no consumo de proteína bruta, matéria orgânica, além de alterações dos metabólitos sanguíneos (hematócrito, albumina sérica, glicose), enzimáticos (aspartato aminotransferase, fosfatase alcalina e lactato desidrogenase) e hormonais (tiroxina, triiodotironina e testosterona), no entanto, a digestibilidade dos nutrientes não foi afetada pela inclusão do farelo na dieta.

Belewu et al. (2010), ao avaliarem rações contendo torta de albúmen de *J. curcas* tratadas com fungos (*Aspergillus niger* ou *Trichoderma longibrachiatum*) na alimentação de cabras, observaram efeito negativo da inclusão de 2 ou 4% de pinhão-manso na dieta sobre todos variáveis estudadas (consumo e digestibilidade de matéria seca, proteína bruta, fibra bruta e extrato etéreo), quando comparados ao controle (torta de soja).

3.4. Destoxificação do farelo de pinhão-manso

A viabilidade do uso das tortas ou farelos de *J. curcas* na alimentação animal depende de metodologias e processos que extraíam ou modifiquem a estrutura química do EF para reduzir seus efeitos nocivos aos animais. Nesse sentido, pesquisas estão sendo realizadas a partir de tratamentos químicos, físicos e biológicos, de modo a agregar valor ao coproduto e torná-lo aplicável para uso na alimentação animal.

Makkar et al. (2009) verificaram completa degradação do EF com tratamento do óleo de pinhão-manso a 260 °C, com 3 mbar de pressão e 1% de vapor injetado. El Diwani et al. (2011) conseguiram remover 75% do EF da torta a partir de bicarbonato de sódio (NaHCO₃) seguido da adição de ozônio. Devappa & Swamylingappa (2008), conseguiram eliminar o EF do farelo de amêndoa do pinhão, durante preparo de isolado proteico. Os autores sugerem que a eficácia na remoção esteja relacionada à injeção de vapor, lavagem e eficiência na remoção do óleo, durante o processamento.

Abou-Arab & Abu-Salem (2010) avaliaram diferentes tratamentos físicos (imersão em água destilada, germinação e tostagem) e químicos (NaHCO₃, extração com etanol, NaOH) e relataram redução efetiva dos compostos fenólicos, ácido fítico, saponina e inibidores de tripsina. Redução significativa no fitato, saponina, cianeto, tanino e oxalato também foram verificados por Ameen et al. (2011), a partir de processos biológicos envolvendo tratamento com fungos *Aspergillus niger* e *Mucor mucedo*. Utilizando fermentação biológica com *Bacillus licheniformis*, Phengnuam & Suntornsuk (2013) obtiveram redução de 62% do éster de forbol, 42% do fitato e 75% dos inibidores de tripsina, não apresentando efeito sobre a lectina. Reforçando a eficácia dos métodos de destoxificação por ação biológica, Joshi et al. (2011), conseguiram a completa degradação do EF, a partir de fermentação em estado sólido por *Pseudomonas aeruginosa*.

De acordo com Belewu & Ogunsola (2010), cabras apresentaram alterações nos níveis de creatinina, ureia, neutrófilos, hemoglobina, conteúdo de células brancas e vermelhas quando substituíram até 100% da soja pelo pinhão-manso tratado com *A. niger*. Os autores concluíram que a substituição de 50% não afetou os índices séricos e hematológicos dos animais. Porém, nos tratamentos com 50 ou 100% de substituição com pinhão-manso tratado com *T. longibrachitum*, observou-se desidratação dos

animais e conseqüente morte, demonstrando a ineficiência de algumas cepas de fungos no processo de destoxificação.

Annongu et al. (2010) avaliaram o efeito de cinco métodos de destoxificação do FPMD envolvendo processos físicos (fervura e/ou tostagem) e químicos (hexano e/ou etanol) na alimentação de frangos em substituição de 5% ao farelo de soja, sobre os parâmetros de desempenho, bioquímicos e hematológicos e verificaram que não houve efeito adverso no desempenho animal e consumo alimentar, entretanto, para o tratamento que correspondeu ao método de fervura e tostagem, seguidos de fermentação foi observado alta taxa de mortalidade dos animais (83%). Os autores reportaram ainda, alterações nos níveis de colesterol sanguíneo, ureia e alanina aminotransferase, provocados pela ação das toxinas e antinutrientes do pinhão-manso.

3.5. Fatores antinutricionais

3.5.1. Éster de forbol

A principal limitação do uso do óleo e farelo de pinhão-manso como alimento é a presença do EF (12 deoxi – 16 hidroxiforbol), que pela sua alta toxicidade, tornam estes produtos impróprios para o consumo humano ou animal (PRASAD et al., 2012). Os EF são lipofílicos e encontram-se principalmente no óleo e amêndoa, são termoestáveis, e suas concentrações variam de 1 a 3 mg g⁻¹ no farelo da amêndoa e de 2 a 4 mg g⁻¹ de óleo de pinhão-manso (MAKKAR et al., 1997; DEVAPPA et al., 2011), e que podem variar conforme região onde a planta está inserida (WAKANDIGARA et al., 2013). Haas et al. (2002) identificaram a presença de 6 moléculas de éster de forbol diferentes no óleo de *J. curcas*, no entanto, todas variações da mesma molécula de diterpeno (12 deoxi – 16 hidroxiforbol) (Figura 1).

Na tabela 1 estão apresentados os conteúdos de éster de forbol presentes nas diferentes partes da planta do pinhão-manso.

Tabela1. Teores de éster de forbol em cada parte da planta *J. curcas*

Partes	Éster de forbol (mg g ⁻¹ matéria seca)
Amêndoa	2,00-6,00
Folhas	1,83-2,75
Hastes	0,78-0,99
Flor	1,39-1,83
Botões	1,18-2,10
Raízes	0,55
Látex	ND
Madeira	0,09

Fonte: MAKKAR & BECKER, 2009.

Os EF são diterpenos que causam severos sintomas tóxicos aos animais, e que atuam como agonistas do diacilglicerol, um ativador da proteína quinase C (PKC), no qual regula diferentes vias de transdução (DEVAPPA et al., 2010; 2011), e regula o crescimento e diferenciação celular (GOEL et al., 2007). Sua interação com a PKC afeta a síntese de proteína e do DNA, atividades de várias enzimas, fosforilação de proteínas, diferenciação celular e expressão gênica, além de possuir efeito co-carcinogênico, purgativo, irritação da pele, e intensa resposta inflamatória (GOEL et al., 2007).

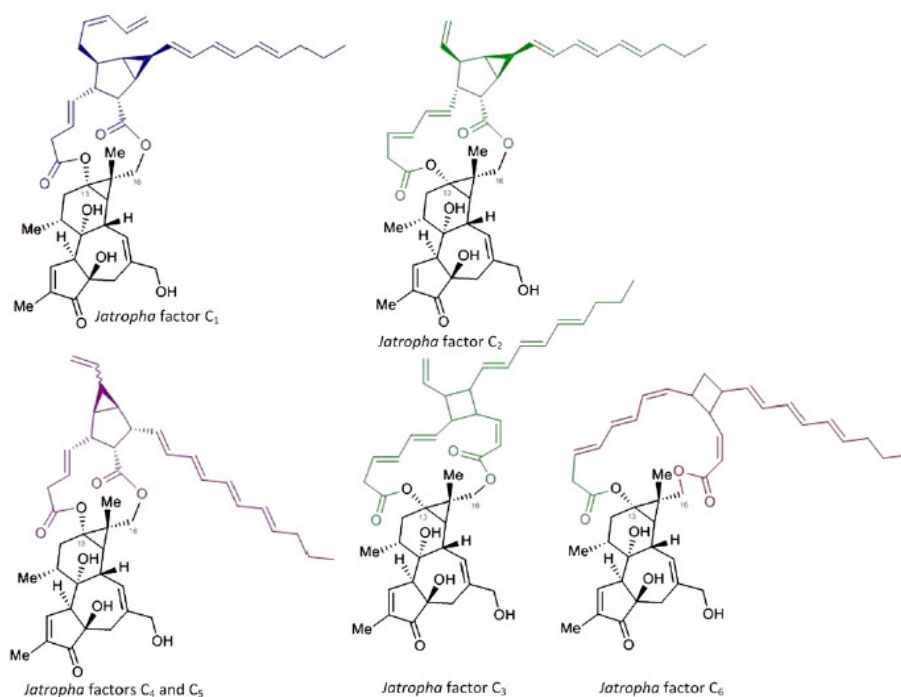
Ratos que receberam aplicação de EF intragástrica nas dosagens de 21,26 a 36,00 mg kg⁻¹ de massa corporal, demonstraram DL₅₀ com concentração de 27,34 mg kg⁻¹ de peso (LI et al., 2010). Segundo os mesmos autores, doses acima de 32,4 mg kg⁻¹ provocaram alterações histopatológicas no pulmão e rim. Além disso, o consumo de óleo de pinhão-manso em 2g kg⁻¹ de peso, causou toxicidade aguda, inibindo o nascimento de filhotes de ratos (ODUSOTE et al., 2002).

Da mesma forma, a carpa comum (*Cyprinus carpio*) demonstrou ser altamente sensível ao EF, uma vez que níveis acima de 31 µg g⁻¹ na dieta induziram rejeição ao alimento, diminuição do crescimento e produção de muco fecal. No entanto, não provocou mortalidade aos animais até mesmo na dose mais elevada de 1000 µg g⁻¹ (BECKER & MAKKAR, 1998).

Na tabela 2, apresenta alguns efeitos do éster de forbol em diferentes espécies de animais.

Tabela 2. Toxicidade do éster de forbol por diferentes animais.

Animal	Aplicação	Sintomas
Humanos	Ingestão	Ardor e dor na boca e garganta, vômitos, delírio, choque muscular, pulso acelerado e morte (WINK et al., 1997).
Bovinos	Ingestão	Diarreia, inflamação gastrointestinal, desidratação, salivação (AHMED & ADAM, 1979).
Coelhos/ roedores	Tópica	Eritema, edema, necrose, diarreia, espessamento da pele, formação de tumor (GANDI et al., 1995). Diarreia, depressão, perda de peso, morte (ADAM, 1974).
Caprinos	Ingestão	Perda de apetite, redução do consumo de água, diarreia, desidratação e efeitos hemorrágicos em vários órgãos (ADAM & MAGZOUN, 1975).
Ovinos	Ingestão	Distúrbios pulmonares, renais e hepáticos, diarreia, desidratação, caquexia e redução do consumo de alimento (FERREIRA et al., 2012).
Peixes	Ingestão	Alterações bioquímicas, redução no consumo, hemorragia opercular e na boca, escoliose, inanição, natação errática e morte (FERNANDES, 2010).

**Figura 1** – Diferentes estruturas da molécula do éster de forbol (HAAS et al. 2002).

3.5.2. Inibidores de protease

Os inibidores de tripsina (IT) estão presentes, principalmente, em cereais e leguminosas, apresentando papel fundamental na defesa das plantas, tanto contra predadores como para agentes patogênicos (RYAN, 1990). Além disso, inibem a atividade de enzimas proteolíticas pancreáticas no trato gastrintestinal de monogástricos, reduzindo o crescimento do animal pelo baixo aproveitamento da proteína, provocando hipertrofia do pâncreas por constante estímulo pela colecistoquinina na liberação de mais enzima (FRANCIS et al., 2001a).

São divididos tradicionalmente em dois grupos: os inibidores termolábeis tipo Kunits, com peso molecular entre 20 e 25 kDa e poucas ligações de dissulfeto, apresentando exclusividade para tripsina e o outro grupo, Bowman-Birk termo estável, possui peso molecular de 6 a 10 kDa e altas proporções de ligações de dissulfeto. Apresenta diferentes sítios para inibir tripsina e quimiotripsina (LIENER, 1994, FRANCIS et al., 2001a).

No pinhão-mansão, Kodekalra (2012), identificou que 95,32% dos IT estão contidos no endosperma (25,36 mg g⁻¹). Valores semelhantes (27,3 mg g⁻¹) foram determinados por Xiao & Zhang (2011), quando o farelo foi desengordurado por extração com solvente orgânico pelo método de Soxhlet. Contudo, quando extraído por prensagem, verificou-se redução significativa na atividade de IT (2,7 mg kg⁻¹), devido a elevada temperatura (120 °C) gerada no processo. Reforçando os resultados obtidos, Makkar et al. (1997) e Makkar & Becker (2009), avaliaram genótipos tóxicos e atóxicos de *J. curcas* e encontraram atividades de IT entre 18,4 e 27,3 mg g⁻¹, que foram próximos aos obtidos por Smith et al. (1980) para o FS sem tratamento térmico (18,6 a 30 mg kg⁻¹).

Avaliando acessos de pinhão-mansão atóxicos tratados ou não termicamente na alimentação de peixes e ratos, Makkar & Becker (1999) verificaram redução de 83% na atividade de IT, quando tratados com calor úmido (121 °C, 66% de umidade, por 30 a 45 minutos). Os mesmos autores não observaram efeito negativo de IT e lectina presentes no pinhão-mansão administrado para peixes, demonstrando que estes animais não são sensíveis a estes antinutrientes durante o período experimental de 35 dias. Nesse mesmo trabalho, os ratos alimentados durante sete dias, foram altamente

sensíveis a estes fatores, apresentando um peso corporal 23% menor que os animais do grupo controle.

Para tilápia-do-nylo, níveis de 1,6 mg g⁻¹ de inibidores de tripsina são prejudiciais ao crescimento, sendo aconselhável concentração de até 0,6 mg g⁻¹ de dieta, para que não se tenha interferências ao desempenho animal (WEE & CHU, 1989).

3.5.3. Fitato

O fitato é a principal forma de estoque de fósforo no tecido vegetal, sendo encontrado, tanto em animais, quanto vegetais, nas formas de inositol mono, di, tri, tetrakis e pentakisfosfato (KOHLMEIER, 2003). Porém, o inositol hexakisfosfato (IP6) é encontrado somente nas plantas, conhecido também como *myo*-inositol hexakisfosfato, ácido fítico ou fitato (LOEWUS & MURTHY, 2000).

Por complexar elementos carregados positivamente, como proteínas e minerais di e tri valentes (Ca²⁺, Mn²⁺, Mg²⁺, Zn²⁺, Cu³⁺, Fe²⁺ e Fe³⁺), o fitato reduz a biodisponibilidade para animais monogástricos, sendo considerado um dos principais antinutrientes presentes no pinhão-manso, variando entre 7,2 a 10,1%.

Os efeitos deletérios do ácido fítico foram observados para peixes. Dietas formuladas com níveis acima de 1% de ácido fítico para o salmão-do-atlântico (*Salmo salar*) resultaram em redução no consumo alimentar, crescimento e piora na conversão alimentar, além de diminuir a atividade da tripsina, digestibilidade do Zn²⁺ e Mg²⁺, e retenção de P e Mg²⁺ (DENSTADLI et al., 2006). O linguado japonês, *Paralichthys olivaceus*, também teve seu crescimento afetado, quando alimentado com níveis acima de 1,3% de ácido fítico (LAINING et al., 2010). Os mesmos autores observaram que os animais apresentaram redução no consumo de ração, redução do P e Mg²⁺ no plasma, Ca²⁺, Mg²⁺ e Zn²⁺ nas vértebras e lipídio corporal.

Para contornar os efeitos negativos causados pela presença deste antinutriente é usual a adição de fitase para degradar o inositol hexakisfosfato. No entanto, sua eficiência está relacionada com a forma de aplicação, e a espécie em estudo. Sua suplementação pode melhorar o consumo do alimento, elevar a digestibilidade dos nutrientes e energia, apresentando impacto positivo no crescimento de peixes e camarão (FOX et al., 2006; NWANNA et al., 2008; WANG, 2009).

Kumar et al. (2011c) avaliaram o crescimento, utilização de nutrientes, hematologia, respostas bioquímicas e metabólicas em tilápias alimentadas com 1,5 e 3% de fitato na dieta, com ou sem a utilização de fitase (1500 UF kg^{-1}). Os animais apresentaram comprometimento no desempenho, redução do conteúdo corporal de proteína e lipídios, hemoglobina, hematócrito e eritrócitos, além de diminuir a digestibilidade da proteína e lipídios e menor atividade de amilase e protease, quando comparado ao grupo controle.

Todavia, pesquisas realizadas com carpa comum, *Cyprinus carpio*, não verificaram melhoria no desempenho dos animais quando alimentados com até 4000 UF. Tal efeito se deve pela forma de aplicação da fitase na ração já pronta, além da característica inerentes aos ciprinídeos (ausência de estômago), resultando em pH inapropriado para a atividade desta enzima (NWANNA & SCHWARZ, 2007).

3.5.4. Saponina

As saponinas estão presentes em grande parte dos alimentos de origem vegetal utilizados para peixes. Apresentam estrutura química complexa, constituindo-se de uma variedade de glicosídeos ou esteroides, que podem ocasionar sabor amargo ao alimento, podendo reduzir a palatabilidade da dieta, proporcionar a formação de espuma quando em contato com solução aquosa, e hemólise das células vermelhas do sangue (FRANCIS, 2001a).

Por formar um complexo saponina-proteína, pode reduzir sua digestibilidade inibindo a hidrólise da quimiotripsina (SHIMOYAMADA et al., 1998). Quando presente na dieta de peixes proporciona efeitos adversos no crescimento, alterações histológicas e redução no consumo (BUREAU et al., 1998; IWASHITA et al., 2009; KNUDSEN et al., 2007).

Por outro lado, quando em adição à água, apresenta efeito tóxico, resultando em danos ao epitélio respiratório das brânquias (FRANCIS, 2001a). Além disso, possui capacidade de alterar a viscosidade intestinal, inibindo o aproveitamento de alguns nutrientes (FRANCIS, 2001a).

A saponina extraída da semente de *Sesbania aculeata*, quando administrada na dieta de carpas comum, reduziu o crescimento, elevou a conversão alimentar e diminuiu

os teores de proteína e lipídios no filé, quando adicionados em 0,24% na dieta (HOSSAIN et al., 2001).

A saponina não é considerada termolábil, porém a partir de tratamento com etanol, conseguiram reduzir em até 50% sua concentração no pinhão-manso (REDDY & PIERSON, 1994; MARTÍNEZ-HERRERA et al., 2006). Resultados mais significativos foram obtidos por Devappa et al. (2008), também com o pinhão-manso, a partir de processo envolvendo pH alcalino, precipitação isoelétrica e aplicação de vapor, com eficiência de 98%. Por outro lado, Ameen et al. (2011) testaram a destoxificação do pinhão-manso com fungos (*Aspegillus niger* e *Mucor muced*), com redução significativa após fermentação dos microrganismos, com eficiência de 77 a 83%.

Knudsen et al. (2008), em estudo com salmão-do-atlântico, verificaram que a saponina aumentou a permeabilidade do intestino, tornando o epitélio mais susceptível a antígenos da microbiota. Por outro lado, a saponina Quillaja apresentou efeito positivo em tilápias e carpas, sendo verificado um efeito promotor de crescimento (FRANCIS et al., 2001b; FRANCIS et al., 2002; FRANCIS et al., 2005).

Saponinas estão presentes no farelo de ambos os genótipos de *J. curcas* em níveis de entre 1,8 e 3,4% (como diosgenina), no entanto, estas não possuem atividade hemolítica. Além disso, os níveis de saponinas presentes em variedades tóxicas e atóxicas de pinhão-manso são semelhantes (MARTÍNEZ-HERRERA et al., 2006; MAKKAR & BECKER, 2009).

3.5.5. Lectina

A lectina é uma glicoproteína encontrada em vegetais, animais e microrganismos. Nos animais, caracteriza-se por gerar aglutinação dos eritrócitos e por ligar-se aos carboidratos no intestino, resultando em sérios danos à suas paredes (FRANCIS, 2001a).

Inicialmente se atribuía à curcina, os efeitos tóxicos gerados pela ingestão de pinhão-manso (STIRPE et al., 1976). Esta é uma lectina que tem potencial de inibir a síntese proteica, assim como a ricina, proteína tóxica isolada da semente da mamona (*Ricinus communis*), porém em estudos mais recentes, foi relatado que o efeito da

curcina é 1000 vezes menor que a ricina (GANDI et al., 1994), possivelmente por não apresentar carreadores intracelulares (STIRPE et al., 1976).

Este antinutriente é considerado termolábil (FRANCIS, 2001a), no entanto, em amostras de *J. curcas*, a lectina foi parcialmente (50%) inativada, quando submetida ao tratamento térmico (MAKKAR et al., 1998). Aregheore et al. (1998) também trabalhando com pinhão-manso, reportaram resultados de inativação usando o método (tratamento úmido + calor, 100 °C por 10 minutos) sobre a atividade hemaglutinante de 102 para 1,17 unidades.

Por outro lado, o tratamento por fermentação biológica (*Bacillus subtilis* e *B. licheniformes*) não apresentou eficácia na inativação da lectina, apesar de ter reduzido o éster de forbol, inibidores de protease e ácido fítico (PHENGNUAM & SUNTORNSUK, 2013). Já o tratamento com etanol seguido de 0,07% de NaHCO₃ reduziu consideravelmente a atividade da lectina em acesso de pinhão-manso de diferentes províncias do México (MARTÍNEZ-HERRERA et al., 2006).

A lectina, quando combinada com saponina, gerou alterações histológicas no intestino distal em trutas arco-íris (IWASHITA et al., 2009). Para carpa comum, quando alimentada com dietas com alta (51 unidades hemaglutinina) ou baixa (< 1,2 unidades) atividade de lectina foi obtido crescimento similar (MAKKAR & BECKER, 1999). Segundo os autores o efeito prejudicial é potencializado na presença de outros antinutrientes.

4. BIBLIOGRAFIA

ABDALLA, A.L.; SILVA FILHO, J.C. da; GODOI, A.R. de; CARMO, C. de A.; EDUARDO, J.L. de P. Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.260-258, 2008.

ABDEL-SHAIFY, S.; NASR, S. M.; ABDEL-RAHMAN, H. H.; HABEEB, S. M. Effect of various levels of dietary *Jatropha curcas* seed meal on rabbits infested by the adult ticks of *Hyalomma marginatum marginatum* I. animal performance, anti-tick feeding and haemogram. **Tropical Animal Health and Production**, 43, pp. 347-357. 2011.

- ABOU-ARAB, A. A; ABU-SALEM, F. M. Nutritional quality of *Jatropha curcas* seeds and effect of some physical and chemical treatments on their anti-nutritional factors. **African Journal of Food Science**. 4(3): p.93-103. 2010.
- ADAM, S. E. I. Toxic effects of *Jatropha curcas* in mice. **Toxicology**. 2:67-76. 1974.
- ADAM, S.E.I, MAGZOUN, M. Toxicity of *Jatropha curcas* for goats. **Toxicology**. 4(3):388-389. 1975.
- AGROLINK. **Cotação da Soja Grão em 28/11/2014**. Disponível em: <<http://www.agrolink.com.br/cotacoes/graos/soja>>. Acesso em: 28 nov. 2013.
- AHMED, O. M. M.; ADAM; S. E. I. **Effects of *Jatropha curcas* on calves**. Veterinary Pathology. 16:476-482. 1979.
- AMEEN, O. M.; BELEWU, M. A.; ONIFADE, O. O.; ADETUTU, S. O. Chemical composition of biologically treated *Jatropha curcas* kernel cake. **International Journal of Science and Nature**. 2(4). 757-759. 2011.
- ANNONGU, A.; BELEWU, M.; JOSEPH, J. Potentials of *Jatropha* Seeds as Substitute Protein in Nutrition of Poultry. **Research Journal of Animal Sciences**, 4(1). p. 1-4. 2010.
- AREGHEORE, E. M.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Assessment of lectin activity in a toxic and a non-toxic variety of *Jatropha curcas* using latex agglutination and haemagglutination methods and inactivation of lectin by heat treatments. **J Sci Food Agric** 77: 349–352. 1998.
- BECKER, K.; MAKKAR, H. P. S. Effect of phorbol esters in carp *Cyprinus carpio* L. **Vet. Hum. Toxicol.** v.40, p.82-86, 1998.
- BELEWU, M. A.; OGUNSOLA, F. O. Haematological and serum indices of goat fed fungi treated *Jatropha curcas* kernel cake in a mixed ration. **Journal of Agricultural Biotechnology and Sustainable Development**, p. 35-38. 2010.

BELEWU, M.; BELEWU, K.; OGUNSOLA, F. Nutritive value of dietary fungi treated *Jatropha curcas* kernel cake: Voluntary intake, growth and digestibility coefficient of goat. **Agriculture and Biology Journal of North America** , pp. 135-138. 2010.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura, Brasil 2011**, Brasília, 2013.

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

DENSTADLI, V.; SKREDE, A.; KROGDAHL, A.; SAHLSTRØM, S.; STOREBAKKEN, T. Feed intake, growth, feed conversion, digestibility, enzyme activities and intestinal structure in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) fed graded levels of phytic acid. **Aquaculture** 256, 365–376. 2006.

DEGANI, G.; REVACH, A. Digestive capabilities of three commensal fish species: carp, *Cyprinus carpio L.*, tilapia, *Oreochromis aureus x O. niloticus*, and African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1882). **Aquaculture and Fisheries Management**, v.22, p.397-403, 1991.

DEVAPPA, R.K.; SWAMYLINGAPPA, B. Biochemical and nutritional evaluation of *Jatropha* protein isolate prepared by steam injection heating for reduction of toxic and antinutritional factors. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 88:911-919. 2008.

DEVAPPA, R. K.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Optimization of conditions for the extraction of phorbol esters from *Jatropha* oil. **Biomass and Bioenergy**. 34. P. 1125 -113. 2010.

DEVAPPA, R. K.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER K. *Jatropha* Diterpenes: a Review. **J Am Oil Chem Soc**.88: p.301–322. 2011.

EL DIWANI, G. I.; EL RAFEI, S.; HAWASH, S. I. Ozone for phorbol esters removal from Egyptian *Jatropha* oil seed cake. **Advances in Applied Science Research**. 2(4):221-232. 2011.

EL-GAMASSY, I. Improved wastewater reuse practices feasibility study on growing *Jatropha* utilizing treated wastewater in Luxor, **United States Agency for International Development** Report No. 57, September 2008, Cairo, Egypt. 2008.

EL-FADEL, M.; HUSSEIN, A.; MOHAMED, A. Incorporation *Jatropha Curcas* meal on lambs ration and it's effect on lambs performance. **Nature and Science**, 2, pp. 15-18. 2011.

EL-SAYED, A. F. M. **Tilapia Culture**. CABI Publishing. Alexandria, Egypt. 293p. 2006.

FAO Food and Agriculture Organization - **The state of world fisheries and aquaculture 2008**. Rome: FAO. 2009. 196p.

FAO. **FishStatJ, a tool for fishery statistics analysis**. Rome: FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations 2011.

FERNANDES, R. N. **Valor nutritivo do farelo de pinhão-manso (*Jatropha curcas*) para alevinos de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2010. 92 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura)–Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura,, Jaboticabal, 2010.

FERRARI, R. A.; CASARINI, M. B.; MARQUES, D. A.; SIQUEIRA, W. J. Avaliação da composição química e de constituintes tóxico em acessos de pinhão-manso de diferentes origens. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 12, n. 4, p. 309-314, 2009.

FERREIRA, O. R.; BRITO, S. S.; LIMA, F. G.; MARIANO SOUZA, D. P.; MENDONÇA, S.; RIBEIRO, J. A. A.; MAIORKA, P. C.; ARAÚJO, V. L.; NEIVA, J. N. M.; FIORAVANTE, M. C. S.; RAMOS, A. T.; MARUO, V. M. Toxicidade do pericarpo da *Jatropha curcas* em ovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.64, n.3, p.559-567, 2012.

FOX, J. M.; LAWRENCE, A.; SACCARDI, A.; DAVIS, A.; RICQUE-MARIE, D.; CRUZ-SUAREZ, E.; SAMOCHA, T. Phytase supplementation in aquaculture diets improves fish, shrimp growth performance. **Global Aquaculture Advocate**, 2006.

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

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

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

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

GALLI, L. F.; TORLONI, C. E. C. **Criação de Peixes**. Livraria Nobel, S. A. São Paulo, 1999.

GANDI, V. M.; CHERIAN, K. M.; MULKY, M. J. Detoxification of castor seed meal by interaction with sal seed meal. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v.71, n.8, p 827-831. 1994.

GANDI, V. M.; CHERIAN, K. M.; MULKY, M. J. Toxicological studies on ratanjyot oil. **Food and Chemical Toxicology**. 33(1):39-42. 1995.

GOEL, G.; MAKKAR, H. P. S., FRANCIS, G., BECKER, K. Phorbol esters: Structure, biological activity and toxicity in animals. **International Journal of Toxicology**. 26: p.279-288. 2007.

GONÇALVES, S. B.; MENDONÇA, S.; LAVIOLA, B. G. Substâncias Tóxicas, Alergênicas e Antinutricionais Presentes no Pinhão-mansô e seus Derivados e

Procedimentos Adequados ao Manuseio. **Circular técnica – Embrapa Agroenergia**, Brasília, DF, Nov. p. 1-5, 2009.

GUSMÃO, C. A. G **Desempenho do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) de segundo ano submetido a diferentes doses e relação NPK** 2010. 81p. Mestrado em Produção Vegetal – Universidade Estadual de Montes Claros. Janaúba, MG. 2010.

HAAS, H.; MITTELBAACH, M. Detoxification experiments with the seed oil from *Jatropha curcas* L. **Industrial Crops and Products** V.12, p. 111–118, 2000.

HAAS W, STERK H, MITTLEBACH M. Novel 12-deoxy-16-hydroxyphorbol diesters isolated from the seed oil of *Jatropha curcas*. **Journal of Natural Products** 65, p.1434–40, 2002.

HARTER, T.; BUHRKE, F.; KUMAR, V.; FOCKEN, U.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Substitution of fish meal by *Jatropha curcas* kernel meal: Effects on growth performance and body composition of white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*), **Aquaculture Nutrition** v. 17, Issue 5, p. 542–548, 2011.

HOSSAIN, M. A.; FOCKEN U.; BECKER K. Evaluation of an unconventional legume seed, *Sesbania aculeata*, as a dietary protein source for common carp, *Cyprinus carpio* L. **Aquaculture** 198, p.129-140. 2001.

IWASHITA, Y.; SUZUKI, N.; MATSUNARI, H.; SUGITA, T.; YAMAMOTO, T. Influence of soya saponin, soya lectin, and cholytaurine supplemented to a casein-based semipurified diet on intestinal morphology and biliary bile status in fingerling rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Fish. Sci.** 75, p.1307–1315. 2009.

JOSHI, C.; MATHUR, P.; KHARE, S. K. Degradation of phorbol esters by *Pseudomonas aeruginosa* PseA during solid-state fermentation of deoiled *Jatropha curcas* seed cake. **Bioresource Technology**.102: p.4815-4819. 2011.

KATOLE, S.; SAHA, S. K.; SASTRY, V. R. B.; LADE, M. H.; PRAKASH, B. Intake, blood metabolites and hormonal profile in sheep fed processed *Jatropha* (*Jatropha curcas*) meal. **Animal Feed Science and Technology**. 170. p.21– 26. 2011.

KING, A. J.; HE, W.; CUEVAS, J. A.; FREUDENBERGER, M.; RAMIARAMANANA, D.; GRAHAM, I. A. Potential of *Jatropha curcas* as a source of renewable oil and animal feed. **Journal of Experimental Botany**, V. 60, N. 10, p. 2897–2905, 2009.

KODEKALRA, R. D **Isolation, characterization and potential agropharmaceutical applications of phorbol esters from *Jatropha curcas* oil**. 2012. 232 p. Ph.D. (Agriculture and Environmental Biochemistry/Toxicology) Thesis submitted to the University of Hohenheim, Stuttgart, Germany. 2012.

KOHLMEIER, M. Water-soluble vitamins and non-nutrients: Inositol. In: **Nutrient Metabolism**, 1.ed., p.634-642. 2003.

KUBARIK, J. Tilapia on highly flexible diets. **Feed International**, v. 6, p.16-18, 1997.

KUMAR, V.; MAKKAR, H. P. S.; AMSELGRUBER, W. ; BECKER, K. Physiological, haematological and histopathological responses in common carp (*Cyprinus carpio L.*) fingerlings fed with differently detoxified *Jatropha curcas* kernel meal. **Food and Chemical Toxicology** 48. 2063–2072. 2010.

KUMAR, V.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Nutritional, physiological and haematological responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles fed detoxified *Jatropha curcas* kernel meal. **Aquaculture Nutrition**, v.17, p.451-467, 2011a.

KUMAR, V.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Detoxified *Jatropha curcas* kernel meal as a dietary protein source: growth performance, nutrient utilization and digestive enzymes in common carp (*Cyprinus carpio L.*) fingerlings. **Aquaculture Nutrition**, v. 17, Issue 3, p.313–326, 2011b.

KUMAR, V.; MAKKAR, H. P. S.; DEVAPPA, R. K.; BECKER, K. Isolation of phytate from *Jatropha curcas* kernel meal and effects of isolated phytate on growth, digestive physiology and metabolic changes in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus L.*). **Food and Chemical Toxicology**. 49, 2144–2156, 2011c.

KNUDSEN, D.; URAN, P. A.; ARNOUS, A.; KOPPE, W.; FRØKIÆR, H. Saponin-containing sub-fractions of soybean molasses induce enteritis in the distal intestine of Atlantic salmon. **J. Agric. Food Chem.** 55, p.2261–2267. 2007.

KNUDSEN, D.; JUTFELT, F.; SUNDH, H.; SUNDELL, K.; KOPPE, W.; FRØKIÆR, H. Dietary soya saponins increase gut permeability and play a key role in the onset of soybean induced enteritis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L). **Br. J. Nutr.** 100, p.120–129. 2008.

LAINING, A.; TRAI FALGAR, R. F.; THU, M.; KOMILUS, C. F.; KADER, M. A. Influence of dietary phytic acid on growth, feed intake, and nutrient utilization in juvenile japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. **J. World Aquacult. Soc.** 41(5), p.476-755. 2010.

LAVIOLA, B. G.; MENDONÇA, S.; RIBEIRO, J. A. A. Caracterização de acessos de pinhão-manso quanto a toxidez. In: **IV Congresso Brasileiro de Mamona e I Simpósio Internacional de Oleaginosas Energéticas**, João Pessoa, PB, p.1617-1622, 2010.

LI, C.; DEVAPPA, R. K.; LIU, J.; LV, J.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Toxicity of *Jatropha curcas* phorbol esters in mice. **Food and Chemical Toxicology** 48. p. 620–625. 2010.

LIENER, I. E. Implications of antinutritional components in soybean foods. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.34, n.1, p.31-67, 1994.

LOEWUS, F. A.; MURTHY, P. P. N. *Myo*-inositol metabolism in plants. **Plant Science**, v.150, p.1-19, 2000.

LOVSHIN, L. L. Tilapia culture in Brazil. IN COSTA-PIERCE, B.A.; RAKOCY, J.E., eds. **Tilapia Aquaculture in the Americas**, v.2. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, United States, p.113-140, 2002.

- MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K.; SPORER F.; WINK, M. Studies on nutritive potential and toxic constituents of different provenances of *Jatropha curcas*. **J Agric Food Chem** 45: p.3152–3157. 1997.
- MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K.; SCHMOOK, B. Edible provenances of *Jatropha curcas* from Quintana Roo State of Mexico and effect of roasting on antinutrient and toxic factors in seeds. **Plant Foods for Human Nutrition**.52:31-36.1998.
- MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Nutritional studies on rats and fish (carp *Cyprinus carpio*) fed diets containing unheated and heated *Jatropha curcas* meal of a non-toxic provenance. **Plant Foods Human Nutrition**, 53, 182–292. 1999.
- MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. *Jatropha curcas*, a promising crop for the generation of biodiesel and value-added coproducts. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 111, 773–787. 2009.
- MAKKAR, H. P. S.; MAES, J.; DE GREYT W.; BECKER, K. Removal and degradation of phorbol esters during pre-treatment and transesterification of *Jatropha curcas* oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**.86:173-181. 2009.
- MARTÍNEZ-HERRERA, J.; SIDDHURAJU, P.; FRANCIS, G.; DA VILA-ORTIZ, G., BECKER, K. Chemical composition, toxic/antimetabolic constituents, and effects of different treatments on their levels, in four provenances of *Jatropha curcas* L. from México. **Food Chemistry** 96, p.80–89. 2006.
- MENDONÇA, S.; LAVIOLA, B. G. Uso potencial e toxidez da torta de pinhão-manso. **Comunicado técnico-EMBRAPA**, Brasília, DF, p.1-8. 2009.
- MOREIRA, A. A.; HILSDORF, A. W.; da SILVA, J. V.; de SOUZA, V. R. Variabilidade genética de duas variedades de tilápia nilótica por meio de marcadores microssatélites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília. v.42, n.4, p.521-526, 2007.
- MUJUMDAR, A. M.; MISAR, A.V. Anti-inflammatory activity of *Jatropha curcas* roots in mice and rats. **Journal of Ethnopharmacology** 90, 11–15. 2004.

NITHIYANANTHAM, S.; SIDDHURAJU, P.; FRANCIS, G. Potential of *Jatropha curcas* as a Biofuel, Animal Feed and Health Products. **Journal of the American Oil Chemists Society**. v.89, n.1 2012.

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

NWANNA, L. C.; SCHWARZ, F. J. Effect of supplemental phytase on growth, phosphorus digestibility and bone mineralisation of common carp (*Cyprinus carpio* L). **Aquaculture Research** 38, p. 1037-1044. 2007.

NWANNA, L. C.; KOLAHSA, M.; EISENREICH, F.; SCHWARZ, F.J. Pre-treatment of dietary plant feedstoffs with phytase and its effect on growth and mineral concentration in common carp (*Cyprinus carpio* L). **J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.** 92 (6), p. 677-682. 2008.

ODUSOTE, O. M.; ABIOYE, A. O.; ROTIBI, M. O. *Jatropha curcas* seed oil Linn (*Euphorbiaceae*) contraceptive activity and on oral formulation. **Nig. Qt. J. Hosp. Med.** 12:44–47. 2002.

PHENGNUAM, T.; SUNTORNSUK, W. Detoxification and anti-nutrients reduction of *Jatropha curcas* seed cake by *Bacillus* fermentation. **Journal of Bioscience and Bioengineering**. 115 (2), 168 - 172, 2013.

PRASAD, L.; PRADHAN, S.; DAS, L. M.; NAIK. S. N. Experimental assessment of toxic phorbol ester in oil, biodiesel and seed cake of *Jatropha curcas* and use of biodiesel in diesel engine. **Applied Energy**. 93. p.245–250. 2012.

REDDY, N. R.; PIERSON, M. D. Reduction in antinutritional and toxic components in plant foods by fermentation. **Food Res. Int.** 27, 281–290. 1994.

RICHTER, N. **Evaluation of suitability of non-toxic and detoxified *Jatropha curcas* L. meal as feed for fingerling common carp, *Cyprinus carpio* L.: with reference to phytase application**. 2012. 167 p. Ph.D. (Aquaculture Systems and Animal Nutrition) Thesis submitted to the University of Hohenheim, Stuttgart, Germany. 2012.

RYAN, C. A. Protease inhibitors in plants: genes for improving defence against insects and pathogens. **Annu Rev Phytopathol** 28: p.425–449. 1990.

SHIMOYAMADA, M.; IKEDO, S.; OOTSUBO, R.; WATANABE, K. Effects of soybean saponins on chymotryptic hydrolyses of soybean proteins. **J. Agric. Food Chem.** 46 (12). p.4793-4797. 1998.

SMITH, C.; VAN MEGEN, W.; TWAALFHOVEN, L.; HITCHCOCK, C. The determination of trypsin inhibitor levels in foodstuffs, **J. Sci. Food Agric.**, 31, 341, 1980.

SOUSA, T. V.; ALKIMIM, E. R.; SOUZA, S. A.; COSTA, M. R. Uso de marcadores SSR para caracterização molecular de acessos de *Jatropha curcas* L. quanto à toxidez. XII Seminário de Pesquisa e Pós – Graduação, **Anais**, Unimontes, MG, p.1-4, 2011.

SOUZA, A. D. V.; FÁVARO, S. P.; ÍTAVO, L. C. V.; ROSCOE, R. Caracterização química de sementes e tortas de pinhão-manso, nabo-forrageiro e crambe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.10, p.1328-1335, 2009.

STIRPE, F.; PESSION BRIZZI, A.; LORENZONI, E.; STROCHI, P.; MONTANARO, L.; SPERTI, S. Studies on the proteins from the seeds of *Croton tiglium* and *Jatropha curcas*. **Biochemical Journal** 156, p.1–6. 1976.

WAKANDIGARA, A.; NHAMO, L. R. M.; KUGARA, J. Chemistry of phorbol ester toxicity in *Jatropha curcas* seed – a review. **International Journal of Biochemistry Research & Review**. 2013

WANG, F; YANG, Y. H.; HAN, Z. Z.; DONG, H. W.; YANG, C. H.; ZOU, Z. Y. Effects of phytase pretreatment of soybean meal and phytase-sprayed in diets on growth, apparent digestibility coefficient and nutrient excretion of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). **Aquaculture International**, v. 17, p.143-157, 2009.

WANG, H.; CHEN, Y.; ZHAO, Y.; LIU, H.; LIU, J.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Effects of replacing soybean meal by detoxified *Jatropha curcas* kernel meal in the diet of growing pigs on their growth, serum biochemical parameters and visceral organs. **Animal Feed Science and Technology** 170. P.141– 146. 2011.

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

WINK, M.; KOSCHMIEDER, C.; SAUERWEIN, M.; SPORER, F. Phorbol esters of *J. curcas* – Biological activities and potential applications; **Biofuel and Industrial Products from *Jatropha curcas***. GÜBITZ, G.M.; MITTELBAACH, M.; TRABI, M.: GRAZ, Austria.160-166. 1997.

XIAO, J.; ZHANG, H. Comparative evaluation of *Jatropha curcas* L. seed meals obtained by different methods of defatting on toxic, antinutritional and nutritive factors. **Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 6, 2011.

ZANI, A. 2013 Projeta apenas recuperação das perdas acumuladas no ano passado. **Setor de alimentação animal. Boletim Informativo do Setor. SINDIRAÇÕES**, maio, 2013.

CAPÍTULO II

**Crescimento e metabolismo de tilápias-do-nilo alimentadas com farelo
de pinhão-manso destoxificado**

Artigo adaptado às normas da **Food and Chemical Toxicology**

Resumo

A torta/farelo de pinhão-manso (*Jatropha curcas*) é um alimento proteico com potencial de substituição ao farelo de soja em rações para peixes. Em função da presença de compostos tóxicos (éster de forbol) e alguns antinutrientes, o processo de destoxificação deste coproduto é recomendado. Entretanto, faltam informações a respeito de seu valor nutritivo e da ação dos fatores antinutricionais na alimentação de peixes. Por 65 dias foi avaliado o efeito da inclusão do farelo de pinhão-manso destoxificado (FPMD) por solvente, seguido de extrusão em dietas para tilápia-do-nylo. Foram utilizados 200 peixes com $3,59 \pm 0,06$ g de peso médio inicial, os quais foram distribuídos aleatoriamente em 20 gaiolas de 70L em delineamento inteiramente casualizado. Os peixes foram alimentados com dietas (isoproteicas = 26,81% PD, isoenergéticas = 12,71 KJ ED g⁻¹ e isofibrosas = 6,41% de FB), contendo níveis crescentes de inclusão de FPMD (0,0; 3,0; 6,0; 9,0 e 12,0%), totalizando cinco tratamentos e quatro repetições. O peso médio final, ganho de peso, taxa de crescimento específico, conversão alimentar aparente e consumo total de ração apresentaram efeito linear decrescente ($p < 0,05$). Os dados de hemoglobina, volume corpuscular médio, índices hepatossomático de gordura visceral, quociente intestinal, proteínas plasmáticas totais, triglicerídeos, e os teores de lipídeos, ferro e zinco no filé tiveram seus valores significativamente reduzidos. O oposto foi verificado para aspartato e alanina aminotransferases, e teores de fósforo e magnésio no filé. Os dados de hematócrito, eritrócitos, concentração de hemoglobina corpuscular média, índices digestivo e esplenossomático, níveis de colesterol e glicose, e teores de proteína bruta, cálcio e cobre no filé não foram afetados pelos distintos tratamentos. Os peixes apresentaram mortalidade a partir da segunda semana do início do experimento, com sobrevivência de 100; 65; 90; 70 e 50% para FPMD 0; 3; 6; 9 e 12, respectivamente, porém não observou-se diferença ($p > 0,05$). A presença de fatores antinutricionais e tóxicos residuais presentes no pinhão-manso proporcionou efeitos negativos ao desempenho e saúde dos peixes.

Palavras-chave: Antinutricionais, intoxicação, oleaginosa, *Oreochromis niloticus*.

Abstract

Jatropha curcas cake/meal is an alternative protein feedstuff with potential to replace soybean meal in fish diets. Due to the presence of toxic compounds (phorbol ester) and some anti-nutrients, a detoxification process is recommended. However, there is not sufficient information regarding its nutritional value and the action of anti-nutritional factors in fish feeding. Levels of jatropha meal (DJM) detoxified by solvent, followed by extrusion in diets of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) was evaluated for 65 days. A total of 200 fish with 3.59 ± 0.06 g initial weight were distributed in 20 cages (70 L) in a completely randomized design. The fish were fed diets (isonitrogenous CP = 26.81%, isoenergetic = 12.71 KJ of DE g⁻¹ and isofibrous = 6.41% of CF) containing increasing levels of DJM (0.0, 3.0, 6.0, 9.0 and 12.0%) corresponded to five treatments and four repetitions. The average final weight, weight gain, specific growth rate, feed conversion ratio, and total feed intake presented a decreasing linear effect ($p < 0.05$). Data showed that hemoglobin, mean corpuscular volume, hepatosomatic indexes of visceral fat, intestinal quotient, total plasma protein, triglycerides, and lipid levels, iron and zinc in the fillet reduced significantly ($p < 0.05$). The opposite was observed for aspartate and alanine aminotransferasis, as well as for concentrations of phosphorus and magnesium in the fillet. Hematocrit, erythrocyte, mean corpuscular hemoglobin concentration, digestive and esplenossomatic indexes, cholesterol and glucose, and total protein, calcium and copper in the fillet were not affected by the different treatments. Fish showed mortality from the second week counting from the beginning of the experiment, with a survival of 100, 65, 90, 70 and 50% for DJM 0, 3, 6, 9 and 12, respectively, without difference ($p > 0.05$). The anti-nutritional factors and toxic residues present in the jatropha provided negative performance and fish health.

Keywords: Antinutritional, intoxication, oilseed, *Oreochromis niloticus*

1. Introdução

A tilápia *Oreochromis niloticus* é uma espécie que se destaca pelo rápido crescimento, rusticidade e por ser amplamente difundida em vários países tropicais e sub-tropicais (DEGANI & REVACH, 1991). Em 2009, sua produção mundial superou três milhões de toneladas, e o Brasil contribuiu com 4% deste volume (FAO, 2011). Atualmente é a espécie mais produzida (253.824,1 t.) na piscicultura brasileira, representando 53,4% da produção aquícola continental (BRASIL, 2013).

O farelo de soja (FS) é a fonte proteica de origem vegetal mais utilizada nas formulações de rações para peixes (EL-SAYED, 1999), em virtude de seu elevado teor proteico, alta digestibilidade, perfil de aminoácidos e disponibilidade durante todo o ano (STOREBAKKEN et al., 2000). No entanto, mesmo o Brasil sendo um dos maiores produtores de soja do mundo, com uma estimativa de safra de 90 milhões de toneladas em 2014 (CONAB, 2014), nesses últimos anos, houve aumento expressivo do preço do grão e do farelo de soja, que impactou no preço final das rações para peixes. Além disso, a demanda externa e interna de consumo da soja para alimentação humana está crescendo, tornando necessário identificar outras fontes proteicas vegetais de baixo custo e com potencial para serem utilizadas em dietas para peixes.

O pinhão-manso, quando previamente descascado e desengordurado, apresenta perfil nutricional superior ao do FS (XIAO & ZHANG, 2011). Atualmente, seu cultivo está ganhando destaque no Brasil, em virtude de seu potencial para produção de biodiesel e pela tolerância a seca e a solos de baixa fertilidade, e principalmente, pelo alto teor de óleo da semente (EL-GAMASSY, 2008). Além disso, apresenta ação anti-inflamatória, anticoagulante, propriedade acaricida e inseticida com aplicação medicinal e veterinária (MUJUMDAR & MISAR, 2004; ABDEL-SHAFY et al., 2011).

Informações divulgadas pela “International *Jatropha curcas* Organization” prospectam que a área plantada de pinhão-manso em 2017 em todo o mundo alcançará 330.000 km², resultando em uma produção de 160 milhões de toneladas de sementes, e cerca de 53 milhões de toneladas de torta e farelo resultantes do processo de extração do óleo (XIAO & ZHANG, 2011). No Brasil, estima-se que a área de produção atual seja cerca de 30 mil hectares, com projeções de produção em torno de 90 mil toneladas de grãos, o que proporcionaria em média 58 mil toneladas de torta/ano (MENDONÇA & LAVIOLA, 2009).

No entanto, o uso na alimentação animal de seus coprodutos (tortas e farelos) é limitado em função de fatores tóxicos, como o éster de forbol, e antinutricionais como fitato, lectina e saponina. Portanto, é necessário avaliar metodologias que visem extrair ou modificar a estrutura química do EF e reduzir seus efeitos nocivos aos animais. Nesse sentido, pesquisas estão sendo realizadas para destoxificar o pinhão-manso a partir de tratamentos químicos, físicos e biológicos, de modo a agregar valor ao coproduto e torná-lo viável para seu amplo uso na alimentação animal (MENDONÇA & LAVIOLA, 2009; BELEWU et al., 2010; KUMAR et al., 2010; EL-FADEL et al., 2011).

Assim, objetivou-se com a presente pesquisa avaliar o crescimento, resposta metabólica e digestibilidade das dietas experimentais para juvenis de tilápia alimentadas com farelo de pinhão-manso destoxificado.

2. Material e métodos

2.1 Preparo do farelo de pinhão-manso

O pinhão-manso (com casca) foi prensado mecanicamente para extração do óleo da semente e, posteriormente, o farelo foi separado e tratado com dois solventes à 45-50 °C e seco em temperatura ambiente. Em seguida, o material foi submetido ao tratamento térmico, pressão e umidade ao ser processado em extrusora de dupla rosca Clextral (Firminy, França) com perfil de temperatura em torno de 130 °C e velocidade de rotação das roscas de 250 rpm, com adição de hidróxido de sódio durante o processamento na Embrapa Agroenergia, Brasília, DF, Brasil.

2.2 Peixes e condições experimentais

Para avaliação do desempenho foi utilizado um sistema de recirculação com troca parcial de água, composto por cinco caixas de fibra com volume total de 1000 L

cada, com entrada e saída de água independentes, filtragem física, biológica e temperatura mantida por trocador de calor e aeração por compressor radial (1cv).

Em cada caixa foram alojadas quatro gaiolas com volume de 70 L, totalizando vinte gaiolas. Após período de adaptação de 20 dias, os peixes foram anestesiado em solução de benzocaína (50 mg L^{-1}) e submetidos a biometria inicial, em que foram selecionados 200 juvenis de tilápia (dez peixes / gaiola), linhagem GIFT, com peso médio inicial de $3,59 \pm 0,064\text{g}$, obtidos de piscicultura comercial em Palotina, PR, Brasil, e transportados até o Laboratório de Piscicultura da Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados, MS, Brasil.

Os peixes foram alimentados durante 65 dias com dietas isoproteicas (26,81% de PD), isocalóricas (3036 Kcal de ED kg^{-1}) e isofíbricas (6,41% de FB), formuladas para atender as exigências da espécie (FURUYA, 2010; NRC, 2011) sendo incluídos cinco níveis de farelo de pinhão-manso na dieta (0; 3; 6; 9 e 12%) (Tabela 1) em delineamento experimental inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições. Os ingredientes utilizados para confecção das rações experimentais foram moídos, pesados, homogeneizados e umedecidos para processamento em moedor industrial. Posteriormente, as rações foram desidratadas em estufa de circulação de ar forçado a $55 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 horas. Após, foram moídas em tamanhos de 1 a 2 mm, embaladas e armazenadas a $-18 \text{ }^\circ\text{C}$ até sua utilização. As dietas de uso imediato foram pesadas e mantidas em refrigerador, e fornecidas quatro vezes ao dia (8:00; 11:00; 14:00 e 17:00 h) até saciedade aparente.

Periodicamente foram realizadas sifonagens, com intuito de retirar fezes e eventuais sobras de ração, para manutenção da qualidade da água. Diariamente foram aferidas a temperatura da água ($28,41 \pm 0,73 \text{ }^\circ\text{C}$) e oxigênio dissolvido ($6,63 \pm 0,47 \text{ mg L}^{-1}$) com auxílio de multiparâmetro digital (YSI, 55 A), e semanalmente a alcalinidade total, $39,63 \pm 1,02 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$, amônia total, $0,06 \pm 0,02 \text{ ppm}$, nitrito, $0,01 \pm 0,01 \text{ ppm}$ com kit colorimétrico (Alfakit[®]), e pH, $7,52 \pm 0,16$, com pHmetro digital de bancada (Marconi, MA522/P).

Para a biometria de 30 dias, após período de jejum (24 h), os peixes foram previamente sedados com benzocaína (100 mg L^{-1}), pesados e medidos para acompanhamento do crescimento dos animais e status de saúde. Ao final do experimento (65 dias), os animais permaneceram em jejum por 24 h, após, foram

anestesiados, pesados individualmente, medidos, contados e posteriormente, abatidos por sobredosagem de anestésico (250mg L^{-1}) seguido de secção da medula. Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética para Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal da Grande Dourados, sob o protocolo nº 026/2012.

2.3 Determinação do éster de forbol e antinutrientes

O procedimento de extração do éster de forbol - EF foi realizado de acordo com metodologia proposta por Makkar et al. (2009), com extração por tetraidrofurano, e posteriormente foi adicionado metanol para leitura em HPLC, no qual os valores foram expressos a partir de um padrão comercial. Esta análise foi realizada no Laboratório de Análises Químicas e Instrumentais da Embrapa Agroenergia, DF, Brasil.

Os antinutrientes foram analisados pelo Laboratório Físico-Químico da Embrapa Agroindústria de Alimentos, Guaratiba, RJ, Brasil. Os inibidores de tripsina (IT) foram determinados por procedimentos espectrofotométricos pelo método, Ba 12-75, descrito pela American Oil Chemists' Society (2009), e fitato determinado por metodologia modificada da AOAC (2010) (Método: 986.11), expresso em mg de ácido fítico por grama de amostra.

2.4 Composição química

As análises de composição química dos ingredientes, dietas, filés (três peixes/repetição) e fezes foram realizadas no Laboratório de Solos, Plantas e Corretivos da Embrapa Agropecuária Oeste, seguindo a metodologia proposta pela AOAC (2010). As amostras foram analisadas quanto à matéria seca, minerais (P, Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} e Fe^{2+}), proteína bruta e lipídios. Nas rações experimentais e farelo, foram também determinados FDA, FDN e energia bruta.

2.5 Variáveis de crescimento e sobrevivência

O desempenho foi avaliado quanto ao peso final (PF), taxa de crescimento específico (TCE), ganho de peso (GP), ganho em peso diário (GPD), conversão alimentar aparente (CAA), consumo total de ração (CTR), e sobrevivência (SO). Estes foram calculados como segue:

$$-TCE (\% \text{ dia}^{-1}) = (\ln (\text{peso final}) - \ln (\text{peso inicial})/\text{dias}) * 100;$$

$$-GPD (\text{g}) = (\text{peso final} - \text{peso inicial})/\text{dias};$$

$$-CAA = (\text{consumo total})/(\text{biomassa final} - \text{biomassa inicial});$$

$$-\text{Consumo total de ração (CTR)};$$

$$-SO = (\text{n}^\circ \text{ de peixes final experimento}/\text{n}^\circ \text{ peixes no início do experimento}).$$

2.6 Índices somáticos

Três peixes por repetição foram abatidos, pesados, eviscerados, filetados, retirados e pesados a gordura, baço, fígado e trato gastrointestinal. Para análise do índice de gordura visceral (IGV), índice digestivo somático (IDS), Índice hepatossomático (IHS), e índice esplenossomático (IES).

Os índices foram avaliados pelas seguintes fórmulas:

$$-IGV (\%) = (\text{peso da gordura visceral}/\text{peso inteiro}) * 100;$$

$$-IDS (\%) = (\text{peso trato}/\text{peso inteiro}) * 100;$$

$$-IHS (\%) = (\text{peso fígado}/\text{peso inteiro}) * 100;$$

$$-IES (\%) = (\text{peso baço}/\text{peso inteiro}) * 100.$$

2.7 Análises hematológicas bioquímicas e enzimáticas

Doze peixes por tratamento foram anestesiados em benzocaína e o sangue colhido com auxílio de seringa de 1,0 mL por meio de venopunção caudal. Uma alíquota foi destinada para extensão sanguínea, as quais foram posteriormente coradas com corante May Grünwald-Giemsa-Wright (TAVARES-DIAS & MORAES, 2003). O anticoagulante usado foi EDTA 3%. As amostras foram acondicionadas nos tubos, refrigeradas e imediatamente destinadas para análise.

Foram determinados os valores de eritrócitos através da técnica de diluição em solução de formolcitrato (1:200). Para hematócrito utilizou-se o método do microhematócrito, com contagem em hemocitômetro (GOLDENFARB et al., 1971). A concentração de hemoglobina foi determinada pelo método da cianometahemoglobina, utilizando kit comercial para determinação colorimétrica (Analisa Diagnóstica). Com base nos resultados anteriores, calculou-se ainda, os índices hematimétricos: volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM).

O colesterol total e triglicerídeo foram analisados por kits bioquímicos colorimétricos da marca Goldanalisa, com leitura em analisador semi-automático (BIOPLUS). As proteínas plasmáticas totais (PPT) foram determinadas por refratometria, e a glicose pelo aparelho portátil Accu-Chek[®] performa.

Além disso, as atividades das enzimas transaminases, aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) foram quantificadas também em analisador semi-automático (BIOPLUS), pelo método cinético, utilizando kit comercial (Analisa Diagnóstica).

2.8 Digestibilidade das dietas experimentais

As tilápias (50g) foram alimentadas durante duas semanas com as rações experimentais adicionadas de marcador inerte, 0,1% de óxido de crômio (Cr₂O₃). As coletas foram realizadas em aquários de formato cilíndrico e fundo cônico (250 L) com registro na extremidade inferior adaptado para tubos de rosca, local de deposição das fezes dos peixes.

Durante as coletas de fezes, os animais foram alimentados *ad libitum* pela manhã e tarde, após, transferidos para os aquários de coleta, onde permaneceram até a manhã do dia seguinte, para a coleta das fezes. O procedimento de coleta foi realizado a cada dois dias, para minimizar o estresse aos animais.

O cálculo do coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca das rações experimentais foi feito pela fórmula CDA MS (%) = $[1 - \{(\% \text{Cr}_2\text{O}_3\text{r})/(\% \text{Cr}_2\text{O}_3\text{f})\}] \times 100$.

Para cálculo dos demais nutrientes utilizou-se a fórmula proposta por Cho & Slinger (1979):

$$Da = 100 - \left[100 \left(\frac{\% \text{Cr}_2\text{O}_3\text{r}}{\% \text{Cr}_2\text{O}_3\text{f}} \right) \times \left(\frac{\% \text{N}_f}{\% \text{N}_r} \right) \right]$$

Onde:

Da = Digestibilidade aparente;

Cr₂O₃r = % de óxido de cromo na ração;

Cr₂O₃f = % de óxido de cromo nas fezes;

Nr = Nutrientes na ração;

Nf= Nutriente nas fezes.

O delineamento experimental utilizado para analisar os coeficientes de digestibilidade da proteína, extrato etéreo, matéria seca, disponibilidade de minerais foi o inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e quatro repetições (dia de coleta).

2.9 Análises estatísticas

Os resultados foram submetidos a teste de normalidade, homogeneidade da variância, seguido por análise de variância. Nos dados de crescimento, e quando significativo, realizou-se análise de regressão polinomial em nível de 5% de significância. Nas demais variáveis avaliadas foram comparadas pelo teste de Tukey. As que não apresentaram distribuição normal foram analisadas através do teste de Kruskal-Wallis. O SPSS 13.0 foi utilizado para realização destas análises estatísticas.

3. Resultados

3.1 Composição química, éster de forbol e antinutrientes no farelo destoxificado

O farelo apresentou 95,52% de matéria seca (MS), 18,00 KJ g⁻¹ de energia bruta, 27,19% de proteína bruta (PB), 40,92% de FDA, 61,50% de FDN, 1,65% de extrato etéreo (EE), 0,42% de cálcio e 0,82% de fósforo. O conteúdo de éster de forbol foi de 0,023 mg g⁻¹ (23 ppm). O teor de fitato foi 21,49 mg g⁻¹ (2,15%) e atividade de inibidor de tripsina de 1.153,89 TIU g⁻¹.

3.2 Desempenho produtivo

O peso médio final (PMF), taxa de crescimento específico (TCE), ganho em peso (GP), ganho de peso diário (GPD), conversão alimentar aparente (CAA), consumo total de ração (CTR) foram afetados pela inclusão do pinhão-mansão na dieta (tabela 2). Os dados de PMF, GP, GPD, TCE e CTR apresentaram efeito linear negativo, e o inverso foi observado para a CAA ($p < 0,05$). Para a SO não foi verificada diferença ($p > 0,05$) entre os níveis de pinhão-mansão na dieta.

3.3 Digestibilidade da matéria seca e nutrientes

Os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da matéria seca (MS) e nutrientes estão descritos na tabela 3. Para MS e fósforo das dietas experimentais não foi observado diferença ($p > 0,05$). Por outro lado, o CDA da proteína, extrato etéreo e cálcio foram reduzidos significativamente a partir do tratamento FPMD 9, entretanto, sem diferir do FPMD 12. Para os CDAs do ferro e zinco verificou-se efeito negativo do pinhão-mansão na ração apenas com adição de 12%, comparados a todos demais tratamentos que foram equivalentes ao FPMD 0.

3.4 Avaliações hematológicas

Os valores de hemoglobina (Hb), hematócrito (Htc), contagem de eritócitos (Erit), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e volume corpuscular médio (VCM) estão descritos na tabela 4. As variáveis de Htc, Erit e CHCM não apresentaram efeito entre os tratamentos ($p > 0,05$).

Por outro lado, verificou-se redução no conteúdo de Hb com a inclusão do pinhão-mansão na dieta, não diferindo entre os tratamentos FPMD 0 e 6, no entanto, apesar dos tratamentos com 9 e 12% de substituição não apresentarem diferença, estes apresentaram valores abaixo ($p < 0,05$) aos obtidos no grupo controle. O VCM foi menor nos tratamentos FPMD 3 e 12, não diferindo entre si e também com FPMD 0 e 9. O maior valor foi detectado no tratamento com 6% de inclusão, e este não diferiu do 0 e 9%, respectivamente.

3.5 Índices somáticos

Os dados do índice hepatossomático (IHS), índice esplenossomático (IES), índice de gordura visceral (IGV), índice digestivossomático (IDS) dos diferentes grupos experimentais, estão descritos na tabela 5. O maior IHS foi detectado no grupo FPMD 0, que diferiu significativamente do FPMD 9 e 12%. Por outro lado estes maiores níveis diferiram dos tratamentos intermediários, 3 e 6% de inclusão na ração. Os tratamentos também apresentaram efeito sobre IGV, cujo grupo controle apresentou os maiores valores, porém a inclusão de *J. curcas* na ração não interferiu nesse índice para os níveis (3; 6; 9 e 12%). Para os demais índices mensurados, IES e IDS, não foram verificados efeitos entre os cinco grupos avaliados.

3.6 Metabólitos e transaminases sanguíneos

Os parâmetros metabólicos estão apresentados na tabela 6. O colesterol (Col) e glicose (Glic) não apresentaram diferenças significativas para os diferentes tratamentos. As proteínas plasmáticas totais (PPT) foram mais elevadas no tratamento controle (FPMD 0), e reduziram significativamente a partir de 9% de pinhão-mansão na dieta, não

diferindo dos grupos intermediários (FPMD 3 e 6). O triglicérideo (Trig) foi menor nos tratamentos FPMD 9 e 12, quando comparado ao grupo controle e com 3% de inclusão.

A atividade das transaminases aspartato (AST) e alanina aminotransferases (ALT) estão descritas na tabela 6. A AST e ALT apresentaram mesma tendência de aumento em sua atividade à medida que o pinhão-manso foi adicionado à dieta, com maiores atividades nos tratamentos FPMD 9 e 12.

3.7 Composição de proteína, lipídio e minerais no filé

Os resultados da composição de proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE) do filé dos peixes alimentados com as dietas contendo os diferentes níveis de inclusão do farelo de pinhão-manso destoxificado em substituição ao farelo de soja estão descritos na tabela 7. Não foi observada diferença para PB. Porém, para o EE, verificou-se redução do teor lipídico dos filés de tilápia.

Os valores médios de cálcio (Ca), fósforo (P), cobre (Cu), magnésio (Mg) ferro (Fe) e zinco (Zn) do tecido dos peixes, estão descritos na Tabela 7. Não houve efeito nos valores de Ca e Cu com a substituição do farelo de soja pelo pinhão-manso nas rações. Os teores de Fe, Zn, P e Mg do filé foram afetados com a inclusão do pinhão-manso, em que os dois primeiros apresentaram redução, ao contrário dos demais.

4. Discussão

4.1 Composição nutricional e antinutricional

A semente do pinhão-manso apresenta teor de proteína variando de 19 a 31% (MAKKAR et al., 1997), porém quando previamente desengordurado e descascado, pode possuir de 50 a 62% (MARTÍNEZ-HERRERA et al., 2006). No presente estudo, o valor de 27,19% de proteína, encontra-se dentro do intervalo esperado.

O *J. curcas* apresenta cerca de 35-40% óleo, resultando em 1,75 toneladas de óleo por hectare após sua extração (TEWARI, 2007). Os valores analisados para o EE

no presente trabalho (1,65%) foram semelhantes aos obtidos por Kumar et al. (2011b) (1,14%), Harter et al. (2011) (1,14%) e Xiao & Zhang (2011) (1,61%) e inferiores aos reportados por El-Fadel et al. (2011) (10,33%), Katole et al. (2011) (10,60%) e Parasibu et al. (2010) (16,47%). As variações nos valores de EE podem estar relacionadas com os tipos de cultivares, diferentes processos de obtenção da torta e farelo, assim como metodologias utilizadas para a extração do óleo.

Por ter sido prensado com casca, o pinhão-manso apresentou elevados teores de FB, FDA e FDN, fator limitador ao consumo pelos animais, resultando em baixas inclusões nas rações. Segundo Abdalla et al. (2008) e Souza et al. (2009), o *J. curcas* possui fibra bruta entre 36,68 e 45,00%.

Resultados obtidos por Makkar et al. (1997) demonstraram altos níveis de ácido fítico no pinhão-manso, com concentrações de 7,2 a 10,1%. No presente estudo, o ácido fítico foi determinado em 2,15%. O conteúdo de fitato pode variar de acordo com a cultivar do pinhão-manso, bem como as proporções casca/amêndoa (ABOU-ARAB & ABU-SALEM, 2010).

A atividade de inibidores de tripsina reportada por Pradhan et al. (2012) na torta de *J. curcas* foi de 8347 TIU g⁻¹. Na presente pesquisa verificou-se atividade de 1153,89 TIU g⁻¹, mostrando a eficiência do tratamento térmico na inativação dos IT.

4.2 Variáveis de crescimento

As variáveis de desempenho (PMF, TCE, GP, GPD, CTR) apresentaram efeito linear decrescente, com respectivos $r^2=0,88; 0,86; 0,88; 0,88; 0,91$. Resultado contrário foi verificado para CAA, com $r^2=0,60$. Os resultados obtidos na presente pesquisa indicam que mesmo em baixos níveis de inclusão de FPMD na dieta, houve interferência negativa nas variáveis analisadas. A piora na CAA pode estar relacionada com a baixa palatabilidade das dietas experimentais, e também pelo estabelecimento de dominância nos grupos alimentados com pinhão-manso.

Esta mesma tendência foi verificada por Kumar et al. (2010) em estudo com carpas comum alimentadas com farelo de amêndoa de *J. curcas* destoxificado (4 a 9 ppm de EF) por solvente seguido de extrusão. Segundo os autores, fatores tais como palatabilidade, aceitabilidade das dietas, presença de fatores tóxicos e antinutricionais,

aliadas à baixa digestibilidade da proteína e energia das dietas, contribuíram para redução no peso final, ganho em peso e taxa de crescimento específico.

Por outro lado, para juvenis de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), quando substituída 50% da proteína de FPMD (processo químico e térmico) pela FP não foi observado efeito negativo no desempenho, utilização dos nutrientes, metabolismo e alguns parâmetros hematológicos dos peixes que receberam o pinhão-manso em sua alimentação (KUMAR et al., 2011b).

Para camarão-do-pacífico (*Litopenaeus vannamei*) também foram verificados bons resultados de desempenho e utilização de nutrientes nos animais que receberam dieta com FPMD, em comparação aos que receberam a dieta controle à base de FP, além de boa aceitação das rações e comportamento normal em toda fase experimental (HARTER et al., 2011).

Outro fator relevante de possíveis diferenças dos resultados dos distintos trabalhos que avaliaram a inclusão de pinhão-manso na alimentação animal pode estar relacionado aos possíveis efeitos ocasionados pelas várias moléculas de ésteres de forbol, suas proporções no material avaliado, bem como a bioatividade de cada uma delas. Assim, trabalhos *in vitro* e *in vivo* realizados por Haas et al. (2002) e Roach et al. (2012) comprovam que as distintas formas de éster de forbol são altamente ativas, e ocasionaram elevada mortalidade para caramujos vetores da esquistossomose (*Physa fontinalis*) e artemia (*Artemia salina*).

4.2 Digestibilidade das rações experimentais

As rações experimentais apresentaram coeficientes de digestibilidade (CDA) para a proteína, variando entre 88,07 a 92,80% (FPMD 12 a 0).

No entanto, foram negativamente afetados pela inclusão do pinhão-manso, possivelmente pela presença de inibidores de tripsina e fitato do farelo. Estudos demonstram que o fitato inibe a atividade da lipase, amilase, tripsina e pepsina, além de formar complexo com proteínas (KUMAR et al., 2011b; KUMAR et al., 2012b). Os inibidores de tripsina também inibem a atividade de enzimas proteolíticas pancreáticas, provocando hipertrofia do pâncreas por constante estímulo pela colecistoquinina na liberação de enzima (FRANCIS et al., 2001a).

A digestibilidade dos lipídios também seguiu a mesma tendência de redução, com valores de CDAs de 65,47 a 83,60%. Como ressaltado anteriormente, o fitato pode afetar o aproveitamento de lipídios, seja por atuar sobre a atividade de enzimas ou pela formação de complexos, conhecidos por “lipofitins”, justificando a redução do extrato etéreo do filé e triglicérides circulantes.

A disponibilidade dos minerais, cálcio, ferro e zinco também foram reduzidos com a inclusão do pinhão-mansão na dieta, provavelmente pelo poder quelante do fitato.

4.3 Minerais no filé

A menor retenção muscular de zinco e ferro observados nos animais alimentados com pinhão-mansão, possivelmente ocorre pela presença de fitato, pois este é conhecido por diminuir a absorção de minerais, especialmente o cálcio, zinco e ferro (KUMAR et al., 2012a). O efeito de dietas contendo 0,5 ou 1% de ácido fítico na alimentação de carpas foi investigado por Hossain & Jauncey (1991). Os autores verificaram redução significativa dos níveis plasmáticos de cálcio, zinco e ferro; além dos teores de zinco no fígado, rim e carcaça.

A concentração de zinco determinada no farelo foi de 28,01 mg kg⁻¹. Valor 39,3% menor do que o descrito para o farelo de soja (ROSTAGNO et al., 2011), resultando na redução do zinco das rações experimentais de 129,96 mg kg⁻¹ para 115,87 mg kg⁻¹ dos tratamentos FPMD 0 ao 12. No entanto, segundo Barros et al. (2004) estes níveis não interfeririam na fisiologia de tilápias a ponto de reduzir sua absorção.

4.4 Triglicérides, colesterol e glicose sanguínea

O nível de colesterol sanguíneo não foi afetado pela inclusão do pinhão-mansão na dieta ($p > 0,05$). Como cerca de 70% do colesterol é sintetizado endogenamente, os efeitos negativos da dieta no trato gastrointestinal pode ter pouco efeito sobre os níveis circulantes (CHIVANDI et al., 2006).

Por outro lado, resultados diferentes foram reportados por Kumar et al. (2010) para carpa comum, cuja substituição da FP pelo farelo de *J. curcas* resultou em redução

do nível de colesterol plasmático. Resultados semelhantes também foram observados em outros estudos com carpa comum (RICHTER, 2012) e camarão-do-pacífico (HARTER et al., 2011). Este decréscimo do colesterol pode estar relacionado à ação hipocolesterolêmica dos isoflavonóides do *Jatropha*.

A glicose sanguínea também não apresentou diferença ($p>0,05$) entre os tratamentos. Nas últimas semanas do período experimental, a partir do tratamento com 6% inclusão de FPMD, os peixes apresentaram menor consumo de ração, e a mobilização das reservas endógenas, por meio da gliconeogênese, pode ter influenciado na manutenção dos níveis basais de glicose sanguínea, explicando a ausência de diferenças. Por outro lado, quando substituído pela FP, o pinhão-manso elevou os níveis glicêmicos de tilápias (AKINLEYE et al., 2012) e carpas (KUMAR et al., 2011a), o que segundo os autores, se deve pela alta quantidade de carboidratos presente no pinhão-manso.

No presente estudo, as concentrações plasmáticas de triglicerídeos foram maiores no grupo controle do que nos alimentados com pinhão-manso, que pode ter ocorrido pelo elevado teor de PNAs presente no pinhão-manso, cerca de 16% (KUMAR et al., 2011a). Os PNAs em animais monogástricos atuam no processo de solubilização das gorduras, pois se ligam a superfície de micelas e ácidos biliares, interferindo assim na absorção de triglicerídeos (KAUSHIK, et al., 2004; KUMAR et al., 2011b).

Kumar et al. (2010) avaliaram o efeito do pinhão-manso sobre a integridade intestinal de carpa comum e observaram redução do tamanho dos órgãos do sistema digestório, dobraduras das mucosas, desintegração das vilosidades e necrose dos enterócitos. Essas lesões geradas pela toxicidade residual do pinhão-manso, aliada ao elevado teor de PNAs podem ter interferido na absorção de triglicerídeos dos animais que receberam o alimento nas rações. Resultados semelhantes foram verificados para leitões (CHIVANDI et al., 2006) e ratos (MARTINEZ-HERRERA et al., 2012).

Para carpas e tilápias o inverso foi verificado. Os animais apresentaram elevação dos níveis de triglicerídeos, tanto plasmático quanto corporal, indicando mobilização dos tecidos nos grupos alimentados com pinhão-manso (AKINLEYE et al., 2012; KUMAR et al., 2010; KUMAR et al., 2011a).

4.5 Atividade de transaminases e proteínas plasmáticas totais

A atividade das enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) podem indicar possível dano hepático (RACICOT et al., 1975; ASZTALOS et al., 1988). No presente trabalho foi observada atividade significativamente maior de AST nos grupos alimentados a partir de 6% de inclusão e ALT a partir de 9%.

Os danos hepáticos e digestórios causados pelo éster de forbol (EF) foram avaliados por Kumar et al. (2010) em carpas comum alimentadas com até 75% de substituição da proteína do pinhão-manso pela FP. Os autores avaliaram os fígados e intestinos após oito semanas de ensaio e verificaram danos aos enterócitos, porém não foram observadas alterações patológicas (esteatose) no fígado. Para truta (KUMAR et al., 2011b) e tilápia (AKINLEYE et al., 2012) também não observou-se alterações, quando o farelo/torta de pinhão-manso foi totalmente destoxificado.

Variáveis bioquímicas como proteínas totais, albumina, globulina e bilirrubina geralmente são utilizados como biomarcadores (BARNHOORN & VAN VUREN, 2004). Segundo Martinez (1976), a concentração de proteínas totais no sangue é utilizada como indicativo da saúde e estado nutricional de peixes. Entre as proteínas no sangue, as albuminas e globulinas são as principais, as quais desempenham importante papel na resposta imune. A albumina é também utilizada como indicador de disfunção hepática, por este ser seu principal local de produção (SILVERMAN et al., 1986).

As alterações causadas nas proteínas plasmáticas totais (ppt) no presente trabalho reforçam a ocorrência de injúrias hepáticas. Estes dados corroboram com aqueles relatados por Ahmed e Adam (1979), Abdel Gadir et al. (2003), Kumar et al. (2010) e Ferreira et al. (2012).

4.6 Variáveis hematológicas

A hemoglobina foi afetada pela inclusão do pinhão-manso na ração, porém, para o hematócrito não se verificou diferença significativa. Uma provável explicação para redução dos níveis de Hb pode estar relacionada à presença de ácido fítico nas rações experimentais, que pelo forte poder quelante reduziu a absorção de ferro, interferindo na

hematopoiese, e que pode ser visualizado pela redução na disponibilidade e retenção de ferro do filé.

Apesar do hematócrito e eritrócitos não apresentarem diferença entre os tratamentos, quando utilizados para cálculo do volume corpuscular médio (VCM), verificou-se significativa redução deste índice. No entanto, é pertinente ressaltar que todos os valores obtidos entre os tratamentos estão dentro das faixas consideradas normais para espécie, em que os intervalos são de $1,82-1,98 \times 10^6 \mu\text{L}^{-1}$; 26-29%; 6,9-8,5 g dL⁻¹ e 26,5-29,3 g dL⁻¹ para número de eritrócitos, porcentagem de hematócrito, taxa de hemoglobina e concentração de hemoglobina corpuscular média, respectivamente (BARROS et al., 2009).

Por outro lado, Kumar et al. (2010) observaram aumento de eritrócitos, e redução da hemoglobina corpuscular média, não verificando efeito nas demais variáveis, Hb, Htc, CHCM e VCM em carpas alimentadas com farelo de pinhão-manso. Segundo os autores, a substituição de um ingrediente de origem animal por um de origem vegetal, pode resultar em liberação antecipada de eritrócitos imaturos. As alterações no conteúdo de eritrócitos resultaram nas alterações da hemoglobina corpuscular média.

4.7 Índices somáticos

A redução do IHS dos peixes alimentados com pinhão-manso sugerem diminuição no depósito de gordura no fígado. Este cenário reflete a mesma tendência verificada no filé, índice de gordura visceral e triglicérido sérico. Há evidências de interação entre fitato e lipídios, conhecidos por “lipofitins”, que são um complexo de Ca/Mg-fitato, lipídios e peptídeos. É possível que os complexos Ca-fitato e lipídios possam estar envolvidos na formação de sabões metálicos no lúmen intestinal, o que seria a maior restrição na utilização da energia derivada dos lipídios (LEESON, 1993).

Resultados semelhantes aos obtidos no presente trabalho foram reportados por Fernandes (2010), no qual foi verificado efeito linear decrescente no IHS com o aumento do farelo de pinhão-manso tóxico na dieta de tilápias. Em trutas arco-íris alimentadas com pinhão-manso destoxificado também foi observado redução do IHS (KUMAR et al., 2011b).

Por outro lado, a carpa comum apresentou aumento no IHS quando alimentada com pinhão-manso ou soja em substituição a farinha de peixe. Mas, segundo os autores, este fato ocorreu devido ao maior teor de carboidratos dos ingredientes vegetais. O mesmo comportamento foi observado por Richter (2012), também para carpas.

5. Conclusão

Apesar do processo de destoxificação do farelo de pinhão-manso com solvente seguido de extrusão reduzir significativamente o teor de éster de forbol, este coproduto, quando incluído em dietas para juvenis de tilápia-do-nilo, provoca alterações sobre as respostas zootécnicas, nutricionais, fisiológicas e de saúde dos animais. Dessa forma, estudos adicionais que permitam a avaliação de diferentes formas estruturais do éster de forbol e respectivas respostas metabólicas e toxicológicas devem ser incentivados para diferentes espécies de peixes.

6. Referências

- ABDALLA, A.L.; SILVA FILHO, J.C. da; GODOI, A.R. de; CARMO, C. de A.; EDUARDO, J.L. de P. Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.260-258, 2008.
- ABDEL GADIR, W. S.; ONSA, T.O.; ALI, W. E. M.; EL BADWI, S.M.A., ADAM, S.E.I. Comparative toxicity of *Croton macrostachys*, *Jatropha curcas* and *Piper abyssinica* seeds in Nubian goats. **Small Rumin. Res.** 48, 61–67. 2003.
- ABDEL-SHAFY, S.; NASR, S. M.; ABDEL-RAHMAN, H. H.; HABEEB, S. M. Effect of various levels of dietary *Jatropha curcas* seed meal on rabbits infested by the adult ticks of *Hyalomma marginatum marginatum* I. animal performance, anti-tick feeding and haemogram. **Tropical Animal Health and Production**, 43, pp. 347-357. 2011.

ABOU-ARAB, A. A; ABU-SALEM, F. M. Nutritional quality of *Jatropha curcas* seeds and effect of some physical and chemical treatments on their anti-nutritional factors. **African Journal of Food Science**. 4(3): p.93-103. 2010.

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

AKINLEYE, A. O.; KUMAR, V.; MAKKAR, H. P. S.; ANGULO-ESCALANTE, M. A.; BECKER, K. *Jatropha platyphylla* kernel meal as feed ingredient for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): growth, nutrient utilization and blood parameters. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. 96(1):119-129, 2012.

Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of AOAC**, 18^a ed., Patricia Cunniff (editora), Washington, DC, 1141p., 2010.

ASZTALOS, B.; NÉMCSOK, J.; BENEDECZKY, L. Comparasion of effect of paraquat and methidation on enzyme activity and tissue necrosis of carp, following exposure to the pesticides singly or in combination. **Environmental Pollution**, v.5, p.123-135, 1988.

BARNHOORN, I. E.; VAN VUREN, J. H. The use of different enzymes in fresh water fish as a tool for de assessment of water pollution in South Africa. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 59, (2), 180-185.

BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E.; MIRANDA, E. C.; SÁ, M. V. C.; SAMPAIO, F. G. Zinc-amino acid complex in practical diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**. Maringá, v. 26, n. 4, p. 437-441, 2004.

BARROS, M.M.; RANZANI-PAIVA, M.J.T.; PEZZATO, L.E.; FALCON, D.R.; GUIMARÃES, I.G. Hematological response and growth performance of nile tilapia fed diets containing folic acid. **Aquaculture Research**, v. 40, p. 895-903, 2009.

BELEWU, M.; BELEWU, K.; OGUNSOLA, F. Nutritive value of dietary fungi treated *Jatropha curcas* kernel cake: Voluntary intake, growth and digestibility coefficient of goat. **Agriculture and Biology Journal of North America** , pp. 135-138. 2010.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura, Brasil 2011**, Brasília, 2013.

CHIVANDI, E.; ERLWANGER, K. H.; MAKUZA, S. M.; READ, J. S.; MTIMUNI, J. P. Effect of dietary *Jatropha curcas* meal on percent cell volume, serum glucose, cholesterol and triglyceride concentration and alpha-amylase activity of weaned fattening pigs. **Res. J. Anim. Vet. Sci.** 1: 18-24. 2006.

CHO, C.Y.; SLINGER, S.J. Apparent digestibility measurement in feedstuffs for rainbow trout. In: Finfish Nutrition and Fish Feed Technology, 1979, Berlim. **Anais...** Berlim: 1979. v.2, p.239-247.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_02_11_15_22_20_boletim_graos_fevereiro_2014.pdf>. Acesso em: 10 mar. 2014.

DEGANI, G.; REVACH, A. Digestive capabilities of three commensal fish species: carp, *Cyprinus carpio* L., tilapia, *Oreochromis aureus* x *O. niloticus*, and African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1882). **Aquaculture and Fisheries Management**, v.22, p.397-403, 1991.

DIETERICH, F.; BOSCOLO, W. R.; LÖSH, J. A.; FEIDEN, A. FURUYA, W. M.; SIGNOR, A. A. Fontes de fósforo em rações orgânicas para alevinos e juvenis de tilápia-do-Nilo. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.47, n.3, p.417-424, 2012.

EL-FADEL, M.; HUSSEIN, A.; MOHAMED, A. Incorporation *Jatropha Curcas* meal on lambs ration and it's effect on lambs performance. **Nature and Science**, 2, pp. 15-18. 2011.

EL-GAMASSY, I. Improved wastewater reuse practices feasibility study on growing *Jatropha* utilizing treated wastewater in Luxor, **United States Agency for International Development Report No. 57**, September 2008, Cairo, Egypt. 2008.

EL-SAYED, A. F. M., Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, *Oreochromis* spp. **Aquaculture** 179, 149–168. 1999.

FAO. **FishStatJ, a tool for fishery statistics analysis**. Rome: FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations 2011.

Federação das Indústrias do Estado de São Paulo, Departamento do Agronegócio. **Safra Mundial de Soja 2013/14**. São Paulo, Nov. 2013.

FERNANDES, R. N. **Valor nutritivo do farelo de pinhão-manso (*Jatropha curcas*) para alevinos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2010. 92 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura)–Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura,, Jaboticabal, 2010.

FERREIRA, O. R.; BRITO, S. S.; LIMA, F. G.; MARIANO SOUZA, D. P.; MENDONÇA, S. RIBEIRO, J. A. A.; MAIORKA, P. C.; ARAÚJO, V. L.; NEIVA, J. M. N.; FIORAVANTE, M. C. S.; RAMOS, A. T.; MARUO, V. M. *Jatropha curcas* pericarp toxicity in sheep. **Arq. Bras. Med.Vet. Zootec.**, v.64, n.3, p.559-567, 2012.

FURUYA, W. M.; PEZZATO, E.; BARROS, M. M. et al. **Tabelas brasileiras para a nutrição animal de tilápias**. Toledo: GFM, 2010, 100p.

GOLDENFARB, P. B.; BOWYER, F. P.; HALL, E.; BROSIOUS, E. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. **American Journal of Clinical Pathology**, New York, v. 56, p. 35-39. 1971.

HAAS W, STERK H, MITTLEBACH M. Novel 12-deoxy-16-hydroxyphorbol diesters isolated from the seed oil of *Jatropha curcas*. **Journal of Natural Products** 65, p.1434–40, 2002.

HARTER, T.; BUHRKE, F.; KUMAR, V.; FOCKEN, U.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Substitution of fish meal by *Jatropha curcas* kernel meal: Effects on growth performance and body composition of white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*), **Aquaculture Nutrition** Volume 17, Issue 5, pages 542–548, 2011.

HOSSAIN, M. A., JAUNCEY, K., The effects of varying dietary phytic acid, calcium and magnesium levels on the nutrition of common carp, *Cyprinus carpio*. **In Fish Nutrition Practice**, 24-27. 1991.

KATOLE, S.; SAHA, S. K.; SASTRY, V. R. B.; LADE, M. H.; PRAKASH, B. Intake, blood metabolites and hormonal profile in sheep fed processed *Jatropha curcas* meal. **Animal Feed Science and Technology**. 170. p.21– 26. 2011.

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

KUMAR, V.; MAKKAR, H. P. S.; AMSELGRUBER, W. ; BECKER, K. Physiological, haematological and histopathological responses in common carp (*Cyprinus carpio L.*) fingerlings fed with differently detoxified *Jatropha curcas* kernel meal. **Food and Chemical Toxicology** 48. 2063–2072. 2010.

KUMAR, V.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Detoxified *Jatropha curcas* kernel meal as a dietary protein source: growth performance, nutrient utilization and digestive enzymes in common carp (*Cyprinus carpio L.*) fingerlings. **Aquaculture Nutrition**, v. 17, Issue 3, p.313–326, 2011a.

KUMAR, V.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Nutritional, physiological and haematological responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles fed detoxified *Jatropha curcas* kernel meal. **Aquaculture Nutrition**, v.17, p.451-467, 2011b.

KUMAR, V.; AKINLEYE, A. O.; MAKKAR, H. P. S.; ANGULO-ESCALANTE, M. A.; BECKER, K. Growth performance and metabolic efficiency in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus L.*) fed on a diet containing *Jatropha platyphylla* kernel meal as a protein source. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. 96(1), p. 37–46, 2012.

LEESON, S. Recent advances in fat utilisation by poultry. In: **Recent Advances in Animal Nutrition in Australia**. The University of New England, Armidale, NSW, p. 170–1981. 1993.

- MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K.; SPORER F.; WINK, M. Studies on nutritive potential and toxic constituents of different provenances of *Jatropha curcas*. **J. Agric Food. Chem.** 45: p.3152–3157. 1997.
- MAKKAR, H. P. S.; MAES, J.; DE GREYT W.; BECKER, K. Removal and degradation of phorbol esters during pre-treatment and transesterification of *Jatropha curcas* oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society.**86:173-181. 2009.
- MARTINEZ, F. **Aspectos biopatológicos de truchas arcoitis (*Sulmo gairneri* Richurdson) alimentadas con diet as hipergrasas.** PhD thesis. University of Madrid.1976.
- MARTÍNEZ-HERRERA, J.; SIDDHURAJU, P.; FRANCIS, G.; DA´ VILA-ORTI´Z, G., BECKER, K. Chemical composition, toxic/antimetabolic constituents, and effects of different treatments on their levels, in four provenances of *Jatropha curcas* L. from México. **Food Chemistry** 96, p.80–89. 2006.
- MARTINEZ - HERRERA, J.; MARTINEZ, C. J.; AYALA, A. M.; SICILIANO, L. G.; ESCOBEDO, R. M.; ORTIZ, G. D.; CEVALLOS, G. C.; MAKKAR, H.; FRANCIS, G.; BECKER, K. Evaluation of the nutritional quality of nontoxic kernel flour from *jatropha curcas* l. in rats. **Journal of Food Quality** 35 (2), p. 1-7. 2012.
- MENDONÇA, S.; LAVIOLA, B. G. Uso potencial e toxidez da torta de pinhão-manso. **Comunicado técnico-EMBRAPA**, Brasília, DF, p.1-8. 2009.
- MUJUMDAR, A. M.; MISAR, A.V. Anti-inflammatory activity of *Jatropha curcas* roots in mice and rats. **Journal of Ethnopharmacology** 90, 11–15. 2004.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of fish and shrimp.** Washington: National Academic Press. 376p., 2011.
- PARASIBU, T.; WINA, E.; TANGENDAJA, B.; ISKANDAR, S. Performance of broiler chicken fed physically and chemically treated *jatropha (jatropha curcas)* seed meal. **Indonesian Journal of Agriculture** 3(2), p. 121-126, 2010.

- PRADHAN, S.; NAIK, S. N.; KHAN, M. I.; SAHOO, P. K. Experimental assessment of toxic phytochemicals in *Jatropha curcas*: oil, cake, bio-diesel and glycerol **J Sci Food Agric**, 92: 511–519, 2012.
- RACICOT, J. G., GAUDET, M., LERAY, C., Blood and liver enzymes in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich.) with emphasis on their diagnostic use: Study of CCl₄ toxicity and a case of *Aeromonas* infection. **J. Fish Biol.** 7, 825–835. 1975.
- RICHTER, N. **Evaluation of suitability of non-toxic and detoxified *Jatropha curcas* L. meal as feed for fingerling common carp, *Cyprinus carpio* L.: with reference to phytase application.** 2012. 167 p. Ph.D. (Aquaculture Systems and Animal Nutrition) Thesis submitted to the University of Hohenheim, Stuttgart, Germany. 2012.
- ROACH, J.S.; DEVAPPA, R.K.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. Isolation, stability and bioactivity of *Jatropha curcas* phorbol esters. **Fitoterapia**, v.83. p.586- 592, 2012.
- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D. C.; FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T.; EUCLIDES, R. F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais.** 3. ed. –Viçosa, MG: UFV, DZO, 2011.
- SILVERMAN, L. M.; CHRISTENSON, R. H.; GRANT, G. H. Amino acids and proteins. In: Norbert, W.T. (Ed.), **Textbook of Clinical Chemistry.** W.B. Saunders Publishers, Philadelphia, PA, p. 579–585. 1986.
- SOUZA, A. D. V.; FÁVARO, S. P.; ÍTAVO, L. C. V.; ROSCOE, R. Caracterização química de sementes e tortas de pinhão-mansão, nabo-forrageiro e crambé. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.10, p.1328-1335, 2009.
- STOREBAKKEN, T.; REFSTIE, S.; RUYTER, B., Soy products as fat and protein sources in fish feeds for intensive aquaculture. In: Drackley, J.K. (Ed.), **Soy in Animal Nutrition.** **Fed. Anim. Sci. Soc.**, Savoy, IL, pp. 127– 170. 2000.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R. Hematological evaluation of *Tilapia rendalli* Boulenger 1896 (Osteichthyes: Cichlidae) captured in a free fishing farm in Franca, São Paulo State, Brazil. **Biosci, J.**, Uberlândia, v.19, n.1, p 107-114. 2003.

TEWARI D. N. **Jatropha and biodiesel**. New Delhi: Ocean Books Ltd.; 2007.

WANG, H.; CHEN, Y.; ZHAO, Y.; LIU, H.; LIU, J.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Effects of replacing soybean meal by detoxified *Jatropha curcas* kernel meal in the diet of growing pigs on their growth, serum biochemical parameters and visceral organs. **Animal Feed Science and Technology** 170. P.141– 146. 2011.

XIAO, J.; ZHANG, H. Comparative evaluation of *Jatropha curcas* L. seed meals obtained by different methods of defatting on toxic, antinutritional and nutritive factors. **Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 6, 2011.

7. Tabelas

Tabela 1

Formulação e composição proximal das dietas experimentais para tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*).

Ingredientes	Níveis de inclusão (%)				
	0	3	6	9	12
Farelo de soja	48,81	47,20	45,62	44,03	42,59
Farelo de pinhão-manso	0,00	3,00	6,00	9,00	12,00
Farinha de peixe	8,00	8,00	8,00	8,00	8,00
Milho (fubá)	18,80	18,80	18,25	19,58	14,00
Quirera de arroz	14,49	14,69	15,29	14,15	19,12
Óleo de soja	2,13	1,80	1,53	1,14	1,26
Fosfato bicálcico	2,33	2,20	2,11	2,04	1,91
Calcário	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08
Celulose	4,51	3,36	2,22	1,04	0,00
L-Treonina	0,16	0,16	0,16	0,17	0,17
L-Lisina	0,00	0,02	0,05	0,08	0,09
DL-Metionina	0,35	0,35	0,35	0,35	0,36
Suplemento min. e vit. ¹	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
BHT (antioxidante) ²	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
	Composição química analisada				
Energia Bruta (KJ g ⁻¹)	17,79	17,74	17,68	17,65	17,60
Proteína Bruta(%)	31,36	32,19	31,66	32,02	31,90
Extrato etéreo (%)	3,74	3,45	3,28	2,70	3,00
FDN (%)	16,12	17,27	15,73	16,21	17,62
FDA (%)	9,08	8,83	8,40	8,40	8,75
Cálcio (%)	1,44	1,42	1,38	1,37	1,43
Fósforo total (%)	1,25	1,26	1,23	1,25	1,30
	Composição química calculada				
Lisina (%)	1,74	1,74	1,74	1,74	1,74
Metionina (%)	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70
Triptofano (%)	0,29	0,29	0,28	0,28	0,28
Treonina (%)	1,10	1,10	1,10	1,10	1,10
Arginina (%)	1,91	1,93	1,95	1,98	2,00

¹Suplemento mineral e vitamínico: (Composição/kg de produto) Selênio: 75 mg, ferro: 15g, cobre: 1.250 mg, manganês: 3750 mg, zinco: 17,5 g, cobalto: 50 mg, iodo: 100 mg, niacina: 8750 mg, ácido fólico: 625 mg, ácido pantotênico: 7500 mg, biotina: 50 mg, vitamina C 37,5 g, colina: 100 g, Inositol: 12,5 g, vitamina A: 1.750.000 UI, vitamina D3, 375.000 UI, vitamina E 20.000 UI, vitamina K3, 500 mg, vitamina B1 2.000 mg, vitamina B2: 2.500 mg, vitamina B6: 2.500 mg, vitamina B12: 5.000 mcg.²Butil-Hidroxi-tolueno.

Tabela 2

Variáveis zootécnicas de juvenis de tilápia alimentados com níveis de inclusão de farelo de pinhão-manso na dieta.

Variáveis*	Níveis de inclusão (%)				
	0	3	6	9	12
PMI (g)	3,57 ± 0,11	3,63 ± 0,07	3,60 ± 0,02	3,59 ± 0,03	3,59 ± 0,07
PMF(%) ¹	74,10 ± 4,21	55,48 ± 4,34	44,16 ± 9,89	28,93 ± 3,17	25,42 ± 6,57
TCE (%/dia) ¹	4,66 ± 0,07	4,19 ± 0,11	3,82 ± 0,38	3,20 ± 0,18	2,97 ± 0,43
GP (g) ¹	70,53 ± 4,14	51,85 ± 4,31	40,55 ± 9,89	25,34 ± 3,19	21,83 ± 6,60
GPD(g) ¹	1,08 ± 0,06	0,80 ± 0,07	0,62 ± 0,15	0,39 ± 0,04	0,33 ± 0,10
CAA ¹	1,32 ± 0,08	1,43 ± 0,05	1,59 ± 0,11	1,66 ± 0,12	1,82 ± 0,35
CTR (g/px) ¹	93,01 ± 3,41	74,21 ± 4,43	60,31 ± 10,45	36,53 ± 6,63	32,72 ± 6,21
SO (%)	100 ± 0,00	65 ± 38,73	90 ± 20,00	70 ± 17,08	50 ± 46,19

*Valores expressos como média ± desvio padrão;

Variáveis: PMI: peso médio inicial; PMF: peso médio final; TCE: taxa de crescimento específico; GP: ganho em peso; GPD: ganho em peso diário; CAA: conversão alimentar aparente; CTR: consumo total de ração por peixe e SO: sobrevivência.

¹Efeito linear: PMF: $\hat{Y} = -4,13x + 70,40$, $R^2 = 0,88$; TCE: $\hat{Y} = -0,15x + 4,64$, $R^2 = 0,86$; GP: $\hat{Y} = -4,13x + 66,81$, $R^2 = 0,88$; GPD: $\hat{Y} = -0,064x + 1,03$, $R^2 = 0,88$; CAA: $\hat{Y} = 0,04x + 1,32$, $R^2 = 0,60$; CTR: $\hat{Y} = -5,27x + 91,01$, $R^2 = 0,91$;

Tabela 3

Coeficiente de digestibilidade aparente de nutrientes e alguns minerais de juvenis de tilápia alimentados com níveis de inclusão de farelo de pinhão-mansão na dieta.

CDA*	Níveis de inclusão (%)				
	0	3	6	9	12
MS	76,09 ± 1,75	73,96 ± 3,13	75,07 ± 0,69	73,27 ± 2,72	72,43 ± 2,29
PB ¹	92,80 ± 0,70a	91,39 ± 1,14ab	90,97 ± 1,32ab	89,28 ± 1,70bc	88,07 ± 1,01c
EE ¹	83,60 ± 6,66a	80,66 ± 2,11a	79,35 ± 4,32a	65,66 ± 7,19b	65,47 ± 5,54b
Ca ¹	40,50±3,75a	35,06±2,92ab	38,67±3,91a	31,68±4,81bc	24,68±4,46c
P	58,80±1,73	56,11±1,05	59,21±1,21	56,10±3,61	56,87±3,42
Fe ¹	16,94±3,82a	15,94±4,92a	9,58±0,72ab	8,37±4,78ab	6,15±4,01b
Zn ¹	38,23±2,36a	35,06±2,74ab	36,64±0,95ab	30,87±4,38ab	26,23±2,71b

*Valores expressos como média ± desvio padrão;

Variáveis: MS: matéria seca; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; Ca: cálcio; P: fósforo; Fe: ferro; Zn: zinco

¹Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Tukey.

Tabela 4

Parâmetros hematológicos dos juvenis de tilápia alimentados com níveis de inclusão de farelo de pinhão-mansão na dieta.

Variáveis*	Níveis de inclusão (%)				
	0	3	6	9	12
Hb (g/dL) [†]	9,12 ± 0,53a	8,09 ± 0,85ab	8,07 ± 1,15ab	7,65 ± 1,11b	7,92 ± 0,89b
Htc(%)	29,33 ± 5,34	27,14 ± 10,78	30,21 ± 8,26	25,71 ± 7,61	26,23 ± 7,46
Erit (10 ⁶ /μL)	2,34 ± 1,24	2,90 ± 0,79	2,07 ± 0,91	2,24 ± 0,56	2,42 ± 0,70
VCM (fL) [†]	125,05 ± 44,70ab	95,69 ± 39,08b	181,13 ± 78,73a	122,96 ± 51,95ab	104,67 ± 47,52b
CHCM (%)	32,17 ± 6,75	27,27 ± 2,91	28,49 ± 8,33	26,63 ± 5,40	28,80 ± 4,04

*Valores expressos como média ± desvio padrão;

Variáveis: Hb: hemoglobina; Htc: hematócrito; Erit: eritrócitos; VCM: volume corpuscular médio, CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média;

[†]Letras diferentes na mesma linha, indicam diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Tukey.

Tabela 5

Índices digestivos dos juvenis de tilápia alimentados com níveis de inclusão de farelo de pinhão-manso na dieta.

Variáveis*	Níveis de inclusão (%)				
	0	3	6	9	12
IHS (%) ¹	1,86 ± 0,40a	1,66 ± 0,22ab	1,46 ± 0,19ab	1,38 ± 0,38b	1,35 ± 0,27b
IES (%)	0,19 ± 0,08	0,19 ± 0,11	0,22 ± 0,08	0,21 ± 0,09	0,13 ± 0,06
IGV (%) ¹	1,16 ± 0,68a	0,50 ± 0,11b	0,41 ± 0,14b	0,19 ± 0,32b	0,14 ± 0,27b
IDS (%)	2,77 ± 0,44	2,62 ± 1,08	2,63 ± 0,87	2,59 ± 0,59	2,48 ± 0,49

*Valores expressos como média ± desvio padrão;

Variáveis: IHS: índice hepatossomático; IES: índice esplenossomático; IGV: índice de gordura visceral; IDS: índice digestivossomático;

¹Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Tukey.

Tabela 6

Metabólitos e transaminases sanguíneos de juvenis de tilápia alimentados com níveis de inclusão de farelo de pinhão-manso na dieta.

Variáveis*	Níveis de inclusão (%)				
	0	3	6	9	12
GLIC (mg/dL)	47,50 ± 7,79	50,25 ± 11,85	47,78 ± 7,29	61,83 ± 20,87	65,75 ± 22,54
PPT(g/dL) ¹	7,78 ± 1,39a	6,54 ± 1,05ab	6,47 ± 0,54ab	5,28 ± 1,21b	5,10 ± 1,47b
COL (mg/dL)	175,64 ± 12,43	192,08 ± 26,75	195,14 ± 36,39	160,63 ± 37,35	179,22 ± 24,59
TRIG (mg/dL) ¹	185,27 ± 39,77a	185,91 ± 78,32a	151,56 ± 42,49ab	103,10 ± 49,02b	111,45 ± 42,02b
AST (U/L) ¹	69,04 ± 23,88a	66,33 ± 40,15a	147,68 ± 79,32b	106,91 ± 43,74b	105,76 ± 32,11ab
ALT(U/L) ¹	16,54 ± 4,82a	14,34 ± 8,88a	18,50 ± 6,51a	24,38 ± 9,23ab	32,67 ± 11,15b

*Valores expressos como média ± desvio padrão;

Variáveis: GLIC: glicose; PPT: proteínas plasmáticas totais; COL: colesterol; TRIG: triglicerídeos; AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase;

¹Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Tukey.

Tabela 7

Composição química do filé de juvenis de tilápia alimentados com níveis de inclusão de farelo de pinhão-mansão na dieta.

Variáveis*	Níveis de inclusão (%)				
	0	3	6	9	12
EE (%) ¹	3,87 ± 1,22 a	3,50 ± 1,08 ab	2,64 ± 1,26 b	2,31 ± 0,46 bc	1,09 ± 0,48 c
PB(%)	86,09 ± 1,29	86,51 ± 1,17	85,81 ± 1,21	87,62 ± 2,08	87,48 ± 0,79
Ca (%)	0,13 ± 0,03	0,14 ± 0,03	0,12 ± 0,02	0,16 ± 0,02	0,16 ± 0,02
P (%) ¹	0,54 ± 0,02c	0,57 ± 0,02b	0,58 ± 0,02ab	0,60 ± 0,03a	0,60 ± 0,02a
Mg (%) ¹	0,11 ± 0,02c	0,12 ± 0,02bc	0,12 ± 0,02b	0,13 ± 0,02a	0,13 ± 0,02ab
Cu (ppm)	1,59 ± 0,20	1,60 ± 0,24	1,58 ± 0,31	1,82 ± 0,31	1,86 ± 0,46
Fe (ppm) ¹	52,26 ± 16,10a	35,31 ± 8,81b	29,58 ± 5,11bc	26,58 ± 2,14c	26,06 ± 2,59c
Zn (ppm) ¹	26,98 ± 2,19a	27,28 ± 1,46a	26,97 ± 2,29a	27,03 ± 1,79a	24,37 ± 1,67b

*Valores expressos como média ± desvio padrão;

Variáveis: EE: Extrato etéreo; PB: Proteína bruta; Ca: Cálcio; P: Fósforo; Mg: Magnésio; Cu: Cobre; Fe: Ferro; Zn: Zinco;

¹Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa (p<0,05) pelo teste de Tukey.

8. Considerações finais

- a) O processo de destoxificação por extrusão por solvente seguido de extrusão reduziu os teores de EF em níveis toleráveis para algumas espécies de peixes, no entanto, para juvenis de tilápia-do-nilo, a inclusão provocou alterações nas respostas zootécnicas, nutricionais, fisiológicas e de saúde dos animais;
- b) As tilápias que consumiram FPMD apresentaram sinais de anorexia, natação errática, apatia, boca e opérculos hemorrágicos, olhos escuros, inanição;
- c) Recomenda-se o desenvolvimento de pesquisas futuras com acessos de pinhão-manso atóxico, e também de outras formas mais eficientes de destoxificação a partir de tratamentos químicos, físicos e biológicos; bem como compreender os efeitos das diferentes formas de EF para diferentes espécies de peixes.

9. Anexos



Figura 1- Estabelecimento de dominância e letargia do grupo de peixes (FPMD 9).



Figura 2 – Peixe com sinais hemorrágicos no opérculo e olhos enegrecidos (FPMD 12)

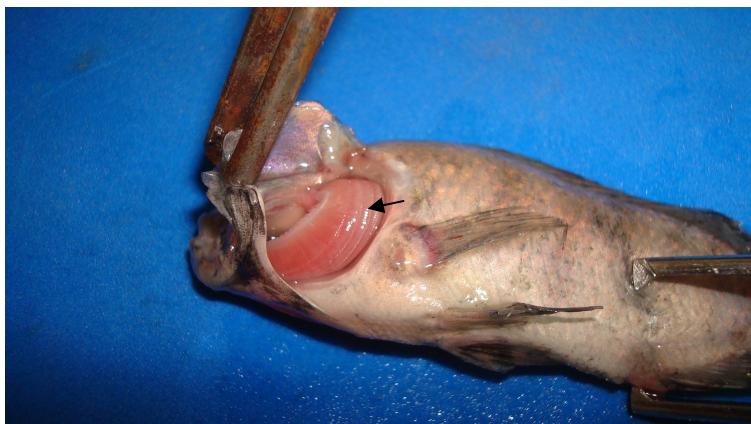


Figura 3 – Peixes ainda vivos apresentavam brânquias pálidas (FPMD 12).



Figura 4- Peixe com boca hemorrágica (FPMD12).

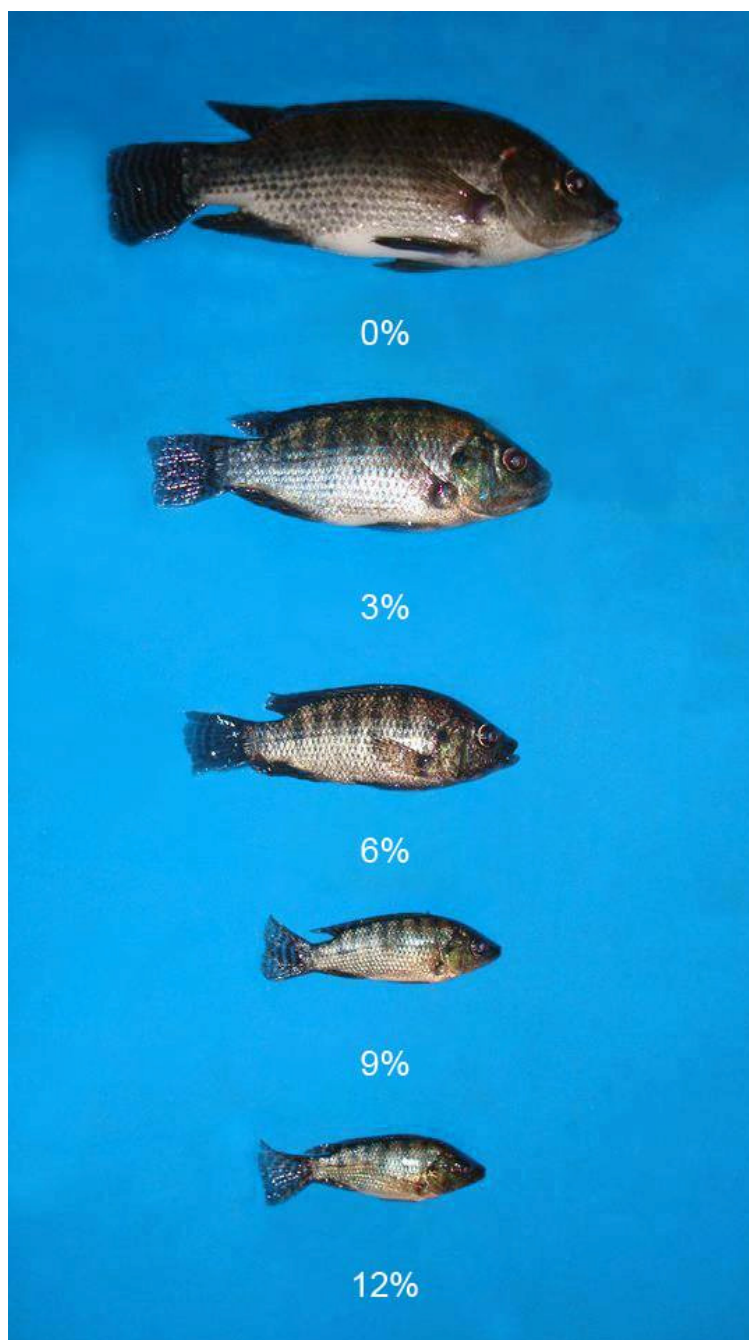


Figura 5 – Exemplos de tilápias dos tratamentos FPMD 0; 3; 6; 9 e 12 aos 65 dias experimentais.