

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
CAMPUS JATAÍ
CURSO DE ZOOTECNIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**DIFERENTES MÉTODOS DE COLETA DE FEZES SOBRE
OS COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE APARENTE
PARA O TAMBQUI (*Colossoma macropomum*)**

Carolinne Silva da Mota

Orientador: Prof. Dr. Igo Gomes Guimarães

**JATAÍ-GO
2012**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
CAMPUS JATAÍ
CURSO DE ZOOTECNIA**

**DIFERENTES MÉTODOS DE COLETA DE FEZES SOBRE OS
COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE APARENTE PARA O TAMBAQUI
(*Colossoma macropomum*)**

Relatório de projeto orientado apresentado
ao Colegiado do Curso de Zootecnia, como
parte das exigências para a obtenção do título de
Bacharel em Zootecnia.

Orientador

Prof. Dr. Igo Gomes Guimarães

**JATAÍ-GO
2012**

CAROLINNE SILVA DA MOTA

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES MÉTODOS DE COLETA DE FEZES SOBRE
A ESTIMATIVA DOS COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE APARENTE
PARA O TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)**

Relatório de projeto orientado apresentado
ao Colegiado do Curso de Zootecnia, como
parte das exigências para a obtenção do título de
Bacharel em Zootecnia.

APROVADA em 9 de outubro de 2012.

Prof. Dr. Otto Mack Junqueira
Membro da Banca

MS. Janaína Gomes Araújo
Membro da Banca

Prof. Dr Igo Gomes Guimarães
Orientador

**JATAÍ-GO
2012**

Dedico ao meu pai, Sebastião Antônio da Mota, a minha mãe Jacy Silva da Mota e a meu irmão Jair Silva da Mota. Distância ou tempo algum apagarão do meu coração o amor e dedicação, ensinamentos e apoio de vocês recebidos.

AGRADECIMENTOS

Ao meu querido orientador, Igo Gomes Guimarães, que foi durante todo esse tempo de orientação atencioso e dedicado, sempre me mostrando o caminho certo, e sendo maleável com meus exageros e ataques de loucura, você sempre será meu exemplo. O meu sincero obrigada.

A minha querida “Co-Orientadora” Janaína Gomes Araújo, que é meu grande exemplo de como ser uma boa aluna, professora, orientadora, profissional, pessoa, amiga, mãe, esposa, mulher. Tenho muito orgulho de falar que trabalhei ao seu lado. O meu extremo obrigada.

Universidade Federal de Goiás, que me acolheu de braços abertos e me proporcionou um ensino de qualidade e me ensinou a ter espaço na sociedade, sendo justa e correta. Obrigada.

Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), que me ofereceu com muito custo, a primeira fase da minha formação, foi em suas instalações que descobri como é a vida. Obrigada.

Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC), que me cedeu suas instalações, equipamentos, funcionários e condição para execução desse trabalho, me tratando de igual com seus alunos. Obrigada.

Aos professores: Raquel Salgado, Josemir Gonçalves, Maria do Socorro, Eduardo, Luiz Rennan, Kaliandra Alves, Márcia, Vinícios, Roberta de Assis, Vera Banys, Arthur, Karina, Márcia, Fernando, obrigada por terem e estarem contribuindo com a minha formação.

Aos meus amigos: Thalita Araujo, Fabiany Gonçalves, Paulo Henrique Arruda, Alexandre Figueiredo, Carla Furtado, Dyulie Antunes, Murillo Machado, Nayara, que são meus amigos e companheiros de todas as horas.

Aos meus colegas de graduação: Mateus, Gilberto, Eduardo, Mércia, Thayane, Vanessa, Rozilda, Iracema, Nayane, Lara, Samara, Diego, Machel, Virgílio, Gabriel, Cigano, Hugo, Vinícios, Nayana, e a todos aqueles que diretamente ou indiretamente me ajudaram na minha formação e na construção de um belo grupo de amizades.

Aos meus amigos do grupo de Pesquisa em Organismos Aquáticos – LAPAQ-UFG- Jataí, Thiago Quirino, Thiago Moraes, Alana Lucena, Crístielle Colto e ao Tiago Aguiar quem me ajudou bastante para realização deste trabalho. Obrigada.

Ao Senhor José Neves, técnico do Laboratório de Solos e todos os funcionários da PUC-GO – Bloco G, que me ajudaram interinamente com a maior dedicação e carinho como dado a uma filha.

Ao meu querido “Bile” (Sandro Henrique), pelo amor e compreensão oferecido durante todo esse trabalho, levantando de madrugada, dormindo tarde, escutando atentamente meus choros e desesperos, você segurou minhas mãos quando meus joelhos já não aguentavam mais segurar o meu corpo. Obrigada.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Anexo I

Figura I. Sistema Guelph (*Fonte:* CHO, C.Y.; COWEY, C.B.; WATANABE, T.. Methodological approaches to research and development. In: Cho, C.Y., Cowey, C.B., Watanabe, T. (Eds.), **Finfish Nutrition** in Asia. IDRC, Ottawa, Canada, pp. 10–80. 1985.)

Figura II. Coleta mecânica (*Fonte:* CHOUBERT, G.; DE LA NOUE Jr., J.; Luquet, P. Digestibility in fish: improved device for the automatic collection of feces. **Aquaculture** 29, 185–189. 1982.)

Anexo II

Gráfico 1. Coeficientes de digestibilidade aparente do fósforo nas fezes do tambaqui sobre diferentes tempos de coleta (60, 120, 240 e 480 minutos) pelo método de decantação.

Gráfico 2. Coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca nas fezes do tambaqui sobre diferentes tempos de coleta (60, 120, 240 e 480 minutos) pelo método de decantação.

Gráfico 3. Coeficientes de digestibilidade aparente da energia nas fezes do tambaqui sobre diferentes tempos de coleta (60, 120, 240 e 480 minutos) pelo método de decantação.

Figura I. Aquário de alimentação (*Fonte:* *Arquivo Pessoal*).

Figura II. Animais experimentais (*Fonte:* *Arquivo Pessoal*).

Figura III. Incubadoras adaptadas para coleta de fezes por decantação (*Fonte:* *Arquivo Pessoal*).

Figura IV. Coleta noturna de conteúdo fecal (*Fonte:* *Arquivo Pessoal*).

Figura V. Recipiente coletor de fezes acoplado a incubadora (*Fonte:* *Arquivo Pessoal*).

Figura VI. Identificação e armazenamento das amostras fecais (*Fonte:* *Arquivo Pessoal*).

Figura VII. Trato digestório do tambaqui todo removido (*Fonte:* *Arquivo Pessoal*).

Figura VIII. Corte longitudinal do trato digestório até o cecos pilóricos (*Fonte:* *Hugo Vinicius Pereira*).

Figura IX. Remoção das fezes de dentro do trato digestório com pincel (*Fonte:* *Hugo Vinicius Pereira*).

Anexo III

Normas para preparação de trabalhos científicos para publicação na Revista Brasileira de Zootecnia.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

CDA= Coeficiente de digestibilidade aparente.

CDA_{PB} = Coeficiente de digestibilidade aparente da Proteína Bruta.

CDA_{MS} = Coeficiente de digestibilidade aparente da Matéria Seca.

CDA_P = Coeficiente de digestibilidade aparente do Fósforo.

CDA_{EB} = Coeficiente de digestibilidade aparente da Energia Bruta.

PB = Proteína bruta.

EB = Energia bruta.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
1.2 MÉTODOS DE COLETA	6
CAPÍTULO 2 - PROJETO ORIENTADO	15
2.1 RESUMO	15
2.2 ABSTRACT.....	16
2.3 INTRODUÇÃO	17
2.4 MATERIAL E MÉTODOS	18
2.4.1 Área e animais experimentais	18
2.4.2 Dieta experimental	19
2.4.3 Metodologia para coleta de fezes pelo método de decantação.....	20
2.4.4 Metodologia de coleta de fezes pelo método de dissecação	22
2.4.5 Cálculo dos CDAs e análises químicas	22
2.4.6 Delineamento experimental e análise estatística dos dados	23
2.5 RESULTADOS.....	24
2.6 DISCUSSÃO	27
2.7 CONCLUSÃO	33

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

Nos últimos anos, o cultivo intensivo e semi-intensivo de peixes tem sido crescente no Brasil, principalmente pelo interesse nas espécies nativas tropicais, como o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e o tambaqui (*Colossoma macropomum*), que apresentam grande potencial para a piscicultura, uma vez que possuem carne de excelente qualidade, além da facilidade na adaptação de criação em cativeiro (Abimorad & Carneiro, 2004).

A produção aquícola mundial tem crescido significativamente, atingindo a marca de 60 milhões de toneladas em 2010. Este crescimento decorre da alta demanda por pescado pela população, com crescimento médio anual de 6,6%, chegando a um consumo 18,4 kg *per capita*/ano (The State of World Fisheries and Aquaculture- Sofia, 2012).

O tambaqui é o segundo maior peixe de escamas do Brasil, sendo a principal espécie da Amazônia cultivada no país, cuja produção nacional em 2008 foi de 46 mil toneladas (MPA, 2010b) tendo um crescimento de 66% em relação ao ano de 2007, o que destaca o rápido crescimento desta espécie em território nacional. Segundo o IBAMA (2008), o tambaqui é o 4º pescado mais cultivado do país, perdendo somente para o camarão, tilápia e carpa. Entre 2003 e 2009, a produção desta espécie cresceu 123%, com taxa média anual de 14% (MPA, 2010b).

Pertencente à classe Actinopterygii, ordem Characiformes e família Characidae (Britski, 1977), o tambaqui é um peixe de piracema nativo das bacias dos rios Amazonas e Orinoco, com alto potencial para a aquicultura. A popularidade do tambaqui é atribuída à facilidade de produção de alevinos, rápido crescimento, resistência a elevadas temperaturas da água dos viveiros, ao manuseio, e baixos níveis de oxigênio dissolvido necessário (Silva et al., 1986; Araújo-Lima & Gomes, 2005;

Porto, et al. 2005; Paula, 2009). Esta espécie, em situação de hipóxia, apresenta adaptações comportamentais e fisiológicas para suportar a adversidade como: aumento da respiração e batimento cardíaco, aumento da afinidade da hemoglobina pelo oxigênio, redução do metabolismo e baixa taxa de crescimento (Val & Almeida-Val, 1995; Gomes et al., 2006).

Durante a década de 80 alguns pesquisadores caracterizaram o tambaqui como tendo hábito alimentar onívoro com tendência à herbívoros, sendo ainda considerada espécie filtradora e frugívora (Goulding et al., 1980; Carvalho et al., 1981; Flamm et al., 1983; Machado-Allinson et al., 1982; Piedade et al., 1985; Soares et al., 1986; Goulding & Carvalho, 1982; Saint Paul et al., 1986).

Mesmo estando em grande expansão à produção de espécies nativas, em especial do tambaqui, os estudos são escassos sobre manejo alimentar, nutricional, reprodutivo e comportamento desta espécie, os quais são dominados por algumas instituições de ensino e pesquisa, e setores privados, como fábricas de ração. Mesmo assim, a exigência nutricional específica do tambaqui ainda não foi tabulada como já existem relatos específicos para a tilápia no Brasil e no mundo (Furuya, 2010 e NRC, 2011). Portanto, a criação do tambaqui depende especialmente em sistemas semi-intensivos ou intensivos de produção e do uso de rações balanceadas e de boa qualidade, permitindo melhor aproveitamento dos nutrientes pela espécie, já que os custos com alimentação são relativamente altos, representando o maior percentual dos custos operacionais (em torno de 70%).

Do ponto de vista da aquicultura sustentável, para a formulação ideal de ração deve-se levar em consideração a digestibilidade dos ingredientes, a qual pode ser influenciada por vários fatores, como a densidade de estocagem, a qualidade e a

quantidade dos alimentos, influência do sexo, idade, tamanho, tempo, frequência alimentar e, principalmente, dos métodos de avaliação da digestibilidade.

A determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes é medida pela diferença (expressa como percentagem) entre a ingestão de nutrientes e a excreção de nutrientes fecais com a utilização de marcadores indigestíveis. Sendo assim, a melhor forma de produzir dietas nutricionalmente balanceadas, quantificando a capacidade desses animais de digerir e assimilar os nutrientes dos alimentos. Portanto, experimentos de digestibilidade têm fundamental importância para a quantificação de valores nutricionais para formulação de dietas espécie-específicas nutricionalmente balanceada.

A digestibilidade de uma dieta ou de um ingrediente pode ser determinada direta ou indiretamente. O ambiente aquático é o grande desafio para pesquisas de digestibilidade em peixes, pois dificulta a separação das fezes na água, a mensuração do consumo de alimento, além da contaminação com o alimento não ingerido. O método direto, que tem como objetivo a coleta total das fezes, não tem sido utilizado rotineiramente para determinação dos coeficientes de digestibilidade dos alimentos para peixes, principalmente pelo estresse ocasionado e dificuldade de coleta, apesar de existirem técnicas adaptadas para coleta total de excretas, como: câmara metabólica (Halver et al., 1989), sistema de filtragem contínua adaptada para a coleta total de fezes (Choubert et al., 1979; Choubert et al., 1982) e sistema de bolsa coletora de fezes (Vidal Junior, 2000).

No método indireto, os coeficientes de digestibilidade aparente são estimados pela diferença de concentração de um marcador indigestível e dos nutrientes no alimento e nas fezes, de forma que a coleta total das fezes não é necessária (Halver et al., 1989). Contudo, a coleta das fezes pode ser efetuada de duas maneiras: a) as excretas podem

ser obtidas diretamente do tanque ou aquário de cultivo após a defecação (coleta com o peixe dentro da água); b) as amostras podem ser coletadas diretamente do intestino posterior antes de serem defecadas pelo peixe (coleta com o peixe fora da água) (Portz et al. 2001).

A fim de evitar a lixiviação de nutrientes na água, vários autores têm ressaltado que métodos de coleta de fezes fora do ambiente aquático, como o método de dissecação (Smith & Lovell, 1971; Smith & Lovell, 1973; Austreng et al., 1978; Windell et al., 1978; Henken et al., 1985), ou o método de compressão ou massagem abdominal (Inaba et al., 1962; Nose et al., 1967; Austreng et al., 1978; Windeil et al., 1978; Vens-Cappel et al., 1985) e de sucção anal (Lovell et al., 1977; Windell et al., 1978; Brown et al., 1985) apresentam-se como técnicas mais adequadas, como para o salmão (*Salmo salar*), que produz fezes que se dissipam facilmente na água. A lixiviação pode ser altamente significativa no método indireto por decantação, quando grandes instalações são utilizadas para a manutenção destes peixes, devido à distância que os excrementos teriam de percorrer na água, antes que pudessem ser recolhidos por decantação ou remoção física (Abimorad & Carneiro, 2004).

Porém, tais métodos requerem a manipulação frequente dos peixes, acarretando em estresse. Além destes fatores, estes métodos de coleta podem incorrer no erro de subestimar a digestibilidade devido aos peixes possuírem a característica de absorver os nutrientes até a região final do intestino, ou seja, o ânus.

Outros autores criaram métodos que visavam a coleta das fezes dentro da água, como a câmara metabólica (Smith et al., 1971), pipetagem imediata das fezes (Alliot et al., 1978), decantação, (Cho et al., 1985) ou por filtração contínua (Choubert et al., 1979; Choubert et al., 1982). Estes métodos, mesmo sendo eficientes em diminuir a mortalidade e o estresse nos animais, têm como principal problema a tendência a

acelerar a lixiviação (De La Noije & Choubert, 1986), exceto a filtração contínua, que é o mais eficiente em minimizar a lixiviação dos nutrientes na água.

Todos os métodos de coleta de fezes existentes apresentam vantagens e desvantagens, particularmente em relação à facilidade da coleta da amostra e da natureza representativa das fezes recolhidas. No entanto, a coleta de amostras representativas de fezes em peixes menores de 1 kg é problemática, tanto no método direto como no indireto. Como por exemplo, a utilização de uma câmara de metabolismo (Smith et al., 1971) é impraticável devido ao tamanho do peixe, como também o método de dissecação, devido à necessidade do sacrifício dos animais, bem como a dificuldade de coleta.

Métodos que contam com a coleta de fezes na água são propensos a superestimar o CDA como um resultado da lixiviação dos nutrientes a partir das fezes (Smith et al., 1980; Brown & Robinson, 1989; Spyridakis et al., 1989; Hajen et al., 1993). Neste contexto, Cho et al. (1982) concluíram que as fezes são mais vulneráveis à lixiviação quando os peletes fecais eram quebrados durante o processo de coleta e quando o tempo de contato das fezes com a água é maior, entretanto, Satoh et al. (1992) trabalhando com truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) afirmaram que o tempo de recuperação fecal tem pouco efeito sobre a lixiviação de nutrientes.

Portanto, as técnicas de coleta de fezes podem afetar os resultados do CDA. Windell et al. (1978) e Vens-Cappell (1985), trabalhando com truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), e Abimorad e Carneiro (2004), trabalhando com pacu (*Piaractus mesopotamicus*), demonstraram claramente que os valores de digestibilidade podem variar de acordo com o método de coleta de fezes. Assim, erros inerentes aos vários métodos devem ser quantificados, a fim de selecionar o método mais apropriado que gere dados mais fidedignos de digestibilidade.

1.2 MÉTODOS DE COLETA

A ciência da nutrição de peixes começou quase 80 anos atrás. Muitos pesquisadores desde este tempo vem tentando avaliar a eficiência de alimentos para peixes (Belal et al., 2005), aprimorando tecnologias, metodologias e usando técnicas semelhantes às utilizadas para determinação de digestibilidade em animais homeotérmicos (aves, ovinos, caprinos, bovinos, suínos, entre outros). Porém algumas destas técnicas não poderiam ser feitas sem aceitar um nível de erro significativo devido aos peixes viverem em ambiente diferente.

Na avaliação de alimentos para animais, é desejável ter um método rápido e simples para a determinação da digestibilidade, e para os animais domésticos ensaios de digestão são realizados rotineiramente. Para os peixes, o ambiente aquático dificulta a medição do consumo de ração e separação das fezes na água.

Delmondes & Bomfim (2004), destacaram todas as metodologias de coleta de fezes de peixes para determinação de coeficientes de digestibilidade, relatando características e desvantagens de cada método de coleta.

Uma das metodologias mais utilizadas em trabalhos de digestibilidade é o método caracterizado como decantação, desenvolvido por Cho et al. (1985), sendo também chamado de Sistema “Guelph”. Consiste de tanque (s) com fundo inclinado ou afunilado e sistema (s) de drenagem comum a uma única coluna de decantação (Anexo I, Figura I). Os peixes são livremente alimentados neste sistema e após um período de alimentação, as fezes são coletadas por 9-16 h. No final do período, a coluna de sedimentação é aberta e as fezes são removidas, sendo seu principal problema a lixiviação de nutrientes (Cho et al., 1985; Allan et al., 2000). Segundo Storebakken et al. (1998), o método de decantação é adequado para obtenção de fezes de peixes pequenos, porém, um número relativamente alto de unidades animais deve ser

considerado, já que se tratando de uma coleta com grande quantidade de água a perda principalmente por lixiviação, é muito alta, superestimando os valores de digestibilidade.

Mesmo sendo ainda um método muito utilizado, além do problema de lixiviação o método de Sistema Guelph ainda tem uma desvantagem em sua metodologia, pois o conteúdo fecal acaba ficando aderido em sua estrutura (Abimorad e Carneiro, et al. 2004), principalmente os indicadores inertes, como o óxido de cromo, não expressando assim os valores reais de digestibilidade, já que ela é calculada de acordo com a concentração deste indicador nas fezes.

Observando os problemas no Sistema Guelph, Choubert et al. (1982) criaram uma nova técnica, desenvolvida com o objetivo de minimizar os efeitos estressores para os peixes causados pelos métodos já existentes e diminuir as perdas ocorridas por movimentação do bolo fecal, denominada coleta mecânica (Anexo I, Figura II). Neste método, a água passa por uma tela separadora que se move através de esteira, separando todas as fezes e depositando-as em uma caixa de coleta. Porém, neste método é necessário equipamento especializado e um sistema de drenagem projetado especialmente para o viveiro ou tanque (Portz et al., 2001).

Outra técnica desenvolvida para esse tipo de trabalho se trata da pipetagem direta no fundo do tanque, desenvolvida por Watanabe & Ohta (1995), onde os tanques possuem fundo com leve declividade para acumulação das fezes em determinado ponto para serem removidas da água através de fina mangueira de pipetagem para uma coluna separada do tanque. Sua desvantagem está na possibilidade de maior lixiviação dos componentes das fezes, em virtude do turbilhonamento proporcionado com a sifonagem e pelo contato direto dos peixes com as fezes possibilitando assim o consumo das excretas.

Nas técnicas de coleta com os peixes dentro da água, a lixiviação de materiais para a água é o único erro importante, que acarreta na maior estimativa da digestibilidade (Percival et al., 2001). Segundo Spyridakis et al. (1989), há tendência dos métodos que utilizam material fecal naturalmente evacuado na água apresentarem valores maiores de digestibilidade, em razão da lixiviação de nutrientes na água, como se essa fração de nutriente tivesse sido aproveitada pelo peixe.

Observando os problemas nas metodologias existentes, técnicas de coleta de fezes com o peixe fora da água foram desenvolvidas para superar o problema de lixiviação através da coleta de fezes diretamente a partir do trato intestinal dos peixes.

Nose et al. (1960) desenvolveu a técnica denominada como compressão ou massagem abdominal, onde o peixe é previamente anestesiado e as fezes são extraídas através de uma cuidadosa compressão ventral. A desvantagem deste método é a possibilidade de contaminação das fezes pela urina, estresse, coleta de fluídos do intestino ou material não digerido ou absorvido, e necessidade de peixes de tamanho superior (ao redor de 100g) na quantidade mínima de 30 animais (Nose et al., 1961; Austreng et al., 1978; Storebakken et al., 1998; Percival et al., 2001).

Outro método testado em alguns trabalhos foi denominado sucção anal (Lovell et al., 1977; Windell et al., 1978; Brown et al., 1985), que se trata de uma cânula introduzida no ânus do peixe previamente anestesiado, realizando-se uma leve sucção empregada com o auxílio de uma seringa para coleta fecal na região posterior do intestino. A desvantagem desse método se trata do decorrente estresse provocado pela manipulação excessiva dos peixes e coleta dos fluidos e/ou epitélio intestinal ou de material não digerido ou absorvido (Percival et al., 2001).

A dissecação é outro método de coleta de fezes bastante utilizado, porém a desvantagem de se ter que sacrificar os animais torna o método inviável, do ponto de

vista ético. Os peixes são previamente anestesiados e sacrificados, realizando corte longitudinal sob a cavidade abdominal para a coleta do conteúdo fecal na parte terminal do intestino. O problema desse método está relacionado com a possibilidade de ocorrer redistribuição de material fecal no trato intestinal após a eutanásia, passando material menos digerido para o intestino posterior, além de ser necessária uma quantidade alta de animais para a coleta de amostras suficiente para análises (Austreng et al., 1978; Storebakken et al., 1998; Allan et al., 1999; Percival et al., 2001). Este método pode ser realizado sem que os peixes passem um período de adaptação à dieta, possibilitando a utilização dos animais imediatamente após o ensaio de crescimento, quando o estresse já não é prejudicial para o desempenho do peixe.

Cho et al.(1985), trabalhando com truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), avaliaram a sucção anal, extrusão e dissecação e observaram que houve subestimação da digestibilidade dos nutrientes por contaminação com fluido corporal, epitélio intestinal, e as enzimas em excesso.

Henken et al. (1985) com o objetivo de comparar metodologias de coleta de fezes com o bagre africano (*Aquamonstrus devastadorus*), obtiveram material para análise a partir das seguintes técnicas: coleta total (fezes por sedimentação e sem o uso de marcador); pela dissecação do terço final do intestino dos peixes, a partir de ração marcada com o Cr_2O_3 , e coleta por sedimentação também com ração marcada com o Cr_2O_3 . Concluíram que os valores dos coeficientes de digestibilidade obtidos pelo último método foram mais seguros.

Portz et al. (2001) observaram que as estimativas de digestibilidade dos ingredientes da trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) obtidos a partir de análises de fezes coletadas por decantação, teriam valores cerca de 10% inferiores aos da análise

das fezes coletadas diretamente do peixe, o que indica que alguns nutrientes são lixiviados na água.

A determinação de um método de coleta de fezes eficiente e que demonstre os valores reais de digestibilidade dos nutrientes não tem só importância na piscicultura, e sim para todos os organismos aquáticos, como relatado por Mouriño et al. (2006), que trabalharam com diferentes métodos de coleta de fezes para determinação da digestibilidade proteica rã-touro (*Rana catesbeiana*), concluíram que as informações obtidas com uma espécie não devem ser generalizadas exatamente para outras, devido a fatores específicos como comportamento e consistência das fezes. Portanto, novos estudos deveriam ser realizados e podem ser tão importantes a ponto de impedir a utilização de determinados métodos.

Desta forma, a coleta de fezes é a atividade que exige maior atenção e precisão em experimentos de digestibilidade, independentemente da escolha do método. Em trabalhos com a truta arco-íris, Smith et al. (1980) mostraram que significativa quantidade de nitrogênio fecal pode ser lixiviada na água antes da coleta, superestimando os coeficientes de digestibilidade. Portanto, um método de coleta de fezes mais adequado para os estudos de digestibilidade em peixes é indispensável para que se obtenha precisão nos resultados (Austreng et al., 1978; Smith et al., 1980).

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIMORAD, E.G.; CARNEIRO, D.J. Métodos de Coleta de Fezes e Determinação dos Coeficientes de Digestibilidade da Fração Protéica e da Energia de Alimentos para o Pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887), **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.5, p.1101-1109, 2004.
- ALLAN, G.J., ROWLAND, S.J., PARKINSON, S., STONE, D.A.J., JANTRAROTAI, W. 1999. Nutrient digestibility for juvenile silver perch *Bidyanus bidyanus*: development of methods. *Aquaculture* 170, 131–145.
- ALLAN, G.L.; PARKINSON, S.; BOOTH, M.A.; STONE, D.A.J.; ROWLAND, S.J.; FRANCES, J.; WARNER-SMITH, R. Replacement of fish meal in diets for Australian silver perch, *Bidyanus bidyanus*: I. Digestibility of alternative ingredients. **Aquaculture** v.186, p.293–310, 2000.
- ALLIOT, E.; PASTOREAUDT, A.; PELAEZ HUDLET, J. et al. Utilisation des farines végétales et des levures cultivées sur alcanes pour l'alimentation du bar (*Dicentrarchus labrax*). In: WORLD SYMPOSIUM FINFISH NUTRITION FISHFEED TECHNOLOGY, 1978, Hambur. **Proceedings ...**Berlin: Heenemann, 1978. V. 2, p.229-238.
- ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; GOMES, L.C. Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: BALDISSEROTTO, B., GOMES, L.C. (Org.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: Editora UFMS, 2005. p. 175-202.
- AUSTRENG, E. Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segments of the gastrointestinal tract. **Aquaculture** 13, 265–272, 1978.
- BELAL, I.E.H. A review of some fish nutrition methodologies. **Bioresource Technology** 96, 395–402, 2005.
- BRITSKI, H.A. **Sobre o gênero *Colossoma* (Pisces, Characidae)**. São Paulo: Ciência e Cultura, v.29, 1977, 810p.
- BROWN, B.P.; STANGE, R.J.; ROBBINS, K.R. Protein digestibility coefficients for yearling channel catfish fed high protein feedstuffs. **The Progressive Fish Culturist**, v.54, p.44-49, 1985.
- CARVALHO, M.L. **Alimentação do tambaqui jovem (*Colossoma macropomum*) e sua relação com a comunidade zooplancônica do Lago Grande - Manaquiri, Solimões - AM**. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade do Amazonas, 1981. 91p. Dissertação (Mestrado em Biologia de Água Doce e Pesca Interior) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade do Amazonas, 1981.
- CHO, C.Y.; COWEY, C.B.; WATANABE, T. **Methodological approaches to research and development**. In: Cho, C.Y., Cowey, C.B., Watanabe, T. (Eds.), *Finfish Nutrition in Asia*. IDRC, Ottawa, Canada, pp. 10–80, 1985.
- CHOUBERT, G.; DE LA NOUE Jr.; LUQUET, P. Continuous quantitative automatic collector for fish feces. **The Progressive Fish Culturist**, v.41, p.64-67, 1979.
- CHOUBERT, G.; DE LA NOUE Jr.; LUQUET, P. Digestibility in fish: improved device for the automatic collection of feces. **Aquaculture** 29, 185–189, 1982.
- DE LA NOUE, J & CHOUBERT, G. Digestibility in rainbow trout: comparison of the direct and indirect methods of measurement. **Prog. Fish Cult.**, 48: 190-195, 1986.
- DELMONDES & BOMFIM. Fatores que afetam os coeficientes de digestibilidade nos alimentos para peixes. *Revista Eletrônica Nutritime*, v.1, n°1, p.20-30, julho/agosto de 2004. Disponível em:

- http://www.nutritime.com.br/arquivos_internos/artigos/003V1N1P20_30_JUL2004.pdf. Acesso: 18 Agosto 2012.
- FLAMM, B.R. Amazonian fruit-eating fish and the várzea forest. *Journal of Forestry*, p.106-108, 1983.
- FURUYA, W.M. Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias. (2010). Disponível em: http://blog.projetopacu.com.br/wpcontent/uploads/tabelas_brasileiras_para_a_nutricao_de_tilapias.pdf. Acesso: 25 de set 2012.
- GOMES, L.C.; CHAGAS, E.C.; MARTINS-JUNIOR, H. et al. Cage culture of tambaqui (*Colossoma macropomum*) in a central Amazon floodplain lake. *Aquaculture*, v.253, p.374-384, 2006.
- GOULDING, M. The fish and the forest - Explorations in Amazonian natural history. California: University of California, 1980. 280p.
- GOULDING, M.; CARVALHO, M.L. Life history and management of the tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characidae). An important Amazonian food fish. *Revista Brasileira de Zoologia*, v.1, p.107-133, 1982.
- HAJEN, W.E. et al. Digestibility of various feedstuffs by post-juvenile chinook salmon (*Onchorhynchus tshawytscha*) in sea water. 1. Validation of technique. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 112, p. 321-332, 1993.
- HALVER, J.E. Fish nutrition. San Diego Academic Press. 2 ed. 1989. 798p.
- HENKEN, A.M. et al. The effect of feeding level on apparent digestibility of dietary dry matter, crude protein and gross energy in the African catfish (*Clarias gariepinus*). *Aquaculture*, Amsterdam, v. 51, p. 1-11, 1985.
- IBAMA. *Estatística pesqueira*. Disponível em: http://www.ibama.gov.br/rec_pesqueiros/index.php?id_menu=100. Acesso em 03/05/2012.
- INABA, D. et al. Digestibility of dietary components in fishes. 1 - Digestibility of dietary proteins and starch in rainbow trout. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* Hakodate, v. 28, n. 3, p. 367-371, 1962.
- KUBITZA, F. Coletânea de informações aplicadas ao cultivo do tambaqui, do pacu e de outros peixes redondos. **Panorama da Aquicultura**. Rio de Janeiro, v.14, n.82, p. 49-55, mar/abr. 2004a.
- LOVELL, R.T. Digestibility of nutrients in feedstuffs for catfish. In: Stickney R.R. e Lowell, R.T. (Ed.), *Nutrition and Feeding of channel catfish*. **Southern Cooperative Serial Bulletin**, v.218, p.33-37. 1977
- MACHADO-ALLINSON, A. Estudios sobre la subfamilia Serrasalminae (Teleostei, Characidae). Parte 1. Estudio Comparado de los juveniles de las "cachamas" de Venezuela (Genero *Colossoma* y *Piaractus*). **Acta Biologica Venezuelana**, v.11, n.3, p.1-101, 1982.
- McGOOGAN, B. B.; REIGH, R. C. Apparent digestibility of selected ingredients in red drum (*Sciaenops ocellatus*) diets. *Aquaculture*, v. 141, n. 3-4, p. 233-244, 1996.
- MINISTERIO DA PESCA E AQUICULTURA - MPA. Produção pesqueira e aquícola: estatística 2008-2009. Brasília, DF, 2010b. 30p. Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/mpa/seap/Jonathan/mpa3/dados/2010/Docs/Caderno%20Consolidação%20dos%20dados%20estatísticos%20final%20curvas%20-20completo.pdf>. Acesso: 16 de setembro de 2012.
- MOURIÑO & STÉFANI. Avaliação de métodos de coleta de fezes para determinação da digestibilidade protéica em rã-touro (*Rana catesbeiana*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.3, p.954-958, maio-junho 2006.

- NOSE, T. Determination of nutritive value of food protein on fish: I. On the determination of food protein utilization by carcass analysis. *Bull. Freshwater Fish. Res. Lab.*11, p.29-42, 1961.
- NOSE, T. On the digestion of food protein by goldfish (*Carassius auratus*L.) and rainbow trout (*Salmo irideus* g.). *Bull. Freshwater Fish. Res. Lab.*10, p.11-22, 1960.
- NOSE, T. On the metabolic fecal nitrogen in young rainbow trout. *Bulletin Freshwater Fish.* v.17. n.2 p.97-105. 1967.
- NUNES, C. S. Avaliação do valor nutricional de fontes de proteína. II – Metodologia in vivo aplicável aos animais monogástricos e aos teleósteos. *Revista Portuguesa Ciências Veterinárias*, v. 91, n. 519, p. 144-151, 1996.
- PAULA, F.G. de. Desempenho do tambaqui (*Colossoma macropomum*), de pirapitinga (*Piaractus brachypomum*), e do híbrido tambatinga (*C. macropomum x P. brachypomum*) mantidos em viveiros fertilizados, na fase de engorda. 2009. 57p. Dissertação (Mestrado) -Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- PERCIVAL, S.B.; LEE, P.S.; CARTER, C.G. Validation of a technique for determining apparent digestibility in large (up to 5 kg) Atlantic salmon *Salmo salar* L. in seawater. *Aquaculture* 201 (3-4), 315–327, 2001.
- PIEIDADE, M.T.F. **Ecologia e biologia reprodutiva de *Astrocaryum jauari* (como exemplo de população adaptada às áreas inundáveis do Rio Negro Igapó)**. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade do Amazonas, 1985. 187p. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Universidade do Amazonas, 1985.
- PORTO, M.S.A. **Indicadores de estresse em peixes da Amazônia: sensibilidade em face do tipo de estressor**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2005. 38 f.
- PORTZ, L. Recentes avanços na determinação das exigências e digestibilidade da proteína e aminoácidos em peixes. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba, 2001. CD-ROM. Palestras.Semi 36.
- SAINT-PAUL, U. Potential for aquaculture of South American freshwater fishes: a review. *Aquaculture*, v.54, p.205-240, 1986.
- SATOH, S., CHO, C.Y., WATANABE, T. Effect of faecal retrieval timing on digestibility of nutrients in rainbow trout diet with the Guelph and TUF feces collection systems. *Nippon Suisan Gakkaishi*, v. 58, p.1123–1127, 1992.
- SILVA, I.A.M.; PEREIRA – FILHO, M.; OLIVEIRA – PEREIRA, M.I. Frutos e sementes consumidos pelo Tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) incorporados em rações. Digestibilidade e velocidade de trânsito pelo trato gastrointestinal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.32, n.6, p. 1815-1824, 2003^a (Supl.2).
- SILVA, J.W.B.; CAMINHA, M.I.O.; NOBRE, M.I.S.; BARROS-FILHO, F.M. Resultados de um ensaio sobre o cultivo do híbrido do tambaqui, *Colossoma macropomum* CUVIER, 1818, com a pirapitinga *C. brachypomum* CUVIER, 1818, realizado no centro de pesquisa ictiológico “Rodolpho Von Ihering” (Pentecostes, Ceará, Brasil). **Ciência Agrônômica**. Fortaleza, v.17, n.2, p.7-18, dez. 1986.
- SMITH, B.W. & LOVELL, R.T. Digestibility of nutrients in semipurified rations by channel catfish in stainless steel troughs. *Proceedings Annual Conference Southeast Association Game Fish Community*, v.25, p.425-459, 1971.

- SMITH, B.W.; LOVELL, R.T. Digestibility of apparent protein digestibility in feed for channel catfish. Transactions of the American Fisheries Society, v.4, p.830-835, 1973.
- SMITH, R.R.; PETERSON, M.C.; ALLRED, A.C. Effect of leaching on apparent digestion coefficients of feedstuffs for salmonids. **The Progressive Fish Culturist**, v.42, n.2, p.195-199, 1980.
- SOARES, M.G.M.; ALMEIDA, R.G.; JUNK, W.J. The trophic status of the fish fauna in Lago Camaleão, a macrophyte dominated floodplain lake in the middle Amazon. **Amazoniana IX**, v.4, p.511-526, 1986.
- SPYRIDAKIS, P.; METAILLER, R.; GABAUDAN, J. et al. Studies on nutrient digestibility in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). 1. Methodological aspects concerning faeces collection. *Aquaculture*, v.77, p.61-70, 1989.
- THE STATE OF WORLD FISHERIES AND AQUACULTURE – SOFIA, 2012 [online]. In: FAO – Fisheries and Aquaculture Department, Roma, 2010. 218 p. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/013/i1820e/i1820e.pdf>. Acesso em: 17 setembro 2012.
- VAL, A.L.; VAL-ALMEIDA, V.M.F. **Fishes of the Amazon and their environment: physiological and biochemical aspects**. Springer: Heidelberg, 1995, 224p.
- VENS-CAPPELL, B. methodical studies on digestion in trout. 1. Realiability of digestion coefficients in relation to methods for faces collection. **Aquaculture Engineering**, v.4, p.33-49, 1985.
- VIDAL JUNIOR, M. V. **Técnicas de determinação de digestibilidade e determinação da digestibilidade de nutrientes de alimentos para tambaqui (*Colossoma macropomum*)**. Viçosa, MG: UFV. 96p. Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Federal de Viçosa. 2000.
- WATANABE, T.; OHTA, M. Digestible and metabolizable energy of various diets for carp and rainbow trout. *Fishes Science* v.61, n.2, p.215-222, 1995.
- WINDELL, J.T.; FOLTZ, J.W.; SAROKAN, J.A. Methods of fecal collection and nutrient leaching in digestibility studies. **Progressive Fish Culturist** 49, 51–55, 1978.

CAPÍTULO 2 - DIFERENTES MÉTODOS DE COLETA DE FEZES SOBRE OS COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE APARENTE PARA O TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)

2.1 RESUMO

O presente estudo teve como objetivo determinar o melhor método de coleta de fezes do tambaqui, comparando os métodos de decantação em diferentes tempos de coleta (60, 120, 240 e 480 minutos) e o método de dissecação. Foram utilizados oitenta juvenis de tambaqui ($167,54 \pm 6,71$ g), distribuídos em quatro tanques experimentais. Após a coleta de fezes pelo método de decantação, os peixes foram sacrificados depois de receberem cinco refeições com intervalos de duas horas um dia antes do sacrifício, sendo o material fecal recolhido após os cecos pilóricos. As variáveis avaliadas foram coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta (CDA_{PB}), matéria seca (CDA_{MS}), fósforo (CDA_P) e da energia bruta (CDA_{EB}). Conclui-se que o CDA_{PB} dos tempos de coleta por decantação não tiveram diferença, porém em comparação entre os métodos, o CDA_{PB} foi menor no método de dissecação. Houve diferença significativa ($P < 0,05$) para CDA_P , CDA_{MS} e CDA_{EB} entre os tempos de coleta pelo método de decantação, como também na comparação entre os métodos de decantação e dissecação. Pode-se concluir que os CDAs obtidos pelo método de dissecação foram inferiores a todos os tempos de coleta do método de decantação, exceto para o fósforo, comprovando assim a possível influência do método nos CDAs. No método de decantação o tempo mais indicado para a coleta de fezes foi de 60 minutos após a primeira queda do grânulo fecal, com base na menor lixiviação de nutrientes das fezes.

Palavras-chave: decantação, dissecação, lixiviação, nutrição, tempo de coleta.

2.2 ABSTRACT

The present study aimed to determine the best faeces collection method for tambaqui by comparing the sedimentation method at different sampling times (60, 120, 240 and 480 minutes) and the dissection method. Eighty tambaqui juveniles ($167,54 \pm 6,71$ g) were randomly stocked into four experimental aquaria. After the collection of faeces by sedimentation, fishes were sacrificed after receiving five meals with intervals of two hours a day before the sacrifice, and fecal material being collected after the pyloric caeca. The variables evaluated were apparent digestibility coefficients of crude protein (ADC_{CP}), dry matter (ADC_{DM}), phosphorus (ADC_P) and gross energy (ADC_{GE}). ADC_{CP} were not affected by sampling time in the sedimentation method. However, ADC_{CP} were lower in the dissection method compared to sedimentation. There were significant differences ($P < 0.05$) for ADC_P , ADC_{DM} and ADC_{GE} between sampling times in sedimentation method. Similarly, differences were observed between the two methods evaluated. Regardless the ADC_P , ADC s of nutrients obtained by dissection were lower than the ADC s obtained at all sampling times of sedimentation method, indicating that care must be taken when faeces are collected by dissection. In the sedimentation method, the proper sampling time to reduce influences by nutrient leaching in faeces is 60 minutes after the first drop of fecal granule.

Keywords: sedimentation, dissection, leaching, nutrition, time of collection

2.3 INTRODUÇÃO

Várias metodologias têm sido utilizadas para determinar os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes em ingredientes e rações para peixes. Dentre os métodos mais empregados, destacam-se: a) pipetagem direta no fundo do tanque (Watanabe & Ohta, 1995), b) filtragem contínua (Choubert et al., 1979), c) coleta mecânica (Choubert et al., 1982), d) decantação (Cho et al., 1985), e) extrusão (Nose et al., 1960), f) sucção anal (Lovell et al., 1977) e g) dissecação (Austreng et al., 1978).

Trabalhos recentes (Delmondes & Bomfim, 2004), têm demonstrado preocupação com o estresse a que são submetidos os peixes independente do método utilizado, e principalmente sobre a confiabilidade de cada método, já que problemas como contaminação das fezes e lixiviação dos nutrientes podem interferir nos valores reais dos coeficientes de digestibilidade dos alimentos contidos nas dietas.

Estudos sobre a digestibilidade da proteína, energia, matéria seca e de minerais dos principais produtos e subprodutos produzidos no Brasil utilizados na elaboração de rações são de fundamental importância nos aspectos nutricional e econômico, resultando em maior precisão no balanceamento das dietas para organismos aquáticos. Portanto, para determinar a exigências de peixes, e principalmente do tambaqui (*Colossoma macropomum*), é fundamental que se conheça o nível de aproveitamento dos ingredientes da dieta.

Experimentos de digestibilidade realizados com peixes, especialmente com o tambaqui (principal espécie nativa do Brasil), ainda são escassos, principalmente no que diz respeito ao método de coleta que minimize o efeito do ambiente aquático nos dados de digestibilidade dos nutrientes. Devido à importância desta espécie para aquicultura nacional e o reduzido volume de trabalhos que avaliem um método preciso de determinação da digestibilidade dos nutrientes para o tambaqui. Desta forma, o presente

trabalho teve como objetivo determinar a lixiviação dos nutrientes das fezes do tambaqui e qual o melhor tempo de coleta de fezes. Assim como, comparar dois métodos de coleta distintos (decantação e dissecação).

2.4 MATERIAL E MÉTODOS

2.4.1 Área e animais experimentais

O experimento foi conduzido na Pontifícia Universidade Católica de Goiás – PUC- Campus II, Goiânia, no Laboratório de Produção de Organismos Aquáticos - LAPOA, nos períodos de janeiro a maio de 2012 com duração do período experimental de 30 dias mais sete dias de período de adaptação.

Foram utilizados 80 juvenis de tambaqui com peso médio inicial de $167,54 \pm 6,71$ g, provenientes do setor de piscicultura da UFG, Campus Samambaia – Goiânia – GO, onde foi realizada a alevinagem em tanques escavados. Antes do alojamento, os peixes foram tratados com banhos profiláticos de imersão em permanganato de potássio (KMnO_4), com a diluição de um grama/50L de água, onde os peixes permaneceram por uma hora segundo a recomendação de Pavanelli (1998).

Após o banho profilático, os peixes foram anestesiados com uma solução de benzocaína (ethyl-p-aminobenzoato) na proporção de 100mg/L de água (Roubach, et al. 2001) para efetiva pesagem dos grupos, que foram distribuídos aleatoriamente em grupos de 20 peixes em quatro aquários com capacidade para 310L cada, abastecidos com água de poço artesiano, termostatizados e com aeração constante por turbina de ar, instalados em sistema de recirculação fechado (Anexo 2, Figura 1), sendo a vazão de água das caixas reguladas para 2,5L/min., e troca diária de 30% da água do sistema. Estas caixas foram utilizadas somente para alimentação dos peixes.

A água era proveniente de poço artesiano, sendo tratada por filtros físicos, ultravioleta e biológico antes de retornar às caixas. Os parâmetros de qualidade de água como temperatura, oxigênio dissolvido e pH foram monitorados diariamente com auxílio de oxímetro digital e pHmetro, e, semanalmente, monitorados amônia, nitrito e nitrato por *kit* comercial (Alfakit®). A temperatura da água dos aquários foi mantida dentro da faixa de conforto para a espécie ($27,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$), sendo aferida às 8:00 e 16:00 horas.

2.4.2 Dieta experimental

A dieta experimental foi confeccionada com ingredientes convencionais de forma a atender as exigências nutricionais da espécie, com 28%PB g/kg^{-1} e 4.300 cal/g/ EB (Tabela 1). Os valores digestíveis da proteína e da energia de cada alimento foram calculados de acordo com os valores de coeficiente de digestibilidade aparente obtidos para tilápia por Pezzato et al. (2002) e Guimarães (2008). Os ingredientes foram moídos em moinho de facas, com peneira apresentando diâmetro menor que 0,5mm, posteriormente foram homogeneizados em misturador automático, e para confecção dos grânulos experimentais a mistura recebeu cerca de 40% de água com temperatura de aproximadamente 65°C , sendo assim imediatamente granulada por meio de um moinho de carne, empregando-se matrizes para obtenção de grânulos com os diâmetros de 3,5mm. Após a peletização, os grânulos foram desidratados a $55,0^{\circ}\text{C}$ por 24 horas em estufa com circulação de ar forçada, posteriormente, trituradas e o tamanho do grânulo ajustado ao tamanho da boca do peixe, sendo armazenados por resfriamento a $-5,0^{\circ}\text{C}$.

Tabela 1. Composição percentual e proximal da ração experimental^a

Ingredientes	g kg ⁻¹
Farelo de Soja	490
Farinha de Peixe	50
Fubá de Milho	270
Farelo de Trigo	60
DL-metionina	1
Cr2O3	1
Óleo de Soja	65
Fosfato Bicálcico	56
Vitamina C	0.8
Sal Comum	1
Premix Vitamínico ^b	5
BHT ^c	0.2
Total	1000

^a 28%PB g/kg⁻¹ e 4.300 cal/g/ EB;

^bPremix vitamínico, níveis de garantia por kg da dieta: vitamina A, 16060 UI; vitamina D3, 4510 UI; vitamina E, 250 UI; vitamina K, 30 mg; vitamina B1, 32 mg; vitamina B2, 32 mg; pantotenato de cálcio, 80 mg; niacina, 170 mg; biotina, 10 mg; ácido fólico, 10 mg; vitamina B12, 32 µg; vitamina B6, 32 mg.^cAntioxidante Butil Hidroxitolueno.

2.4.3 Metodologia para coleta de fezes pelo método de decantação

Foi avaliada a digestibilidade da matéria seca, proteína, energia bruta e do fósforo de uma dieta referência para o tambaqui de acordo com o procedimento descrito por Guimarães et al. (2008), em que os peixes são alimentados em aquários fora do sistema coletor de fezes.

Cada grupo de 20 peixes foi considerado uma unidade experimental, totalizando quatro repetições. Estes quatro grupos de peixes foram transferidos dos aquários de alimentação para os aquários de coletas por um período de cinco dias, necessário para obtenção de amostras suficientes para realização das análises. Os tratamentos foram: (T1) primeiro período (60 min. após a primeira sedimentação dos péletes fecais); (T2) segundo período (120 min. após sedimentação dos primeiros péletes fecais); (T3) terceiro período (240 min. após sedimentação dos primeiros péletes fecais); (T4) quarto

período (480 min. após sedimentação dos primeiros péletes fecais). A coleta ocorreu no período noturno após os peixes terem recebido ração durante o dia.

Os peixes foram alimentados três vezes ao dia, próximo à saciedade, nos horários de 8:00, 12:00 e 16:00, durante os sete dias de adaptação. No dia de coleta a frequência foi elevada para quatro vezes (9h, 11h, 14h e 17h). Em seguida, com auxílio de puçá, os 20 peixes de cada grupo, eram transferidos para os quatro aquários de coleta, permanecendo das 18h00min até 8h00min do dia seguinte.

O sistema de coleta de fezes, com capacidade para 200L de água, apresentando formato cônico, que possibilitam a coleta das fezes por gravidade, as quais sedimentavam em recipiente de rosca acoplado a um registro de esfera no fundo de cada aquário (Anexo 2, Figura 3, e 5). Os mesmos eram equipados com termostatos regulados para 28°C e mangueiras acopladas com pedras porosas para aeração, por turbina de ar comprimido.

Esta transferência possibilitou a obtenção de fezes sem contaminação por sobras de ração ou acúmulo de nutrientes na água dos aquários de coleta, pois se realizava sifonamento das caixas de alimentação antes da transferência e descartavam-se os sedimentos dos coletores de fezes após 30 minutos de permanência dos peixes nos coletores. Toda a água utilizada nos aquários de coleta foi substituída para evitar contaminação nas coletas seguintes.

Após a sedimentação dos primeiros grânulos fecais era observado o horário para marcar o tempo de coleta (tratamentos) assim, realiza-se o fechamento do registro e retirada do recipiente de acrílico, retirando-se o excedente de água e transferindo para recipientes de vidro estéreis devidamente identificados com os horários da primeira visualização das fezes e do horário da retirada (correspondente ao tratamento) e simultaneamente das quatro unidades experimentais (Anexo 2, Figuras 4 e 6), e

imediatamente as amostras eram conservadas em freezer (-20°C). Com a obtenção de três pools de amostras por tratamento, realizou-se a pré-secagem (65 °C) e as amostras de fezes foram moídas com pistilo de vidro separadamente, sendo retiradas escamas com auxílio de pinça.

Foram obtidas quatro amostras de fezes de cada tratamento por unidade experimental, das quais foi avaliado o teor de proteína bruta (PB), energia bruta (EB), cromo e do fósforo, determinando a digestibilidade da PB, matéria seca, energia e disponibilidade de fósforo pelo tambaqui.

2.4.4 Metodologia de coleta de fezes pelo método de dissecação

Esta etapa do experimento ocorreu após o período de coleta de fezes por decantação. Os peixes de todos os grupos passaram por um período de reabilitação de cinco dias recebendo a dieta sem manejo que promovesse estresse e comprometesse o trânsito gastrointestinal. Após esse período, intensificou o fornecimento da dieta recebendo 6 refeições com intervalos de 2 horas um dia antes do sacrifício. No dia do sacrifício, os animais foram novamente alimentados para estimulação do bolo fecal 2 horas antes do sacrifício. A eutanásia dos peixes foi realizada por meio de aprofundamento do plano anestésico com alta dose de benzocaína e corte da medula, posteriormente eviscerados e o trato digestório dissecado cuidadosamente para a retirada do material fecal após os cecos pilóricos. As fezes foram identificadas e congeladas para posterior análise como descrito anteriormente (Anexo 2, Figura 7, 8 e 9).

2.4.5 Cálculo dos CDAs e análises químicas

Os CDAs foram determinados por meio do método de coleta parcial de fezes, utilizando-se o óxido de cromo como indicador inerte na concentração de 0,1%, cromo

recomendado por Bremer-Neto et al. (2005). Após a realização da análise quantitativa do óxido de cromo, e de posse dos valores de proteína e energia presentes nas dietas e nas fezes, os CDA dos nutrientes foram calculados pela fórmula proposta por Nose (1966):

$$\text{CDA (\%)} = 100 - 100 \frac{\% \text{Cr2O3 na dieta}}{\% \text{Cr2O3 nas fezes}} \times \frac{\% \text{ de nutrientes ou EB nas fezes}}{\% \text{ de nutrientes ou EB na dieta}}$$

A determinação da digestibilidade da matéria seca foi efetuada de acordo com a fórmula apresentada abaixo:

$$\text{CDA MS (\%)} = 100 \times (1 - \% \text{ Cr2O3 na dieta} / \% \text{ Cr2O3 nas fezes})$$

As análises químico-bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Solos e Limnologia da PUC-GO e no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Produção Animal da Escola de Veterinária – UFG, Campus Samambaia, segundo os protocolos do A.O.A.C. (1995), sendo a proteína pelo método de Kjeldhal, o fósforo e cromo por espectrofotometria de luz a 420 e 550 nm, respectivamente. A concentração de cromo nas rações e nas fezes foram realizadas de acordo com Bremer-Neto et al. (2005) A energia foi determinada com bomba calorimétrica realizada pelo Laboratório de Enzimologia e análises bromatológicas do Instituto de Química e Biotecnologia da UFAL,

2.4.6 Delineamento experimental e análise estatística dos dados

O delineamento estatístico utilizado no experimento foi o inteiramente casualizado com cinco tratamentos (métodos de coleta e tempo de coleta) e quatro repetições. Os resultados dos estudos foram avaliados por meio da técnica da análise de

variância e, quando significativo, foi aplicado o teste de comparações múltiplas de médias de Student Newman Kews (SNK). Para determinar o comportamento das variáveis frente aos diferentes períodos de coleta, foi utilizada a análise de regressão, excluindo para esta análise os dados do método de dissecação. Todas as análises foram realizadas utilizando o procedimento GLM do pacote computacional SAS, ao nível de 5,0% de significância.

2.5 RESULTADOS

Os valores médios dos coeficientes de digestibilidade aparente das fezes do tambaqui sobre diferentes tempos de coleta (60, 120, 240 e 480 minutos) pelo método de decantação e dissecação estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Valores médios de coeficiente de digestibilidade aparente dos nutrientes obtidos pelos métodos de dissecação e decantação para o tambaqui¹

Métodos de coleta	Coeficientes de Digestibilidade ²			
	CDA _{MS} (%)	CDA _{PB} (%)	CDA _P (%)	CDA _{EB} (%)
Dissecação	68,62 ± 2,61 d	86,77 ± 1,27 b	54,21 ± 3,37 a	70,45 ± 1,14 d
Decantação				
60 min	77,64 ± 2,06 a	89,84 ± 1,36ab	19,59 ± 2,83 d	84,62 ± 0,93 a
120 min	75,81 ± 0,99 ab	91,10 ± 1,33 a	39,56 ± 2,51 b	82,72 ± 0,54 ab
240 min	72,82 ± 2,13 bc	87,71 ± 1,93 ab	30,38 ± 3,01 c	78,57 ± 1,91 c
480 min	71,11 ± 2,41 dc	90,74 ± 2,51 a	59,34 ± 3,25 a	81,15 ± 2,60 b
Linear	P < 0,0001	ns	P < 0,0001	ns
Quadrático	P < 0,0001	ns	ns	P < 0,0001

¹ Teste linear e quadrático apenas avaliado nos intervalos de coleta do método de decantação

ns – Não significativo ao nível de 5% de probabilidade, SNK

² Coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta (CDA_{PB}), fósforo (CDA_P), matéria seca (CDA_{MS}) e energia bruta (CDA_{EB}).

Neste trabalho, os métodos de coleta e o tempo de permanência das fezes na água no método de decantação influenciaram significativamente os coeficientes de

digestibilidade ($P < 0,05$). Os modelos de regressão linear e/ou quadrático se ajustaram à maioria dos dados apresentando coeficientes de determinação (R^2) acima de 0,6.

O CDA_{MS} no método de decantação apresentou efeito quadrático de acordo com os diferentes intervalos de coleta de fezes ($P < 0,01$), com redução dos valores de CDA_{MS} . Com base na equação de regressão e no comportamento das variáveis, pode-se observar tendência de estabilização no CDA da MS após 400 minutos (Gráfico 2). O método de dissecação apresentou o menor valor de CDA_{MS} (68,62%) entre os parâmetros avaliados, entretanto não diferiu do intervalo de coleta de 480 min (71,11%).

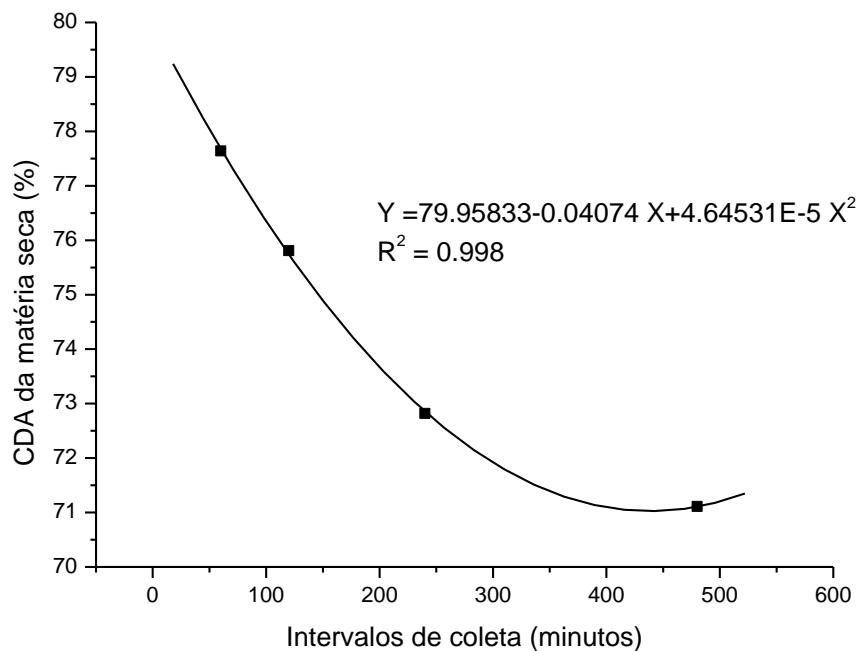


Gráfico 2. Coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca nas fezes do tabaqui sobre diferentes tempos de coleta (60, 120, 240 e 480 minutos) pelo método de decantação.

O CDA_{PB} não foi influenciado pelos diferentes períodos de coleta no método de decantação ($P > 0,05$). Entretanto, quando os períodos de permanência das fezes na água foram comparados com os valores de CDA_{PB} do método de dissecação, foi observada diferença apenas entre os intervalos de 120 e 480min que obtiveram os CDA maiores.

Os valores do CDA_P no último horário de coleta por decantação (480 minutos) (59,34%) não diferiu do método de dissecação (54,21%) ($P < 0,05$). Foi observado, ainda, efeito linear positivo dos diferentes intervalos de coleta sobre o CDA do P (Gráfico 1).

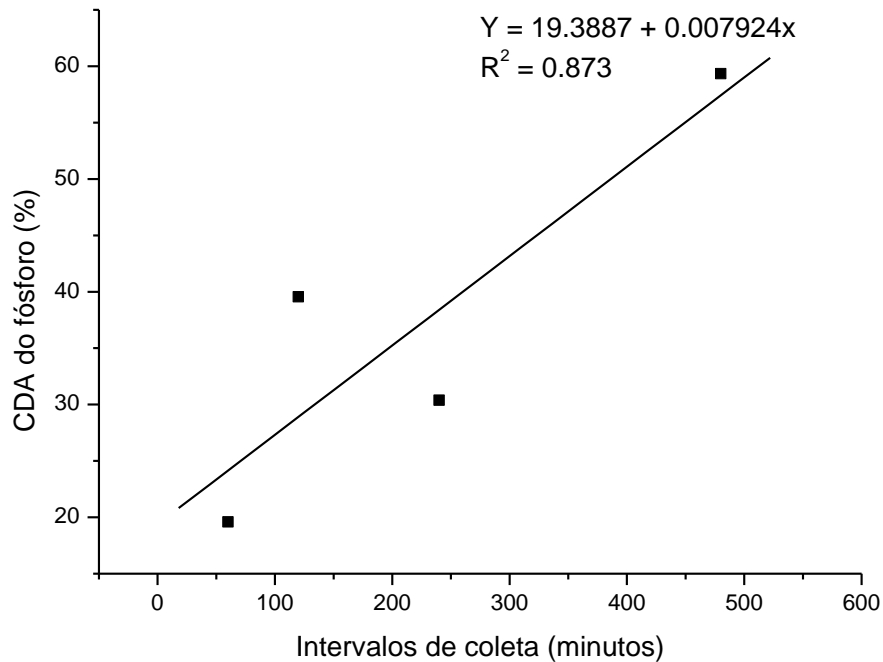


Gráfico 1. Coeficientes de digestibilidade aparente do fósforo nas fezes do tambaqui sobre diferentes tempos de coleta (60, 120, 240 e 480 minutos) pelo método de decantação.

Os intervalos de coleta de fezes influenciaram o CDA_{EB} de maneira quadrática ($P < 0,01$). O CDA_{EB} reduziu de acordo com o aumento dos intervalos de coleta até 314 min, aumentando gradativamente após este tempo. O método de dissecação apresentou o menor CDA_{EB} (70,45%), comparado com os valores obtidos nos diferentes intervalos do método de decantação ($P < 0,05$) (Gráfico 3).

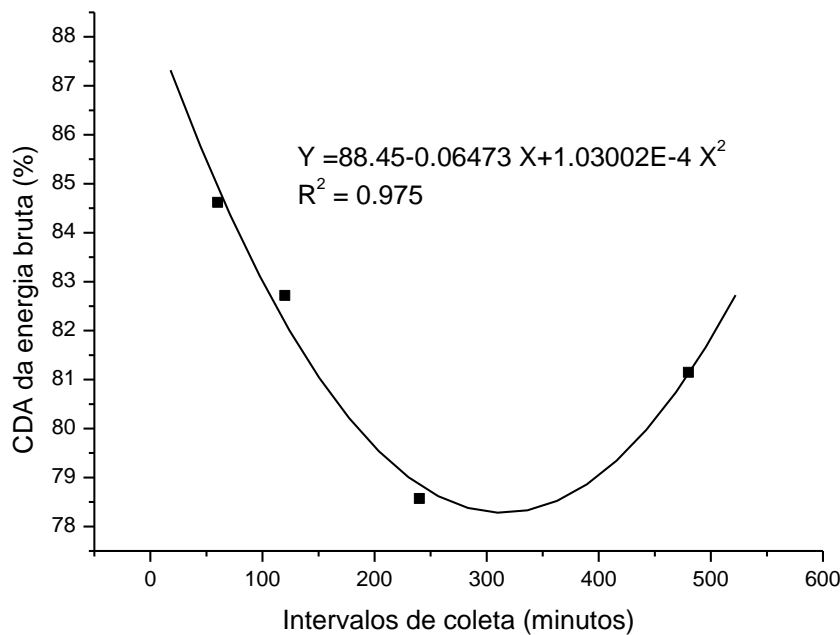


Gráfico 3. Coeficientes de digestibilidade aparente da energia bruta nas fezes do Tambaqui sobre diferentes tempos de coleta (60, 120, 240 e 480 minutos) pelo método de decantação.

2.6 DISCUSSÃO

Os métodos de determinação da digestibilidade são utilizados pelos nutricionistas como forma de avaliar o valor nutricional dos alimentos, sendo ferramenta importante para a seleção de ingredientes que possam compor a dieta, e ainda, um dado extremamente importante quando se pretende formular dietas ambientalmente corretas. Entretanto, dependendo do método de coleta de fezes utilizado para avaliação da digestibilidade, pode apresentar maior ou menor discrepância dos resultados.

Apesar da importância da digestibilidade, poucos são os estudos que avaliam essas metodologias para espécies de peixes nativas do Brasil ou da América Latina, principalmente o tambaqui. Até o presente momento, apenas três trabalhos contribuíram para a determinação da digestibilidade e a velocidade de trânsito pelo trato gastrointestinal do tambaqui (Silva et al., 1999; Silva et al., 2000; Silva et al., 2003). Portanto, a utilização de referências metodológicas de coleta de fezes para o tambaqui são baseadas em atribuições a diferentes espécies de peixes. Segundo Mourinõ et al.

(2006), Informações obtidas com uma espécie não devem ser generalizadas exatamente para outras, devido a fatores específicos como comportamento e consistência das fezes. Novos estudos deveriam ser realizados a ponto de evitar a utilização de determinados métodos, e apontar metodologias que comprovem de forma fidedigna os CDA dos nutrientes (proteína, matéria seca, energia bruta e fósforo) com uma maior precisão para a formulação de dietas específicas para o tabaqui.

É possível observar uma queda dos valores de CDA da MS à medida que o tempo de coleta foi aumentado, afirmando assim, a influência do tempo de coleta sobre o teor de matéria seca das fezes. Este resultado está diretamente relacionado com a concentração de cromo nas fezes, que foi diminuindo gradativamente no conteúdo fecal. Este fato pode ser explicado pelo possível efeito residual do cromo no recipiente coletor de fezes, já que este não era lavado entre uma coleta e outra. Essa possibilidade foi relatada por Percival et al. (2001) que observaram que o cromo apresenta afinidade por materiais plásticos e acrílicos, podendo assim interferir nos valores de digestibilidade.

O CDA_{MS} da dissecação (68,62%) foi menor que o encontrado para o CDA da MS pelo método de decantação. Esse resultado pode ser explicado pelo fato do alimento não ter sido completamente digerido e absorvido dentro do trato digestório, conforme relatado por Austreng et al. (1978).

Comparando-se com os resultados de digestibilidade da proteína da dieta obtida pelo método de decantação em relação ao método de dissecação, os valores apresentaram-se pouco divergentes. Por outro lado, os valores médios sugerem que, no sistema de decantação de fezes os intervalos de coleta podem não influenciar nos valores de CDA_{PB} , sendo esse nutriente pouco influenciado pela lixiviação. Entretanto observou-se uma redução do valor médio do CDA_{PB} do método de dissecação em

comparação aos valores médios do método de decantação. Resultado que pode ser atribuído segundo Inaba et al. (1962) ao nitrogênio presente nas fezes, proveniente de enzimas digestivas ou de células da descamação da parede do intestino e, ainda, do alimento que seria digerido ao longo do trato digestório. Assim, este fato pode explicar os menores valores de CDA_{PB} que reduz o valor de digestibilidade da proteína bruta.

No presente estudo, quanto maior o intervalo de coleta, maior o CDA do fósforo, comprovando assim que este elemento, por ser um mineral solúvel (Gillis et al., 1962; Sullivan et al., 1992) pode sofrer influência do tempo de coleta, aumentando a lixiviação do mesmo para a água.

Os dados do CDA_P foram similares no método de dissecação e no método de decantação no intervalo de 480 min. Estes resultados não podem ser explicados logicamente, já que, é bem conhecido que o aumento da permanência das fezes na água promove maior lixiviação de compostos solúveis, aumentando desta forma o CDA dos nutrientes (Potrich, 2011; Bueno, 2011; Diemer et al., 2011). Entretanto, o fósforo apresentou maior digestibilidade quando coletado no trato digestório, fato este, que não era esperado.

O fósforo é absorvido tanto em processo passivo como ativo nos peixes, entretanto, seu local de absorção varia entre as espécies, podendo ocorrer ao longo de todo o trato digestório, assim como em compartimentos especializados como nos cecos pilóricos dos salmonídeos (Sugiura & Ferraris, 2004; Hua & Bureau, 2010). A alta digestibilidade observada no método de dissecação pode estar relacionada com uma eficiente absorção deste mineral nos cecos pilóricos do tambaqui, entretanto são necessários maiores estudos sobre a fisiologia digestiva desta espécie para confirmar esta hipótese. Deve-se ressaltar, ainda, que devido ao pequeno volume de fezes produzidos pelos peixes no período de 60 min de permanência na água possa ainda ter

afetado a concentração de crômio nas fezes coletadas, podendo indicar que este marcador possa não ser um indicador adequado para estudos de digestibilidade com o tambaqui, ou mesmo que o nível de 0,1% de crômio nas dietas não seja o mais adequado.

A energia bruta está relacionada diretamente com a concentração de compostos orgânicos presentes nos alimentos, ou seja, proteína, lipídeos e carboidratos que compõem a matéria seca. Estes compostos apresentam diferentes graus de combustão, os quais fornecem energia em maior ou menor grau aos animais. Portanto, o CDA da MS possui alta correlação com o CDA da EB. Desta forma, a redução no CDA da EB com o aumento do tempo de coleta de fezes apresentou comportamento similar aos dados do CDA da MS do presente estudo. Entretanto, uma leve diferença no comportamento das variáveis foi observada após 314 min, com o aumento no CDA da EB (Gráfico 3). Este fato pode estar relacionado com a possível lixiviação de alguns compostos que não foram avaliados, como lipídeos e carboidratos, reduzindo o teor de EB nas fezes e assim, aumentando o CDA da EB.

Neste estudo foi observado que os diferentes métodos de coleta de fezes avaliados apresentaram baixos coeficientes de variação, indicando a possibilidade de utilização destas metodologias para a coleta de fezes do tambaqui. Como pode ser observado, o tambaqui apresenta fezes de formato granular sem cobertura mucosa. Este fato inerente à espécie pode influenciar os resultados de digestibilidade, pois a perda dos compostos orgânicos pode ser maior pela estrutura física das fezes.

Todos os nutrientes estão sujeitos ao processo de lixiviação quando as fezes permanecem por curtos períodos no corpo aquático. Este fato pôde ser observado com diversas espécies de peixes como tilápia do Nilo, truta, salmão, pacu, e peixes siluriformes (De La Noue&Choubert, 1986; Hajen et al., 1993a; Watanabe et al.,1996;

Storebakken et al., 1999; Pezzato et al., 2002; Abimorad & Carneiro, 2004) e também em anfíbios, como descrito por Mourinõ et al. (2006) que trabalharam com diferentes métodos de coleta de fezes para determinação da digestibilidade protéica em alimentos para rã-touro (*Rana catesbeiana*). Afirmaram que as diferentes metodologias influenciaram os valores dos coeficientes de digestibilidade aparente da fração protéica da dieta.

Silva et al. (1999) não encontraram diferenças significativas avaliando os métodos de decantação e o método de dissecação para a determinação da digestibilidade de alimentos para o tambaqui, o que contradiz com o resultado encontrado no presente estudo.

Os CDAs apresentados para a MS (68,62%) e EB (70,45%) no método de dissecação demonstram a possível digestão parcial destes nutrientes. Resultados de pesquisa com o salmão e truta arco-íris (Inaba et al., 1962; Hajen et al., 1993; Storebakken et al., 1998), tem indicado que o alimento presente na porção posterior do intestino mostra-se parcialmente digerido, sendo a digestibilidade obtida pelo método de dissecação subestimada, uma vez que a digestão e a absorção ocorre até o final do intestino.

As diferenças encontradas nesse estudo confirmam os resultados obtidos por Windell et al. (1978) com juvenis de trutas arco-íris. Esses autores também compararam esses dois métodos para estudo de digestibilidade e encontraram coeficientes de digestibilidade significativamente menores para a matéria seca, proteína bruta e extrato etéreo pelo método de dissecação, possivelmente pela provável contaminação da amostra por secreções naturais do animal. Pode-se inferir, portanto, que tais secreções digestórias aumentaram a concentração de MS, PB e EB, diluíram o marcador externo (Cr_2O_3) e possibilitaram essas distorções nos resultados.

Colaborando com os resultados do presente trabalho, Spyridakis et al. (1989) concluíram que o método de coleta de fezes com sistema de decantação foi o mais apropriado para trabalhos com digestibilidade para peixes, pois não havia manipulação dos peixes, não provocando estresse, e as fezes eram coletadas automaticamente, à medida que eram evacuadas.

Estudo realizado por Abimorad et al. (2004), foram avaliados quatro métodos de coleta de fezes (dissecação, extrusão, sistema Ghelph e sistema de Guelph modificado) para o pacu. Relataram que todos os métodos estudados podem ser adotados com segurança para a espécie estudada, desde que sejam rigorosamente aplicados, e o intervalo de tempo entre as coletas de fezes em estudos de digestibilidade, por intermédio dos sistemas de Guelph, não ultrapasse 30 minutos.

Resultado semelhante foi encontrado por Hajen et al. (1993a), que determinaram a digestibilidade de diferentes ingredientes por meio da obtenção de fezes pelo Sistema Guelphe por dissecação, para o chinook salmon (*Oncorhincus tshawytscha*), e não encontraram diferenças significativas entre os valores obtidos pelos dois métodos.

Apesar de ter sido encontrado diferença nos CDAs dos nutrientes entre os métodos de coleta, a diferença numérica não foi tão acentuada, demonstrando assim a possível utilização de ambos os métodos. Um dos fatores que podem contribuir para a redução dos níveis de lixiviação dos nutrientes pode ser a inclusão de aglutinantes nas dietas para determinação da digestibilidade de modo a melhorar a consistência das fezes dessa espécie. Estudos estão sendo focados nesta área (Cantelmo et al., 1999; Cantelmo et al., 2002), comprovando que a adição de aglutinantes melhora significativamente a resistência física dos grânulos fecais, sendo necessário assim maiores estudos sobre as concentrações e eficiência sobre a utilização deste aditivo para cada espécie, como alternativa para minimizar os efeitos da lixiviação.

2.7 CONCLUSÃO

Ambos os métodos de coleta de fezes estudados podem ser adotados, desde que usados de forma criteriosa. A coleta que tem por objetivo determinar macros nutrientes (proteína, energia bruta e matéria seca) pelo método de decantação não deve ultrapassar 314 minutos. Enquanto para o fósforo, o ideal é que sejam coletadas as fezes por decantação até 60 minutos ou pelo método de dissecação utilizando o terço final do trato gastrointestinal.

2.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIMORAD, E.G.; CARNEIRO, D.J. Métodos de Coleta de Fezes e Determinação dos Coeficientes de Digestibilidade da Fração Protéica e da Energia de Alimentos para o Pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887), **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.5, p.1101-1109, 2004.
- AUSTRENG, E. Digestibility determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segments of the gastrointestinal tract. **Aquaculture** 13, 265–272, 1978.
- BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. 2.ed. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2009. 350p.
- BREMER-NETO, H; GRANER, C.A.F.; PEZZATO, L.E. et al. Determinação de rotina do cromo em fezes, como marcador biológico, pelo método espectrofotométrico ajustado da 1,5-difenilcarbazida. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.3, p.691-697, 2005.
- BUENO, G.W. **Impacto ambiental do fósforo em rações para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. 2011. 65f. Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca) – Centro de Engenharia e Ciências Exatas, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo.
- CANTELMO, O.A. et al. Influencia de diferentes aglutinantes na Digestibilidade da matéria seca e da proteína bruta, no pacu (*Piaractus mesopotamicus*) arraçoado com rações elaboradas com e sem vapor. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.21,n.2, p.277-282, 1999.
- CANTELMO, O.A.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M. et al. Características físicas de dietas para peixes confeccionadas com diferentes aglutinantes. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 4, p. 949-955, 2002.
- DE LA NOÏE, J & CHOUBERT, G. Digestibility in rainbow trout: comparison of the direct and indirect methods of measurement. **Prog. Fish Cult.**, 48: 190-195, 1986.
- DIEMER, O.; BOSCOLO, W.R.; SIGNOR, A.A. et al. Níveis de fósforo total na alimentação de juvenis de jundiá criados em tanques-rede. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.41, n.4, p.559-563, 2011.
- GILLIS, M.B.; EDWARDS Jr., H.M.; YOUNG, R.J. Studies on the availability of calcium ortho-phosphates to chickens and turkeys. **J. Nutr.**, v.78, p.155-161, 1962.
- GUIMARÃES, I.G.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M. et al. Nutrient digestibility of cereal grain products and by-products in extruded diets for Nile tilapia. **J. World Aquac. Soc.**, v. 39, n.6, 781-789, 2008.
- HAJEN, W.E. et al. Digestibility of various feedstuffs by post-juvenile chinook salmon (*Onchorhynchus tshawytscha*) in sea water. 1. Validation of technique. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 112, p. 321-332, 1993.
- HUA, K.; BUREAU, D.P. Quantification of differences in digestibility of phosphorus among cyprinids, cichlids, and salmonids through a mathematical modelling approach. **Aquaculture**, Amsterdam, v.308, p.152-158, 2010.
- INABA, D. et al. Digestibility of dietary components in fishes. 1 - Digestibility of dietary proteins and starch in rainbow trout. **Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.**, Hakodate, v. 28, n. 3, p. 367-371, 1962.
- MOURIÑO & STÉFANI. Avaliação de métodos de coleta de fezes para determinação da digestibilidade protéica em rã-touro (*Ranacatesbeiana*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.3, p.954-958, maio-junho 2006.

- NOSE, T. Recent advances in the study of fish digestion in Japan. In: SYMPOSIUM ON FEEDING TROUT AND SALMON CULTURE, SC II-7., 1966, Belgrade. **Proceedings...** Belgrade: EIFAC, 1966. p.17.
- PAVANELLI, G.C.; EIRAS, J.C.; TAKEMOTO, R.M. **Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento.** Maringá :Nupelia, 1998, 268p.
- PERCIVAL, S.B.; LEE, P.S.; CARTER, C.G. Validation of a technique for determining apparent digestibility in large (up to 5 kg) Atlantic salmon *Salmo salar* L. in seawater. **Aquaculture** 201 (3-4), 315–327, 2001.
- PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C.; QUINTERO-PINTO, L.G. et al. Avaliação de dois métodos de determinação do coeficiente de digestibilidade aparente com a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*L.). **Acta scientiarum Animal Science** v. 24, n. 4, p. 965-971, 2002.
- POTRICH, F.R.; SIGNOR, A.A.; DIETERICH, T.G. et al. Estabilidade e lixiviação de nutrientes com rações de diferentes níveis protéicos. Cascavel, v.4, n.3, p.77-87,2011. Disponível em: <http://www.fag.edu.br/graduacao/agronomia/csvolume43/09.pdf> Acessado: 24 de setembro 2012.
- ROUBACH, R.; GOMES, L.C. O uso de anestésicos durante o manejo de peixes. Publicado em: **Panorama da Aquicultura** (2001), 11 (66):37-40.
- SILVA, I.A.M.; PEREIRA – FILHO, M.; OLIVEIRA – PEREIRA, M.I. Frutos e sementes consumidos pelo Tambaqui, *Collossoma macropomum* (Cuvier, 1818) incorporados em rações. Digestibilidade e velocidade de trânsito pelo trato gastrointestinal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.32, n.6, p. 1815-1824, 2003^a (Supl.2).
- SILVA, J.A.M. et al. Digestibility of seeds consumed by tambaqui (*Collossoma macropomum* Cuvier, 1818): an experimental approach. In: VAL, A.L.; ALMEIDA VAL, V.M.F. (ed). **Biology of tropical fishes**. Manaus: INPA, 1999. Cap.11, p.137-148.
- SILVA, J.A.M.; PEREIRA-FILHO, M.; OLIVEIRA-PEREIRA, M.I. Seasonal variation of nutrients and energy in tambaqui's (*Collossoma macropomum* CUVIER, 1818) natural food. **Revista Brasileira de Biologia**, v.60, n.4, p.599-605, 2000.
- SPYRIDAKIS, P.; METAILLER, R.; GABAUDAN, J. et al. Studies on nutrient digestibility in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). 1. Methodological aspects concerning faeces collection. **Aquaculture**, v.77, p.61-70, 1989.
- STOREBAKKEN, T. et al. The apparent digestibility of diets containing fish meal, soybeanmeal or bacterial meal fed to Atlantic salmon (*Salmo solar*): evaluation of different faecal collection methods. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 169, p. 195-210, 1998.
- SUGIURA, S.H.; FERRARIS, R.P. Contributions of different NaPi cotransporter isoforms to dietary regulation of Ptransport in the pyloric caeca and intestine of rainbow trout. **The Journal of Experimental Biology**, Cambridge, v.207, p.2055-2064, 2004.
- SULLIVAN, T.W.; DOUGLAS, J.H.; GONZALEZ, N.J. et al. Correlation of biological value of feed phosphates with their solubility in water, dilute hydrogen chloride, dilute citric acid, and neutral ammonium citrate. **Poult. Sci.**, v.71, p.2065-2074, 1992.
- WATANABE, T.; TAKEUCHI, T.; SATOH, S.; KIRON, V. Digestible crude protein contents in various feedstuffs determined with four fresh water fish species. **Fisheries Science** v.62 n.2, p.278-282, 1996.

- WINDELL, J.T. et al. Effect of fish size, temperature, and amount digestibility of a pelletet diet by rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Trans. Am. Fish. Soc., Bethesda, v. 107, n.4, p. 613-616, 1978.
- WINDELL, J.T.; FOLTZ, J.W.; SAROKAN, J.A. Methods of fecal collection and nutrient leaching in digestibility studies. **ProgressiveFishCulturist** 49, 51–55, 1978.

Anexo I

Figura I. Sistema Guelph: (Fonte: CHO, C.Y., COWEY, C.B., WATANABE, T., 1985. Methodological approaches to research and development. In: Cho, C.Y., Cowey, C.B., Watanabe, T. (Eds.), *Finfish Nutrition in Asia*. IDRC, Ottawa, Canada, pp. 10–80.)

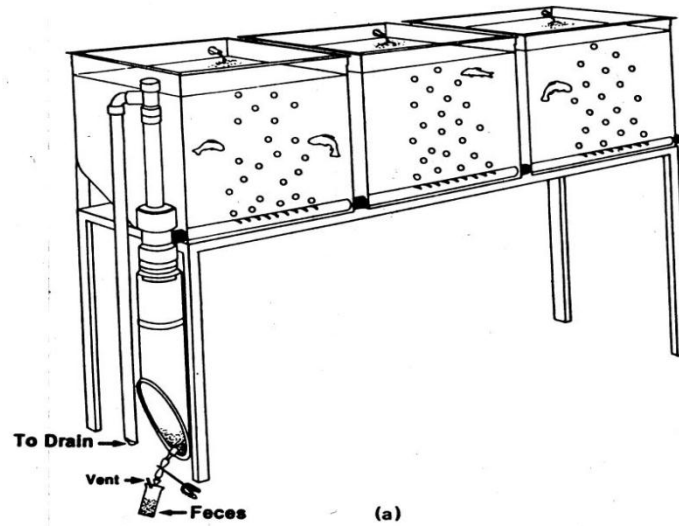
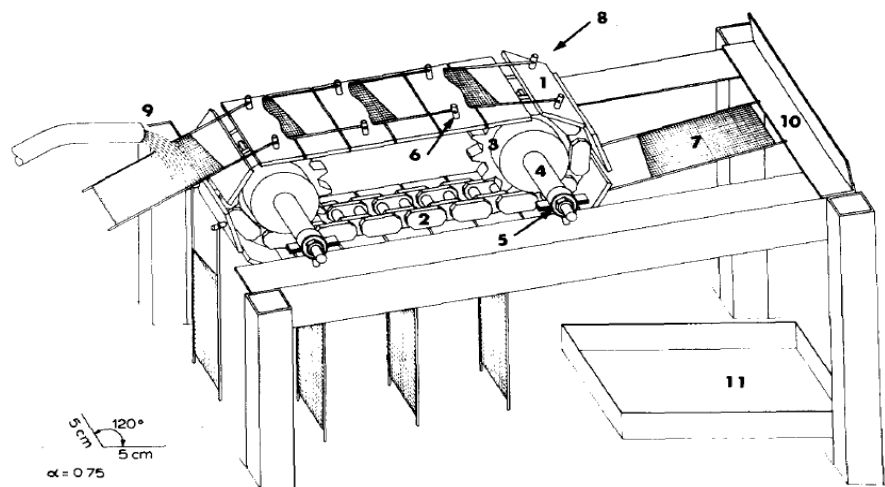


Figura II. Coleta mecânica: (Fonte: CHOUBERT, G., DE LA NOUE Jr., J., Luquet, P., 1982. Digestibility in fish: improved device for the automatic collection of feces. *Aquaculture* 29, 185–189.)



Anexo II

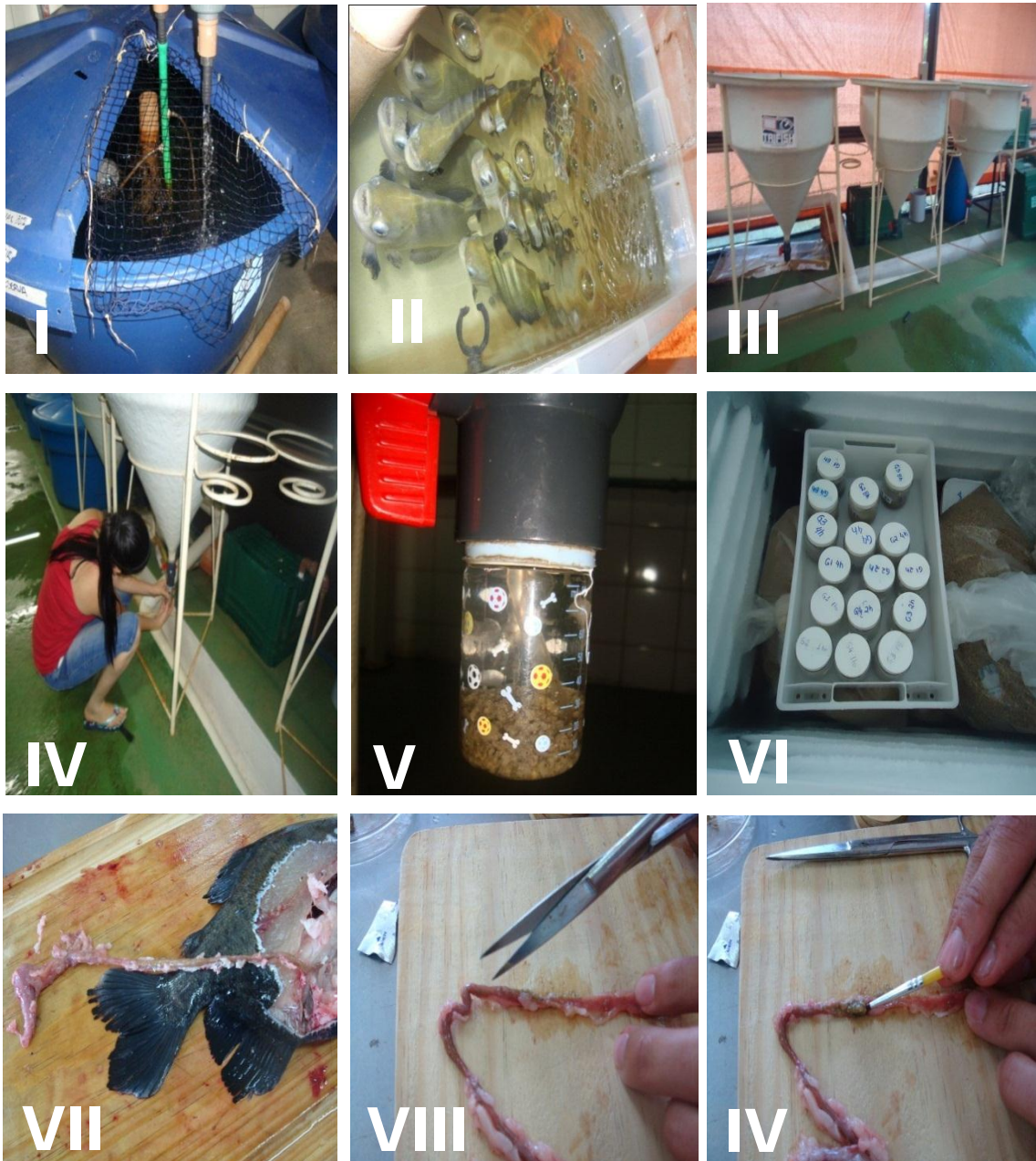


Figura I. Aquário de alimentação (*Fonte: Arquivo Pessoal*).

Figura II. Animais experimentais (*Fonte: Arquivo Pessoal*).

Figura III. Incubadoras adaptadas para coleta de fezes por decantação (*Fonte: Arquivo Pessoal*).

Figura IV. Coleta noturna de conteúdo fecal (*Fonte: Arquivo Pessoal*).

Figura V. Recipiente coletor de fezes acoplado a incubadora (*Fonte: Arquivo Pessoal*).

Figura VI. Identificação e armazenamento das amostras fecais (*Fonte: Arquivo Pessoal*).

Figura VII. Trato digestório do tabaqui todo removido (*Fonte: Arquivo Pessoal*).

Figura VIII. Corte longitudinal do trato digestório até o cecos pilóricos (*Fonte: Hugo Vinicius Pereira*).

Figura IX. Remoção das fezes de dentro do trato digestório com pincel (*Fonte: Hugo Vinicius Pereira*).

Anexo III

Normas para preparação de trabalhos científicos para publicação na Revista Brasileira de Zootecnia

Estrutura do artigo (artigo completo)

O artigo deve ser dividido em seções com título centralizado, em negrito, na seguinte ordem: Abstract, Introduction, Material and Methods, Results and Discussion, Conclusions, Acknowledgments (opcional) e References.

Não são aceitos subtítulos. Os parágrafos devem iniciar a 1,0 cm da margem esquerda.

Formatação de texto

O texto deve ser digitado em fonte Times New Roman 12, espaço duplo (exceto Abstract e Tabelas, que devem ser elaborados em espaço 1,5), margens superior, inferior, esquerda e direita de 2,5; 2,5; 3,5; e 2,5 cm, respectivamente.

O manuscrito pode conter até 25 páginas. As linhas devem ser numeradas da seguinte forma: Menu ARQUIVO/ CONFIGURARPÁGINA/LAYOUT/NÚMEROS DE LINHA.../ NUMERAR LINHAS (numeração contínua) e a paginação deve ser contínua, em algarismos arábicos, centralizada no rodapé.

O arquivo deverá ser enviado utilizando a extensão.doc. Não enviar arquivos nos formatos pdf, docx, zip ou rar.

Manuscritos com número de páginas superior a 25 (acatando-se o máximo de 30 páginas) poderão ser submetidos acompanhados de carta encaminhada ao

Editor-chefe contendo justificativa para o número de páginas excedentes. Em caso de aceite da justificativa, a tramitação ocorrerá normalmente e, uma vez aprovado o manuscrito, os autores deverão arcar com o custo adicional de publicação por páginas excedentes. Caso não haja concordância com a justificativa por parte do Editor-chefe, o manuscrito será reencaminhado aos autores para adequação às normas, a qual deverá ser realizada no prazo máximo de 30 dias. Em caso do não-recebimento da versão neste prazo, proceder-se-á ao cancelamento da tramitação (não haverá devolução da taxa de tramitação).

Título

Deve ser preciso, sucinto e informativo, com 20 palavras no máximo. Digitá-lo em negrito e centralizado, segundo o exemplo: **Valor nutritivo da cana-de-açúcar para bovinos**. Deve apresentar chamada de rodapé “1” somente quando a pesquisa foi financiada. Não citar “parte da tese...”

Autores

A RBZ permite até oito autores. A primeira letra de cada nome/sobrenome deve ser maiúscula (Ex.: Anacleto José Benevenuto). Não listá-los apenas com as iniciais e o último sobrenome (Ex.: A.J. Benevenuto).

Digitar os nomes dos autores separados por vírgula, centralizado e em negrito, com chamadas de rodapé

numeradas e em sobrescrito, indicando apenas a instituição à qual estavam vinculados à época de realização da pesquisa (instituição de origem), e não a atual. Não citar vínculo empregatício, profissão e titulação dos autores. Informar o endereço eletrônico somente do responsável pelo artigo.

Abstract

Deve conter no máximo 1.800 caracteres com espaços. As informações do abstract devem ser precisas. Abstracts extensos serão devolvidos para adequação às normas.

Deve sumarizar objetivos, material e métodos, resultados e conclusões. Não deve conter introdução nem referências bibliográficas.

O texto deve ser justificado e digitado em parágrafo único e espaço 1,5, começando por ABSTRACT, iniciado a 1,0 cm da margem esquerda.

Key Words

Apresentar até seis (6) Key Words imediatamente após o abstract, em ordem alfabética. Devem ser elaboradas de modo que o trabalho seja rapidamente resgatado nas pesquisas bibliográficas. Não podem ser retiradas do título do artigo. Digitá-las em letras minúsculas, com alinhamento justificado e separadas por vírgulas. Não devem conter ponto-final.

Introduction

Deve conter no máximo 2.500 caracteres com espaços, resumindo a contextualização breve do assunto, as justificativas para a realização da pesquisa e os objetivos do trabalho. Evitar discussão da literatura na introdução. A

comparação de hipóteses e resultados deve ser feita na discussão.

Trabalhos com introdução extensa serão devolvidos para adequação às normas.

Material and Methods

Se for pertinente, descrever no início da seção que o trabalho foi conduzido de acordo com as normas éticas e aprovado pela Comissão de Ética e Biossegurança da instituição.

Descrição clara e com referência específica original para todos os procedimentos biológicos, analíticos e estatísticos. Todas as modificações de procedimentos devem ser explicadas.

Results and Discussion

É facultada ao autor a feitura desta seção combinando-se os resultados com a discussão ou em separado, redigindo duas seções, com separação de resultados e discussão.

Dados suficientes, todos com algum índice de variação, devem ser apresentados para permitir ao leitor a interpretação dos resultados do experimento. Na seção discussão deve-se interpretar clara e concisamente os resultados e integrá-los aos resultados de literatura para proporcionar ao leitor uma base ampla na qual possa aceitar ou rejeitar as hipóteses testadas.

Evitar parágrafos soltos, citações pouco relacionadas ao assunto e cotejamentos extensos.

Conclusions

Devem ser redigidas em parágrafo único e conter no máximo 1.000 caracteres com espaço.

Resuma claramente, sem abreviações ou citações, as inferências feitas com base nos resultados obtidos pela pesquisa. O importante é buscar entender as generalizações que governam os fenômenos naturais, e não particularidades destes fenômenos.

As conclusões são apresentadas usando o presente do indicativo.

Acknowledgments

Esta seção é opcional. Deve iniciar logo após as Conclusões.

Abreviaturas, símbolos e unidades

Abreviaturas, símbolos e unidades devem ser listados conforme indicado na página da RBZ, link “Instruções aos autores”, “Abreviaturas”.

Deve-se evitar o uso de abreviações não consagradas, como por exemplo: “o T3 foi maior que o T4, que não diferiu do T5 e do T6”. Este tipo de redação é muito cômoda para o autor, mas é de difícil compreensão para o leitor.

Os autores devem consultar as diretrizes estabelecidas regularmente pela RBZ quanto ao uso de unidades.

Estrutura do artigo (comunicação e nota técnica)

Devem apresentar antes do título a indicação da natureza do manuscrito (Short Communication ou Technical Note) centralizada e em negrito.

As estruturas de comunicações e notas técnicas seguirão as diretrizes definidas para os artigos completos, limitando-se, contudo, a 14 páginas de tamanho máximo.

As taxas de tramitação e de publicação aplicadas a comunicações e notas técnicas serão as mesmas destinadas a artigos completos, considerando-se, porém, o limite de 4 páginas no formato final. A partir deste, proceder-se-á à cobrança de taxa de publicação por página adicional.

Tabelas e Figuras

É imprescindível que todas as tabelas sejam digitadas segundo menu do Microsoft® Word “Inserir Tabela”, em células distintas (não serão aceitas tabelas com valores separados pelo recurso ENTER ou coladas como figura). Tabelas e figuras enviadas fora de normas serão devolvidas para adequação.

Devem ser numeradas sequencialmente em algarismos arábicos e apresentadas logo após a chamada no texto.

O título das tabelas e figuras deve ser curto e informativo, evitando a descrição das variáveis constantes no corpo da tabela.

Nos gráficos, as designações das variáveis dos eixos X e Y devem ter iniciais maiúsculas e unidades entre parênteses.

Figuras não originais devem conter, após o título, a fonte de onde foram extraídas, que deve ser referenciada.

As unidades, a fonte (Times New Roman) e o corpo das letras em todas as figuras devem ser padronizados.

Os pontos das curvas devem ser representados por marcadores

contrastantes, como círculo, quadrado, triângulo ou losango (cheios ou vazios).

As curvas devem ser identificadas na própria figura, evitando o excesso de informações que comprometa o entendimento do gráfico.

As figuras devem ser gravadas nos programas Microsoft®Excel ou Corel Draw®(extensão CDR), para possibilitar a edição e possíveis correções.

Usar linhas com no mínimo 3/4 ponto de espessura.

As figuras deverão ser exclusivamente monocromáticas.

Não usar negrito nas figuras.

Os números decimais apresentados no interior das tabelas e figuras dos manuscritos em inglês devem conter ponto, e não vírgula.

As fórmulas matemáticas e equações devem ser digitadas no Microsoft Equation e inseridas no texto como objeto.

Citações no texto

As citações de autores no texto são em letras minúsculas, seguidas do ano de publicação. Quando houver dois autores, usar & (e comercial) e, no caso de três ou mais autores, citar apenas o sobrenome do primeiro, seguido de et al.

Comunicação pessoal (ABNT-NBR 10520).

Somente podem ser utilizadas caso sejam estritamente necessárias ao desenvolvimento ou entendimento do trabalho. Contudo, não fazem parte da lista de referências, por isso são colocadas apenas em nota de rodapé. Coloca-se o sobrenome do autor seguido da expressão “comunicação pessoal”, a data da

comunicação, o nome, estado e país da instituição à qual o autor é vinculado.

Referências

Baseia-se na Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT (NBR 6023).

As referências devem ser redigidas em página separada e ordenadas alfabeticamente pelo(s) sobrenome(s) do(s) autor (s).

Digitá-las em espaço simples, alinhamento justificado e recuo até a terceira letra a partir da segunda linha da referência. Para formatá-las, siga as seguintes instruções: No menu FORMATAR, escolha a opção PARÁGRAFO... RECUO ESPECIAL, opção DESLOCAMENTO... 0,6 cm.

Em obras com dois e três autores, mencionam-se os autores separados por ponto-e-vírgula e, naquelas com mais de três autores, os três primeiros seguidos de et al. As iniciais dos autores não podem conter espaços. O termo et al. não deve ser italizado nem precedido de vírgula.

Indica(m)-se o(s) autor (s) com entrada pelo último sobrenome seguido do(s) prenome(s) abreviado (s), exceto para nomes de origem espanhola, em que entram os dois últimos sobrenomes.

O recurso tipográfico utilizado para destacar o elemento título é negrito.

No caso de homônimos de cidades, acrescenta-se o nome do estado (ex.: Viçosa, MG; Viçosa, AL; Viçosa, RJ).

Obras de responsabilidade de uma entidade coletiva

A entidade é tida como autora e deve ser escrita por extenso, acompanhada por sua respectiva abreviatura. No texto, é

citada somente a abreviatura correspondente.

Quando a editora é a mesma instituição responsável pela autoria e já tiver sido mencionada, não deverá ser citada novamente.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - AOAC. **Official methods of analysis**. 16.ed. Arlington: AOAC International, 1995. 1025p.

Livros e capítulos de livro

Os elementos essenciais são: autor(es), título e subtítulo (se houver), seguidos da expressão “In:”, e da referência completa como um todo. No final da referência, deve-se informar a paginação.

Quando a editora não é identificada, deve-se indicar expressão sinônimo, abreviada, entre colchetes [s.n.].

Quando editor e local não puderem ser indicados na publicação, utilizam-se ambas as expressões, abreviadas, e entre colchetes [S.I.: s.n.].

LINDHAL, I.L. Nutrición y alimentación de las cabras. In: CHURCH, D.C. (Ed.) **Fisiologia digestiva y nutrición delos ruminantes**. 3.ed. Zaragoza: Acríbia, 1974. p.425-434.
NEWMANN, A.L.; SNAPP, R.R. **Beef cattle**. 7.ed. New York: John Wiley, 1997. 883p.

Teses e Dissertações

Recomenda-se não citar teses e dissertações. Deve-se procurar referenciar sempre os artigos publicados na íntegra em periódicos indexados. Excepcionalmente, se necessário citar

teses e dissertações, indicar os seguintes elementos: autor, título, ano, página, nível e área do programa de pós-graduação, universidade e local.

CASTRO, F.B. **Avaliação do processo de digestão do bagaço de cana-de-açúcar auto-hidrolisado em bovinos**. 1989. 123f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”/Universidade de São Paulo, Piracicaba.

SOUZA, X.R. **Características de carcaça, qualidade de carne e composição lipídica de frangos de corte criados em sistemas de produção caipira e convencional**. 2004. 334f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

Boletins e relatórios

BOWMAN, V.A. **Palatability of animal, vegetable and blended fats by equine**. (S.L.): Virgínia Polytechnic Institute and State University, 1979. p.133-141 (Research division report, 175).

Artigos

O nome do periódico deve ser escrito por extenso. Com vistas à padronização deste tipo de referência, não é necessário citar o local; somente volume, intervalo de páginas e ano.

MENEZES, L.F.G.; RESTLE, J.; BRONDANI, I.L. et al. Distribuição de gorduras internas e de descarte e componentes externos do corpo de novilhos de gerações avançadas do cruzamento rotativo entre as raças

Charolês e Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.338-345, 2009.

Citações de artigos aprovados para publicação deverão ser realizadas preferencialmente acompanhadas do respectivo DOI.

FUKUSHIMA, R.S.; KERLEY, M.S. Use of lignin extracted from different plant sources as standards in the spectrophotometric acetyl bromide lignin method. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 2011. doi: 10.1021/jf104826n

Congressos, reuniões, seminários etc

Citar o mínimo de trabalhos publicados em forma de resumo, procurando sempre referenciar os artigos publicados na íntegra em periódicos indexados.

CASACCIA, J.L.; PIRES, C.C.; RESTLE, J. Confinamento de bovinos inteiros ou castrados de diferentes grupos genéticos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 30., 1993, Rio de Janeiro. **Anais...**Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1993. p.468.

EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C.M.; OLIVEIRA, M.P. Avaliação de cultivares de *Panicum maximum* em pastejo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. **Anais...** São Paulo: Sociedade Brasileira de

Zootecnia/Gmosis, [1999]. (CD-ROM).

Artigo e/ou matéria em meios eletrônicos

Na citação de material bibliográfico obtido via internet, o autor deve procurar sempre usar artigos assinados, sendo também sua função decidir quais fontes têm realmente credibilidade e confiabilidade.

Quando se tratar de obras consultadas on-line, são essenciais as informações sobre o endereço eletrônico, apresentado entre os sinais <>, precedido da expressão "Availableat:" e a data de acesso do documento, precedida da expressão "Accessedon:".

NGUYEN, T.H.N.; NGUYEN, V.H.; NGUYEN, T.N. et al. [2003]. Effect of drenching with cooking oil on performance of local yellow cattle fed rice straw and cassava foliage. **Livestock Research for Rural Development**, v.15, n.7, 2003. Available at: <<http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd15/7/nhan157.htm>> Accessed on: Jul. 28, 2005.

REBOLLAR, P.G.; BLAS, C. [2002]. **Digestión de la soja integral em rumiantes**. Available at: <http://www.ussoymeal.org/ruminant_s.pdf> Accessed on: Oct. 12, 2002.

SILVA, R.N.; OLIVEIRA, R. [1996]. Os limites pedagógicos do paradigma da qualidade total na educação. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPe, 4., 1996, Recife. **Anais eletrônicos...**Recife: Universidade Federal do

Pernanbuco, 1996. Available at:
<<http://www.propesq.ufpe.br/anais/anais.htm>> Accessed on: Jan. 21,
1997.

Citações de softwares estatísticos

A RBZ não recomenda a citação bibliográfica de softwares aplicados a análises estatísticas. A utilização de programas deve ser informada no texto (Material e Métodos) incluindo o procedimento específico e o nome do software com sua versão e/ou ano de lançamento.

“... os procedimentos estatísticos foram conduzidos utilizando-se o PROC MIXED do SAS (StatisticalAnalysis System, versão 9.2.)”