

## Farelo de algodão como sucedâneo do farelo de soja em rações para tilápia do Nilo

*Cottonseed meal as a substitute for soybean meal in Nile tilapia diet*

KLEEMANN, Geisa Karine<sup>2</sup>; DAL PAI, Maeli<sup>3</sup>; PEZZATO, Luiz Edivaldo<sup>1</sup>; TEIXEIRA, Caroline Pelegrina<sup>2</sup>; PADOVANI, Carlos Roberto<sup>4</sup>; BARROS, Margarida Maria<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, Botucatu, São Paulo, Brasil.

<sup>2</sup>Universidade Estadual Paulista, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Botucatu, São Paulo, Brasil.

<sup>3</sup>Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu, Departamento de Morfologia, Botucatu, São Paulo, Brasil.

<sup>4</sup>Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu, Departamento de Bioestatística, Botucatu, São Paulo, Brasil.

\*Endereço para correspondência: mbarros@fmvz.unesp.br

### RESUMO

Objetivou-se neste experimento avaliar a substituição parcial do farelo de soja pelo farelo de algodão e dois métodos de processamento, peletização e extrusão, em rações para a tilápia do Nilo. As rações foram formuladas para conter 30% de proteína digestível e 3200kcal/kg de energia digestível e a suplementação de aminoácidos foi baseada no conceito de proteína ideal. A proteína do farelo de soja foi gradualmente substituída pela proteína do farelo de algodão (0; 12,5; 25 e 50%), o que correspondeu a 0, 8, 16 e 32% de inclusão de farelo de algodão nas rações, respectivamente. O farelo de algodão não apresentou gossipol livre e 0,0987% de gossipol total. Foram distribuídos em 32 tanques-rede cilíndricos (200L) em sistema de recirculação de água, 192 alevinos de tilápia do Nilo com peso médio inicial de 4,60±0,23g, alimentados até a saciedade aparente quatro vezes ao dia, durante 95 dias. A experimentação foi conduzida em esquema fatorial (4x2), no delineamento inteiramente casualizado balanceado com quatro repetições. Após 95 dias, não foram observadas diferenças nos parâmetros de desempenho produtivo e respostas fisiológicas dos peixes alimentados com as rações contendo farelo de algodão, em comparação aos peixes alimentados com as rações à base de farelo de soja. O farelo de algodão (0% de gossipol livre) pode compor 32,0% da ração para tilápia do Nilo, em

substituição a 50,0% da proteína do farelo de soja, quando suplementado com lisina, sem afetar o desempenho, hematologia e morfologia intestinal dos animais em crescimento.

**Palavras-chave:** desempenho produtivo, gossipol, hematologia, lisina, *Oreochromis niloticus*

### SUMMARY

This feeding trial was conducted to evaluate the effects of partial replacement of soybean meal by cottonseed meal and the effects of two feed processing methods, pelleting and extrusion, in Nile tilapia feeds. The cottonseed meal was solvent-processed and contained no amount of free gossypol and 0.0987% of total gossypol. The diets were formulated to contain 30% digestible protein and 3200kcal/kg digestible energy and the supplemental amino acids were added based on the ideal protein concept. In the experimental diets, soybean meal protein was gradually replaced by cottonseed meal protein (0, 12.5, 25 and 50%), which corresponded to 0, 8, 16 and 32% of inclusion of cottonseed meal in the diets, respectively. 192 Nile tilapia fingerlings with an average weight of 4.60±0.23g, were distributed in 32 200-L cylindrical net-tanks, on a recirculating water system and were fed to apparent satiation four

times a day, during 95 days. The experiment was conducted in a 4x2 factorial, in a completely randomized design, with four replicates. After 95 days, no significant differences for growth performance and physiological responses of fish fed diets containing cottonseed meal in comparison to fish fed the diets based on soybean meal were observed. Cottonseed meal (0% free gossypol) can replace 50% of soybean meal protein in the diet (32% of inclusion level in the diet) of Nile tilapia if supplemented with synthetic lysine, without impaired growth performance, hematology and intestinal morphology.

**Keywords:** gossypol; growth performance; hematology; lysine; morphology; *Oreochromis niloticus*

## INTRODUÇÃO

A tilápia do Nilo está entre as três espécies de peixes mais cultivadas no mundo, principalmente em regiões tropicais e subtropicais (RAMOS et al., 2003). Sob condições de criação intensiva, os peixes necessitam rações com alta quantidade de proteína para o máximo crescimento. Nesse processo, a alimentação dos peixes pode representar mais que 70,0% do custo operacional, e a proteína a fonte dietética mais dispendiosa (GUIMARÃES et al., 2008).

O farelo de algodão possui alta quantidade de proteína e custo por unidade de proteína inferior à farinha de peixe e ao farelo de soja, além de ser mais palatável para peixes (BARROS et al., 2002) e possuir bom perfil de aminoácidos (FAO, 2007). Este subproduto é considerado, em termos quantitativos, a terceira fonte de proteína vegetal, além de ser amplamente disponível (EL-SAYID & GABER, 2004).

A formulação de ração de menor custo tem sido a principal razão para que o farelo de algodão represente ótima

opção para produção de alimentos de várias classes animais (YUE & ZHOU, 2008). O aumento da produção de algodão aliado à melhoria dos métodos de processamento do farelo, com diminuição da quantidade de gossypol livre, tornou este ingrediente mais atrativo em rações para aquicultura (WALDROUP & KERSEY, 2002). A quantidade de farelo de algodão que pode ser incorporada na ração para peixes depende, principalmente, dos níveis de gossypol livre e lisina disponível (LIM & SESSA, 1995).

O gossypol livre pode se ligar ao ferro dietético no intestino delgado e reduzir a absorção e retenção desse mineral (BUTOLO, 2010). Desse modo, em estudos que se utilizam de concentrações de gossypol livre, consideram-se necessárias as avaliações hematológicas, de maneira a se estimar o estado nutricional do ferro e a higidez do peixe em crescimento.

Assim, objetivou-se no presente estudo avaliar o efeito de níveis de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína do farelo de algodão em rações para tilápia do Nilo e o efeito de dois métodos de processamento de ração (extrusão e peletização) no desempenho produtivo, parâmetros hematológicos e na avaliação morfológica do fígado e intestino.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Univ. Estadual Paulista, Campus de Botucatu, DMNA, AquaNutri.

As dietas foram formuladas com base no conceito de proteína ideal, de acordo com a exigência em lisina digestível para a tilápia do Nilo segundo

FURUYA et al. (2006). O farelo de soja foi utilizado como fonte proteica principal contendo somente ingredientes vegetais em sua composição. Quatro níveis de substituição (0; 12,5; 25 e 50%) da proteína do farelo de soja pela proteína do farelo de algodão constituíram as rações experimentais, o que correspondeu às inclusões de 0; 8; 16 e 32% de farelo de algodão, respectivamente (Tabela 1).

As rações experimentais foram submetidas a dois métodos de processamento, peletização e extrusão. As mesmas foram formuladas de forma a se apresentarem isoproteicas (30% PD), isoenergéticas (3200 kcal ED) e isofibrasas (6% FB). O nível máximo de inclusão do farelo de algodão está fundamentado no nível de fibra bruta aceitável em rações para a espécie.

Para o preparo da ração, os ingredientes foram moídos em partículas menores que 0,7mm de diâmetro geométrico médio (DGM) e, homogeneizados em misturador automático. Posteriormente, adicionou-se 40% de água destilada a 55°C à mistura. As rações peletizadas foram processadas em peletizadora automática Ação Científica® e as rações extrudadas foram processadas em extrusora Extrutec®. As rações foram desidratadas em estufa de circulação de ar a 55°C durante 24 horas e armazenadas a -20°C. As concentrações de gossipol livre e gossipol total das rações (AOCS, 2009) foram determinadas no Laboratório de Alta Tecnologia – Lab Tec, Campinas, SP. A composição químico-bromatológica das rações foi determinada no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, FMVZ, Unesp, Botucatu (Tabela 1).

Foram utilizados 32 tanques-rede com capacidade para 200L/cada, instalados em oito aquários com capacidade para 1000L/cada (quatro

tanques-rede/aquário). Estes foram abastecidos por sistema de recirculação de água, dotado por biofiltro e sistema de manutenção constante da temperatura (26,0±1,0°C) e da qualidade físico-química da água. Nestes tanques-rede foram alojados 192 alevinos (seis/tanque-rede) de tilápia do Nilo (linhagem SUPREME) com peso médio de 4,60±0,23g.

O experimento foi conduzido em esquema fatorial 4x2, em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os oito tratamentos se caracterizaram por apresentar quatro níveis de substituição da proteína do farelo de soja, pela proteína do farelo de algodão: 0,0; 12,5; 25 e 50%, o que correspondeu respectivamente, à inclusão de 0,0; 8,0; 16,0 e 32,0% de farelo de algodão às rações e, dois tipos de processamento das rações: peletização e extrusão.

Os peixes foram alimentados quatro vezes ao dia (8h; 11h; 14h e 17h), com fornecimento até próximo à saciedade. Semanalmente foram efetuadas análises físico-químicas da água, com determinação do oxigênio dissolvido (OD) e pH. Para retirada de fezes e limpeza dos aquários foram realizadas sifonagens quinzenais que resultaram na renovação de aproximadamente 20% do volume total da água do sistema.

Ao final do período experimental (95 dias) determinou-se o ganho de peso, o consumo de ração, a conversão alimentar aparente e a taxa de eficiência proteica. Determinou-se, ainda, o rendimento de filés dos peixes. Para isso, 10 peixes por tratamento foram anestesiados com benzocaína (0,13g do anestésico /L de água) e, após a dessensibilização completa, foram mortos por secção da medula espinhal. Foi avaliada a composição químico-bromatológica do filé de cinco repetições por tratamento, segundo a AOAC (2006) no Laboratório

de Bromatologia do DMNA/FMVZ. Durante o período experimental a temperatura da água dos aquários variou de 25,5 a 26,5°C. A concentração média

de OD foi de 7,1 a 8,6mg/L e o pH oscilou entre 6,9 e 7,5. Esses valores estão dentro da faixa considerada ótima para esta espécie, segundo Boyd (2000).

Tabela 1. Composição percentual e composição química analisada das rações experimentais (base na matéria seca)

Ingrediente (%)	Rações			
	FA-0%	FA-8%	FA-16%	FA-32%
Farelo de soja	44,32	38,78	33,24	22,16
Farelo de algodão 38	0,00	8,00	16,00	32,00
Glúten de milho	15,50	15,50	15,50	15,50
Fubá de milho	23,55	23,55	23,55	23,55
Amido de milho	5,43	4,06	2,73	0,00
Alginato	0,20	0,20	0,20	0,20
Celulose	5,26	3,95	2,62	0,00
L-lisina	0,00	0,10	0,20	0,39
DL-metionina	0,44	0,44	0,44	0,43
Treonina	0,19	0,20	0,20	0,22
Óleo de soja	0,00	0,31	0,61	1,24
Fosfato bicálcico	4,30	4,10	3,90	3,50
Vitamina C <sup>1</sup>	0,09	0,09	0,09	0,09
Sal comum	0,20	0,20	0,20	0,20
Premix vitam. min. <sup>2</sup>	0,50	0,50	0,50	0,50
BHT	0,02	0,02	0,02	0,02
<b>Total</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
<b>Composição analisada</b>				
Proteína digestível (%)	30,00	30,07	30,14	30,29
Energia digestível (kcal/kg)	3200	3200	3200	3200
Extrato etéreo (%)	2,58	2,56	2,58	2,70
Fibra bruta (%)	5,88	5,62	5,78	5,90
Matéria mineral (%)	7,04	7,12	7,09	7,24
Cálcio (%)	1,72	1,64	1,56	1,40
Fósforo disponível (%)	0,70	0,70	0,70	0,70
Matéria seca (%)	94,43	95,73	95,19	94,90
Gossipol livre (%)	0,00	0,00	0,00	0,00
Gossipol total (%)	0,00	0,00	0,001143	0,002037

<sup>1</sup> Vitamina C polifosfatada Stay C<sup>®</sup> com 35% de princípio ativo; <sup>2</sup> Premix vitamínico e mineral (Supre Mais): vitamina A, 1.200.000UI; vitamina B<sub>1</sub>, 4.800mg; vitamina B<sub>2</sub>, 4.800mg; vitamina B<sub>12</sub>, 4.800mcg; vitamina B<sub>6</sub>, 4.800mg; vitamina C, 48g; vitamina D<sub>3</sub>, 200.000I; vitamina E 1.200mg; vitamina K<sub>3</sub>, 2.400mg; pantotenato de cálcio, 12.000mg; niacina, 24.000mg; ácido fólico, 1.200mg; biotina, 48mg; cloreto de colina, 108g; cobalto, 10mg; cobre, 3.000mg; Ferro, 50.000g; Iodo, 100mg; manganês, 20.000mg; selênio, 100mg; zinco, 3.000mg; veículo q.s.p., 1.000g; antioxidante, 25g.

A concentração de gossipol livre e gossipol total presente nos filés foi realizada no Laboratório de Alta Tecnologia (LabTec), Campinas, SP. A análise de gossipol livre foi efetuada em cromatógrafo líquido (HPLC), de acordo com metodologia de Cui et al. (2002). Amostras de 1,0 a 2,0g foram finamente moídas, extraídas com auxílio de banho ultrassônico e, após filtragem, uma alíquota foi evaporada e ressuspendida em acetonitrila, filtrada em filtro de seringa para ser injetada no cromatógrafo líquido. A análise de gossipol total foi igualmente efetuada em HPLC, de acordo com o AOCS (2009). A amostra foi solubilizada com reagente complexante e extraída com auxílio de banho Maria a 100°C. Após filtragem, uma alíquota foi pipetada para balão volumétrico de 10mL e completada com Iso-hexano. Posteriormente, a solução foi filtrada em filtro de seringa para, após, ser injetada no HPLC. As condições cromatográficas foram: coluna ODS (C18 – 150 × 4.6mm), temperatura de 25°C e detector de UV 235nm.

Ao final do período experimental foram retirados aleatoriamente, 12 peixes/tratamento para análises hematológicas. Primeiramente, os peixes foram anestesiados com benzocaína e, após completa dessensibilização foram realizadas as colheitas de sangue por punção do vaso caudal, mediante utilização de seringa de 1mL contendo anticoagulante (EDTA a 3,0%).

A contagem do número de eritrócitos (NE) foi realizada pelo método do hemocitômetro em câmara de *Neubauer* e, como corante utilizou-se Azul de Toluidina Merck® a 0,01% em pipeta de Thoma, na proporção 1:200. A taxa de hemoglobina (Hb) foi determinada pelo método da cianometahemoglobina, mediante utilização do kit Hemoglobina Analisa Diagnóstica® de determinação

colorimétrica. A porcentagem de hematócrito (Htc) foi obtida pelo método do micro-hematócrito. As concentrações de proteína plasmática total (PPT) foram avaliadas em refratômetro manual de *Goldenberg*, por meio do plasma obtido após a quebra do capilar de micro-hematócrito logo acima da camada de leucócitos, posteriormente à determinação da porcentagem de hematócrito. Foram determinados os índices hematimétricos volume corpuscular médio [VCM = (Htc/eritrócitos) x 10] e concentração de hemoglobina corpuscular média [CHCM = (Hb/Htc) x100], úteis na classificação morfológica das anemias e avaliação da resposta eritropoiética. As análises foram realizadas segundo Weiss & Wardrop (2010).

Foram utilizados cinco peixes de cada tratamento para a análise morfológica da estrutura histológica do fígado e das porções anterior e posterior do intestino. Os peixes foram anestesiados, abatidos, e em seguida foram retirados o trato gastrointestinal e o fígado, que foram lavados com solução fisiológica 0,9% e fixados em formalina tamponada por 24 horas. Posteriormente, o material foi lavado em álcool 70,0% por várias vezes para a retirada do fixador e, em seguida processado e incluído em historesina. Cortes histológicos de 5µm de espessura foram obtidos em micrótomo Leica RM 2165, e corados em Hematoxilina e Eosina (H/E), segundo Bancroft et al. (1990). O estudo histológico compreendeu análise descritiva sendo observada a ocorrência ou não de sinais de infiltrado inflamatório, congestão, desarranjo cordonal, presença de melanomacrófagos e focos de necrose no hepatopâncreas e alterações teciduais nas vilosidades intestinais. O processamento do material e as análises foram realizadas no Laboratório de Histoquímica do

Departamento de Morfologia, IB, Unesp, Botucatu.

O estudo estatístico dos dados foi realizado por meio da técnica da análise de variância e foram considerados os dados originais, dada a aderência dos mesmos à distribuição normal de probabilidades (teste de *Kolmogorov-Smirnov*). Por tratar-se de um fatorial com níveis qualitativos (processamento da ração: extrusão e peletização) e quantitativos (nível de substituição: 0; 12,5; 25 e 50%) utilizou-se o teste de comparações de médias de Tukey (fator qualitativo) e regressão polinomial (fator qualitativo) conforme a significância dos fatores principais e da interação entre eles (MONTGOMERY, 1991). Em todas as discussões realizadas considerou-se o nível de significância de 5%. Para os dados histológicos foi realizada análise descritiva, na qual considerou-se a porcentagem de ocorrência de alterações teciduais.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pode-se observar, após 95 dias, que não houve diferença estatística entre as médias de sobrevivência dos peixes alimentados pelas diferentes rações. A taxa média de sobrevivência dos peixes variou de 92,75 a 100,0%, não havendo influência dos níveis de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína do farelo de algodão, nem pelo método de processamento da ração ou suas interações. Pode-se observar que a mortalidade registrada foi decorrente de confrontos agonísticos entre os animais. As médias de ganho de peso, de consumo de ração, as taxas de conversão alimentar e de eficiência proteica e do rendimento de filé dos

peixes dos diferentes tratamentos estão apresentadas na Tabela 2.

Os níveis de substituição da proteína dietética do farelo de soja pela proteína do farelo de algodão não causaram prejuízos significativos aos parâmetros de desempenho produtivo dos peixes. Entretanto, houve diferença significativa ( $p < 0,01$ ) entre os dois métodos de processamento da ração para ganho de peso, conversão alimentar e taxa de eficiência proteica. Observou-se (Tabela 2) que os peixes alimentados com as rações extrudadas apresentaram as melhores respostas de ganho de peso, conversão alimentar e de eficiência proteica. Por outro lado, o consumo de ração por peixe e o rendimento de filé não variaram significativamente sob o efeito do método de processamento das rações. Não houve influência significativa, ainda, da interação dos níveis de substituição da proteína da soja pela proteína do farelo de algodão e o método de processamento das rações nos parâmetros de desempenho produtivo.

Os valores da composição do filé dos peixes submetidos aos diferentes tratamentos estão apresentados na Tabela 3. Observou-se que os níveis de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína do farelo de algodão das rações não modificaram a porcentagem de proteína, lipídeo, matéria mineral e de umidade do filé dos peixes. Contudo, o método de processamento da ração resultou em diferenças ( $p < 0,05$ ) em todos esses parâmetros para a composição do filé. Os peixes arraçados com as rações extrudadas apresentaram filés com maior porcentagem de proteína, gordura e material mineral e, ainda, menor porcentagem de umidade nos filés quando comparados aos peixes que receberam rações peletizadas. Não

houve efeito significativo na composição do filé pela interação entre os níveis de substituição da proteína do

farelo de soja pela proteína do farelo de algodão na ração e do seu método de processamento.

Tabela 2. Valores médios de ganho de peso por peixe (GPpx), consumo de ração por peixe, taxa de conversão alimentar aparente (CAA), taxa de eficiência protéica (TEP), rendimento de filé e taxa de sobrevivência de juvenis de tilápia do Nilo, alimentados com rações peletizadas e extrudadas contendo níveis crescentes de inclusão de farelo de algodão<sup>1</sup>

F. Algodão (%)	Processo	GPpx (g)	Consumo px (g)	CAA	TEP	Rendimento Filé (%)
0		114,22±40,32	137,07±18,77	1,33±0,47	2,19±0,56	24,38±2,56
8		105,89±32,79	129,14±22,80	1,29±0,34	2,20±0,50	23,99±3,60
16		98,66±28,58	126,73±18,30	1,34±0,29	2,08±0,42	23,52±3,54
32		104,92±30,28	133,45±19,37	1,32±0,23	2,09±0,34	23,94±2,94
	peletização	84,75±18,60 <sup>b</sup>	125,70±9,99	1,54±0,32 <sup>b</sup>	1,82±0,38 <sup>b</sup>	23,22±3,10
	extrusão	127,10±28,85 <sup>a</sup>	137,50±24,45	1,10±0,10 <sup>a</sup>	2,47±0,20 <sup>a</sup>	24,74±2,96
F. algodão		ns	ns	ns	ns	ns
	Processo	< 0,01	ns	< 0,01	< 0,01	ns
F. algodão	x Processo	ns	ns	ns	ns	ns

<sup>1</sup>Valores são médias ± desvio-padrão de doze repetições/tratamento.

Médias isentas ou seguidas de mesma letra, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

Tabela 3. Valores médios da composição do filé (expressos na matéria natural) de juvenis de tilápia do Nilo, alimentados com rações peletizadas e extrudadas contendo níveis crescentes de inclusão de farelo de algodão<sup>1</sup>

F. Algodão (%)	Processo	PB (%)	Lipídeo (%)	MM (%)	Umidade (%)
0		15,29±4,73	1,46±0,77	0,95±0,25	82,48±5,62
8		17,26±4,54	1,85±0,82	1,14±0,27	79,93±5,20
16		16,50±7,32	2,44±1,96	1,06±0,45	80,31±9,55
32		17,00±6,94	2,30±1,67	1,06±0,40	79,61±9,13
	peletização	12,51±3,39 <sup>b</sup>	1,03±0,37 <sup>b</sup>	0,83±0,23 <sup>b</sup>	85,73±4,04 <sup>a</sup>
	extrusão	20,52±4,54 <sup>a</sup>	2,99±1,30 <sup>a</sup>	1,28±0,27 <sup>a</sup>	75,44±5,89 <sup>b</sup>
F. algodão		ns	ns	ns	ns
	Processo	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
F. algodão	x Processo	ns	ns	ns	ns

<sup>1</sup>Valores são médias ± desvio-padrão de doze repetições/tratamento.

Médias isentas ou seguidas de mesma letra, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P>0,05).

Os valores médios de NE, Hb, Htc, VCM, CHCM e PPT estão apresentados na Tabela 4. Esses parâmetros hematológicos não foram significativamente afetados pelo método

de processamento da ração, nem pelo nível de inclusão de farelo de algodão nas rações ou, ainda, pela interação entre os fatores.

Tabela 4. Valores médios de número de eritrócitos (NE), taxa de hemoglobina (Hb), porcentagem de hematócrito (Htc), volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e proteína plasmática total (PPT) de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com rações peletizadas e extrudadas contendo níveis crescentes de inclusão de farelo de algodão<sup>1</sup>

F. Algodão (%)	Processo	NE (10 <sup>6</sup> /μL)	Hb (%)	Htc (%)	VCM (fL)	CHCM (%)	PPT (g/dL)
0		2,04±0,33	8,64±1,30	32,92±5,50	163,56±27,14	26,42±2,96	3,63±0,57
8		1,94±0,30	8,17±1,17	33,64±5,73	176,56±36,27	24,58±3,16	3,58±0,71
16		2,01±0,42	8,59±1,43	32,55±6,71	164,78±27,44	26,65±2,66	3,73±0,51
32		2,25±0,23	8,25±1,06	33,40±4,95	149,98±27,08	24,84±2,29	3,71±0,39
	peletização	1,98±0,35	8,06±1,16	31,33±4,41	161,76±27,21	25,81±2,57	3,53±0,57
	extrusão	2,12±0,32	8,75±1,22	34,67±6,11	166,00±32,84	25,55±3,15	3,77±0,51
F. algodão		ns	ns	ns	ns	ns	ns
	Processo	ns	ns	ns	ns	ns	ns
F. algodão	x Processo	ns	ns	ns	ns	ns	ns

<sup>1</sup> Valores são médias ± desvio-padrão de doze repetições/tratamento.

Os valores das concentrações de gossipol livre e gossipol total nos fígados de juvenis de tilápia do Nilo estão apresentados na Tabela 5. Não houve presença de gossipol livre no fígado dos peixes alimentados com as rações experimentais. As concentrações de gossipol total no fígado dos peixes foram baixas.

Não se verificou alteração no consumo das rações experimentais, mesmo com o aumento da inclusão do farelo de algodão. Isso demonstra que este ingrediente é tão palatável quanto o farelo de soja para esta espécie de peixe. A alta palatabilidade do farelo de algodão, pela tilápia do Nilo, se assemelha aos resultados descritos em pesquisas desenvolvidas com o bagre do

canal (*Ictalurus punctatus*) por Lim & Sessa (1995) e Barros et al. (2002).

O gossipol é um pigmento amarelo polifenólico encontrado naturalmente na planta do algodão. Na semente, o gossipol é encontrado em pequenas glândulas pigmentares e se apresenta na forma livre (ROBINSON & LI, 1995). A ligação do gossipol com nutrientes é importante, pois a forma livre é a forma tóxica (MARTIN, 1990). Durante o processamento o gossipol livre se liga à proteína, o que resulta na indisponibilidade dos aminoácidos. A forma ligada tem reduzida atividade biológica e geralmente é considerada inerte quando consumida por monogástricos. No farelo processado, o gossipol livre somado à forma ligada representa o gossipol total. Segundo

Martin (1990) e Lim & Sessa (1995), a quantidade de farelo de algodão que pode ser incluída na ração depende da quantidade de gossipol livre e da lisina disponível do ingrediente.

O farelo de algodão utilizado neste estudo não apresentou conteúdo em gossipol livre e, apresentou concentração baixa de

gossipol total, 4,62% de lisina/proteína e 67,81% de digestibilidade desse aminoácido. Por isso, as rações com níveis crescentes de inclusão de farelo de algodão foram suplementadas com lisina sintética, de forma a atender a exigência da espécie.

Tabela 5. Concentração de gossipol livre e gossipol total do fígado e filé (base na matéria natural) de tilápias do Nilo, alimentadas com rações peletizadas e extrudadas contendo níveis crescentes de inclusão de farelo de algodão<sup>1</sup>

F. algodão (%)	Processamento	Fígado		Filé	
		Gossipol (%)		Gossipol (%)	
		livre	total	livre	total
0	Peletização	0	0	0	0
8		0	0	0	0,003267
16		0	0,000494	0	0,001045
32		0	0,000584	0	0,001149
0	Extrusão	0	0	0	0
8		0	0,000269	0	0,001532
16		0	0,000193	0	0,001584
32		0	0,000452	0	0,001428

<sup>1</sup>Análise sem repetição.

Após 95 dias, a não detecção de diferenças nos parâmetros de desempenho produtivo dos peixes alimentados com essas rações, em comparação aos peixes alimentados com as rações à base de farelo de soja, demonstra que a tilápia do Nilo utiliza a proteína do farelo de algodão eficientemente, assim como os aminoácidos sintéticos suplementados na ração. Os resultados desta pesquisa confirmam os obtidos, com truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), por Blom et al. (2001) e Rinchar et al. (2003) quando substituíram completamente a farinha de peixe da dieta pelo farelo de algodão (0,62 e 0,02% de gossipol livre, respectivamente) e não observaram diferenças no crescimento e

sobrevivência dos peixes. Confirmam, ainda, os resultados obtidos com o bagre do canal, em trabalhos realizados por Robinson & Li (1995), nos quais o farelo de algodão substituiu 100,0% o farelo de soja nas rações, quando a lisina sintética foi suplementada, sem afetar o desempenho dos peixes.

Entretanto, os resultados dessa pesquisa contrariam os obtidos por Mbahinzireki et al. (2001), os quais observaram decréscimo no ganho de peso e 11,0% de mortalidade de juvenis de tilápia do Nilo alimentadas com rações que continha até 59,0% de farelo de algodão (0,99% de gossipol livre), suplementadas com lisina e metionina. Os autores identificaram o

gossipol como o principal fator limitante para a utilização desse ingrediente.

Barros et al. (2002) avaliaram níveis de inclusão desse alimento em rações para o bagre do canal e observaram que a substituição de 50% do farelo de soja pelo farelo de algodão, (27,5% de farelo de algodão e 0,03% de gossipol livre), proporcionou melhora significativa no ganho de peso e conversão alimentar dos peixes. A completa substituição da soja por 55% de farelo de algodão, com teor de 0,06% de gossipol livre na ração, causou detrimento no desempenho produtivo dos peixes.

Neste estudo, o principal fator limitante para não avaliar 100% de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína do farelo de algodão esteve relacionado à sua alta quantidade de fibra. O nível máximo de fibra dietética foi estipulado em torno de 6% para evitar as adversidades do excesso desse nutriente na ração. Rações com alta quantidade de fibra resultam em taxas de esvaziamento gástrico aceleradas (MEURER, 2003), as quais prejudicam o consumo e a utilização de nutrientes.

Os níveis determinados de gossipol livre e de sua forma conjugada, no presente estudo foram inferiores aos relatados por Martin (1990), segundo o qual a quantidade de gossipol livre depende da variedade da planta, da localidade e da técnica de processamento. O aumento na produção de algodão junto à melhoria nos métodos de processamento tem produzido farelos com menor quantidade de gossipol (WALDROUP & KERSEY, 2002). Somado a isso, a seleção genética tem proporcionado o desenvolvimento de sementes sem glândulas pigmentares, o que tem possibilitado a produção de farelos isentos em gossipol (LUO et al., 2006).

As rações extrudadas proporcionaram melhor desempenho produtivo se comparadas às rações peletizadas.

Também, as rações extrudadas proporcionaram ganho de peso 50% maior, conversão alimentar 40% melhor e aumento de 36% na taxa de eficiência proteica. O uso de até 32% de farelo de algodão na formulação dessas rações, não prejudicou a expansão, flutuabilidade e estabilidade na água.

A extrusão possibilita modificar as propriedades funcionais dos ingredientes de origem vegetal e alterar sua textura, o que melhora a digestibilidade da proteína e do amido e inativa vários antinutricionais (BOOTH et al., 2002). Entretanto, existem citações contraditórias correlacionadas à digestibilidade da proteína pela extrusão. Booth et al. (2002) relataram que o processamento não melhorou significativamente a digestibilidade do nitrogênio. Contudo, no presente estudo (Tabela 3) a taxa de eficiência proteica foi 40% maior pelos peixes alimentados com rações extrudadas. Isso infere que o aumento no valor nutricional da proteína foi proporcionado pela extrusão.

A avaliação macroscópica do fígado e do intestino revelou que a forma, a cor e consistência dos órgãos estavam normais. A análise histológica do fígado e das porções anterior e posterior do intestino não apresentou alterações teciduais no padrão histológico do grupo de peixes alimentados com a ração isenta de farelo de algodão comparado aos peixes alimentados com as rações que continham níveis crescentes desse ingrediente.

Os peixes alimentados com ração que continha farelo de algodão apresentaram pequena retenção de gossipol total no fígado, sendo ausente a sua forma livre. Esse fato pode ser devido à ausência de gossipol livre nesse ingrediente e à baixa concentração em gossipol total. O nível máximo do gossipol livre no tecido muscular recomendado

para consumo humano é de 0,06% (MILNER, 1965), porém no presente estudo, nem mesmo a concentração de gossipol total no fígado alcançou esse valor limitante.

Resultados similares foram relatados por Barros et al. (2002), os quais concluíram que a inclusão de 24% de farelo de algodão em rações para carpa *Cyprinus carpio* revelou normalidade e integridade celular do fígado. O mesmo foi descrito por Cai et al. (2010) para tecido hepático e intestinal de silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio* x *Cyprinus carpio*) alimentadas com ração que continha farelo de algodão ou gossipol livre.

O gossipol livre forma forte complexo com o ferro no trato intestinal o que impede a absorção do mineral (WALDROUP & KERSEY, 2002). A baixa absorção de ferro pode causar anemia, com valores abaixo da faixa de normalidade para a taxa de hemoglobina e porcentagem hematócrito. A toxicidade do gossipol inclui, ainda, a geração de metabólitos de oxigênio, como os radicais livres superóxido e peróxido de hidrogênio, os quais podem destruir a integridade da membrana do eritrócito e resultar em maior fragilidade de membrana, o que pode causar um quadro de hemorragia (RINCHARD et al., 2003). Dessa forma, a avaliação hematológica é de fundamental importância para averiguação do estado fisiológico e de saúde do animal.

O resultado das análises hematológicas, dos peixes do grupo controle ao final do período experimental, demonstrou que todos os parâmetros sanguíneos estão dentro do intervalo normal para juvenis dessa espécie (WEISS & WARDROP, 2010), e ainda, de acordo com estudos prévios realizados nas mesmas condições experimentais (FERNADES JUNIOR et al., 2010; TEIXEIRA et al., 2011). Não houve

diferença significativa nos parâmetros hematológicos dos peixes alimentados com farelo de algodão nas rações comparado ao grupo controle, o que demonstra bom estado fisiológico desses peixes em crescimento. O farelo de algodão não prejudicou a absorção de ferro no intestino nem danificou a integridade da membrana dos eritrócitos, sem consequências patológicas ao organismo.

Respostas similares foram descritas por Barros et al. (2002) para bagres do canal alimentados com rações com até 55% de farelo de algodão, o que representou teor em gossipol livre de 0,0671%. Os valores sanguíneos se encontraram dentro da faixa normal para a espécie e não diferiram do tratamento isento em farelo de algodão. Igualmente, Cai et al. (2010) não relataram alterações na resposta hemática de *silver crucian carp* nem com a inclusão de farelo de algodão e nem com gossipol livre nas rações.

Resultados contrastantes foram descritos por Blom et al. (2001), os quais observaram decréscimo da taxa de hemoglobina e da porcentagem de hematócrito de fêmeas de truta, à medida que se aumentou a inclusão de farelo de algodão (0,14% gossipol livre) nas rações. Alterações deletérias na eritropoiese foram igualmente descritas por Garcia-Abiado et al. (2004) para a taxa de hemoglobina e porcentagem de hematócrito de tilápias do Nilo alimentadas com rações contendo de 25 a 100% de substituição da farinha de peixe pelo farelo de algodão. Também, evidenciaram a presença de eritrócitos imaturos e anormais em peixes alimentados com farelo de algodão (0,026% gossipol livre) na ração. A utilização de farelo de algodão sem a suplementação de ferro resultou igualmente em alterações na porcentagem de hematócrito para *parrot*

fish (*Oplegnathus fasciatus*) e, a suplementação determinou melhores respostas fisiológicas por evitar ainda a absorção do gossipol (LIM & LEE, 2009).

A total substituição do farelo de soja pelo farelo de algodão (46,74mg gossipol livre/kg dieta) determinou prejuízo na eritropoiese e leucopoiese de tilápias do Nilo, portanto recomendada a substituição de até 41,25% deste farelo (75% da proteína do farelo de soja) em dietas para a espécie (EL-SAYID & SAAD, 2011). Resultados similares foram apresentados por Dabrowski et al. (2001) com truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) sendo que a substituição total da proteína do farelo de soja pela do farelo de algodão (9549µg/g gossipol total) prejudicou a eritropoiese e a proteína plasmática total. O farelo de algodão (0% de gossipol livre) pode compor 32,0% da ração para tilápia do Nilo, substituir em 50,0% a proteína do farelo de soja quando suplementado com lisina, sem afetar o desempenho, hematologia e morfologia intestinal dos animais em crescimento.

## REFERÊNCIAS

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY - AOCS. **Official methods and recommended practices**. 6.ed. Champaign, IL, 2009.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists International. **Official methods of analysis**. 18.ed. Gaithersburg, Maryland, USA, 2006.

BANCROFT, J.D.; STEVENS, A.; TURNER, D.R. **Theory and practice of histological techniques**. 3.ed. Churchill Livingstone, 1990, 726p.

BARROS, M.M.; LIM, C.; KLESIUS, P.H. Effect of soybean meal replacement by cottonseed meal and iron supplementation on growth, immune response and resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsiella ictaluri* challenge. **Aquaculture**, v.207, p.263-79, 2002.

BLOM, J.H.; LEE, K.J.; RINCHARD, J.; DABROWSKI, K.; OTTOBRE, J. Reproductive efficiency and maternal-offspring transfer of gossypol in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing cottonseed meal. **Journal of Animal Science**, v.79, p.1533-9, 2001.

BOYD, C.E. **Water quality: an introduction**. Norwell Massachusetts: Kluwer Academic Publishers, 2000.

BOOTH, M.A.; ALLAN, G.L.; EVANS, A.J.; GLEESON, V.P.. Effects os steam pelleting or extrusion on digestibility and performance of silver perch *Bidyanus bidyanus*. **Aquaculture Research**, v.33, p.1163-1173, 2002.

BUTOLO, J.E. **Qualidade de ingredientes na alimentação animal**. Campinas, Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 430 p., 2010.

CAI, C.; LI, E.; YE, Y.; KROGDAHL, A.; JIANG, G.; WANG, Y.; CHEN, L. Effect of dietary graded levels of cottonseed meal and gossypol on growth performance, body composition and health aspects of allogynogenetic silver crucian carp, *Carassius auratus gibelio* x *Cyprinus carpio*. **Aquaculture Nutrition**, v.17, n.4, p.353-360, 2011.

CUI, G.H.; CHUN, J.C.; CAI, D.Y. Determination of gossypol in cotton root bark by HPLC. **Zhongguo Zhong Yao Za Zhi**, v.7, p.173-175, 2002.

DABROWSKI, K.; LEE, K.J.; RINCHARD, J.; CIERESZKO, A.; BLOM, J.H.; OTTOBRE, J.S. Gossypol isomers bind specifically to blood plasma proteins and spermatozoa of rainbow trout fed diets containing cottonseed meal. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1525, p.37-42, 2001.

EL-SAYID, D.M.S.D.; GABER, M.M. Use of cottonseed meal supplemented with iron for detoxication of gossypol as a total replacement of fish meal in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture Research**, v.35, p.859-865, 2004.

EL-SAYID, M.S.D.; SAAD, A.S. Effects of partial and complete replacement of soybean meal with cottonseed meal on growth, feed utilization and haematological indexes for mono-sex male Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings. **Aquaculture Research**, v.42, p.351-359, 2011.

FERNANDES JÚNIOR, A.C.; PEZZATO, L.E.; GUIMARÃES, I.G.; TEIXEIRA, C.P.; KOCH, J.F.A.; BARROS, M.M.. Resposta hemática de tilápias-do-nilo alimentadas com dietas suplementadas com colina e submetidas a estímulo por baixa temperatura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.1619-1625, 2010.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **Fisheries Department, Fishery Information, Data and Statistics Unit, Fishstat Plus: Vers, 2**. FAO, Rome, Italy. Available at <http://www.fao.org/fi/statist/FISOFT/FI SHPLUS.asp>, 2007.

FURUYA, W.M.; SANTOS, V.G.; SILVA, L.C.R.; FURUYA, V.R.B.; SAKAGUTI, E.S. Exigências de lisina digestível para juvenis de tilápia-do-Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.937-942, 2006.

GARCIA-ABIADO, M.A.; MBAHINZIREKI, G.; RINCHARD, J.; LEE, K.J.; DABROWSKI, K. Effect of diets containing gossypol on blood parameters and spleen structure in tilapia, *Oreochromis sp.*, reared in a recirculating system. **Journal of Fish Diseases**, v.27, p.359-368, 2004.

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

LIM, S.J.; LEE, K.J. Partial replacement of fish meal by cottonseed meal and soybean meal with iron and phytase supplementation for parrot fish *Oplegnathus fasciatus*. **Aquaculture**, v.290, p.283-289, 2009.

LIM, C.; SESSA, D.J. **Nutrition and utilization technology in aquaculture**. Peoria Illinois: AOCS Press, 1995. 294p.

LUO, L.; XUE, M.; WU, X.; CAI, X.; CAO, H.; LIANG, Y. Partial or total replacement of fishmeal by solvent-extracted cottonseed meal in diets for juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture Nutrition**, v.12, p.418-424, 2006.

MARTIN, S.D. Gossypol effects in animal feeding can be controlled. **Feedstuffs**, v.62, p.14-7, 1990.

MBAHINZIREKI, G.B.;  
DABROWSKI, K.; LEE, K.; WISNER,  
E.R. Growth, feed utilization and body  
composition of tilapia (*Oreochromis sp*)  
fed with cottonseed meal-based diets in  
a recirculating system. **Aquaculture  
Nutrition**, v.7, p.189-200, 2001.

MEURER, F.; HAYASHI, C.;  
BOSCOLO, W.R. Fibra bruta para  
alevinos de tilápia do Nilo  
(*Oreochromis niloticus*, L.). **Revista  
Brasileira de Zootecnia**, v.32, p.256-  
261, 2003.

MILNER, M. **Cottonseed protein  
concentrates. Protein advisory group  
news bulletin**. Rome, Italy: World  
Health Organization, United Nations  
Children's Emergency Fund, Food and  
Agriculture Organization, 1965. p.68-  
73.

MONTGOMERY, D.C. **Design and  
analyses of experiments**. 3ed. New  
York: John Wiley, 1991. 649p.

RAMOS, R.C.; HARVEY, S.C.;  
McANDREW, B.J.; PENMAN, D.J. Na  
investigation of sex determination in the  
Mozambique tilapia, *Oreochromis  
mossambicus*, using synaptonemal  
complex analysis, FISH, sex reversal  
and gynogenesis. **Aquaculture**, v.221,  
p.125-140, 2003.

RINCHARD, J.; LEE, J.K.;  
DABROWSKI, K.; CIERESZKO, A.;  
BLOM, J.H.; OTTOBRE, J.S. Influence  
of gossypol from cottonseed meal on  
haematology, reproductive steroids and  
tissue gossypol enantiomer  
concentrations in male rainbow trout  
(*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture  
Nutrition**, v.9, p.275-82, 2003.

ROBINSON, E.H.; LI, M.H. Use of  
cottonseed meal in aquaculture feeds.  
In: LIM, C., SESSA, D.J. **Nutrition  
and utilization technology in  
aquaculture**. Champaign: AOCS Press,  
p.157-165, 1995.

TEIXEIRA, C.P.; BARROS, M.M.;  
PEZZATO, L.E.; FERNANDES  
JUNIOR, A.C.; KOCH, J.F.A.;  
PADOVANI, C.R. Growth performance  
of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*,  
fed diets containing levels of pyridoxine  
and haematological response under heat  
stress. **Aquaculture Research**,  
doi:10.1111/j.1365-2109.2011.02911.x,  
2011.

WALDROUP, P.W.; KERSEY, J.H.  
Nutrient composition of cottonseed  
meal surveyed. **Feedstuffs**, v.4, p.11-2,  
2002.

WEISS, D.J.; WARDROP, K.J.  
**Schalm's Veterinary Haematology**.  
6.ed. Iowa, USA: Blackwell Publishing,  
2010. 1880p.

YUE, Y.R.; ZHOU, Q.C. Effect of  
replacing soybean meal with cottonseed  
meal on growth, feed utilization, and  
hematological indexes for juvenile  
hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x  
*O. aureus*. **Aquaculture**, v.284, p.185-  
189, 2008.

Data de recebimento: 10/03/2011

Data de aprovação: 02/09/2011