

Farinha de sangue tostada em dietas práticas para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.)

Margarida Maria Barros^{1*}, Luiz Edivaldo Pezzato¹, Hamilton Hisano², Dario Rocha Falcon³ e Marcelo Vinicius do Carmo e Sá²

¹Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, FMVZ, Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Botucatu, C.P. 560, 18618-000, Botucatu, São Paulo, Brasil. ²Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, FMVZ, Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Botucatu, C.P. 560, 18618-000, Botucatu, São Paulo, Brasil. ³Programa de Pós-Graduação em Aqüicultura, Caunesp, Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Jaboticabal, C.P. 560, 18618-000, Jaboticabal, São Paulo, Brasil.
*Autor para correspondência. e-mail: mbarros@fca.unesp.br

RESUMO. Os efeitos da substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da farinha de sangue no desempenho produtivo e parâmetros hematológicos da tilápia do Nilo foram avaliados após 15 semanas experimentais. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, apresentando 4 tratamentos (0%; 10%; 30% e 60% de substituição) e 8 repetições. A estrutura constou de 32 aquários de 200L, com biofiltro, termostato e aquecedores. A temperatura foi mantida a $25,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$. Foram distribuídos 128 alevinos, peso médio inicial de $6,00 \pm 0,39\text{g}$, em uma lotação de 4 peixes/aquário. Avaliaram-se o ganho médio de peso, conversão alimentar aparente, sobrevivência, eritrócitos, leucócitos, hemoglobina, hematócitos, proteína plasmática total, ferro sérico, aspectos macroscópicos do fígado, concentração de ferro no músculo e fígado. A farinha de sangue não substituiu totalmente o farelo de soja em rações para tilápia do Nilo; valores até 10,0% de farinha de sangue podem ser considerados; a farinha de sangue não determinou efeitos adversos nos parâmetros hematológicos e as concentrações de ferro do fígado e filé são responsivas à concentração de ferro da ração.

Palavras-chave: farinha de sangue, farelo de soja, rações, *Oreochromis niloticus*, hematologia.

ABSTRACT. Blood meal on practical diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). The effects of soybean meal protein replaced by blood meal protein on growth performance and hematological parameters of Nile tilapia were analyzed after 15 experimental weeks. The experimental design was completely randomized with four treatments (0%; 10%; 30% e 60% of replacement) and eight replicates. 128 fingerlings ($6.00 \pm 0.39\text{g}$ initial weight) were randomly stocked into 32 200L aquaria at a density of 4 fish/aquarium. Aquaria were supplied with biofilter and heater, which kept the temperature at $25.0 \pm 2.0^\circ\text{C}$. At the end of experiment were evaluated the average weight gain, feed conversion ratio, percentage of survival, red blood cell count, white blood cell count, concentration of hemoglobin, percentage of hematocrit, total plasmatic protein, serum iron, liver characteristics, liver and muscle iron. Blood meal did not totally replace soybean meal in Nile tilapia feed; replacement until 10.0% can be considered; blood meal did not determined undesirable effects on hematological parameters and liver and filet iron concentration are responsive to the feed iron concentration.

Key words: blood meal, soybean meal, diets, *Oreochromis niloticus*, hematology.

Introdução

Na última década, houve acréscimo significativo na produção de rações no Brasil, partindo de 38,8 milhões de toneladas, no ano de 2001, para estimados 43,8 milhões de toneladas, em 2003. A produção nacional, para a aqüicultura, foi de 162,0 mil toneladas, no ano de 2001, calculando-se a produção de 247,5 mil toneladas para 2003. Isso representa um aumento aproximado de 53%. Para que as fábricas de rações consigam atender à demanda, é necessário que

haja grande disponibilidade de ingredientes alimentares, havendo escassez de ingredientes sucedâneos ao milho e farelo de soja.

Para minimizar os custos de alimentação da tilápia e de outras espécies de peixes cultivadas, tem-se pesquisado o uso de subprodutos agro-industriais como substitutos de fontes protéicas mais onerosas (Shiau *et al.*, 1990; Steffens, 1994). Por razões econômicas e práticas, as fontes de proteína das dietas animais devem estar disponíveis localmente e preferencialmente serem inadequadas para o consumo

humano (Jackson *et al.*, 1982). Segundo Barbosa *et al.* (1983), o aumento da demanda de soja, para alimentação humana, poderá ocasionar diminuição na oferta dessa leguminosa à alimentação animal. Dentre os ingredientes disponíveis, a farinha de sangue é uma possível alternativa para substituição do farelo de soja.

A farinha de sangue é um subproduto de origem animal, resultante da desidratação, cozimento e moagem de sangue fresco (Bellaver, 2001). Foi estabelecido, pela legislação brasileira e indústrias de rações, um padrão mínimo de 80% de proteína bruta para farinha de sangue. No entanto, a maioria dos produtos encontrados no mercado nacional apresenta níveis entre 70% e 72% de proteína bruta (Kubtiza, 1998).

Embora a farinha de sangue apresente alto valor de proteína bruta, existe grande variação na sua digestibilidade, a qual é dependente do processo utilizado na fabricação do ingrediente, em função da quantidade de calor aplicado e do tempo de duração do aquecimento (Grant e Haddad, 1998).

Os efeitos dos processos de secagem em tambor rotativo, utilizado para obtenção das farinhas de sangue convencional ou *spray-dried*, podem ser melhor observados por meio dos resultados apresentados por Sampaio *et al.* (2001). Trabalhando com juvenis de tilápia do Nilo, estes autores avaliaram a digestibilidade aparente da proteína de diferentes farinhas de sangue, obtidas pelos dois métodos citados, obtendo valores de 57,69% e 97,33% para o sistema comum e *spray-dry*, respectivamente.

Bureau *et al.* (1999) avaliaram a digestibilidade aparente de 20 ingredientes protéicos de origem animal para truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), observando que as farinhas de sangue, tostadas em chapa quente, apresentaram coeficientes de digestibilidade aparente significativamente menores que os verificados para as farinhas de sangue *spray-dried*, evidenciando os prejuízos causados pelo calor na digestibilidade da proteína da farinha de sangue.

Destaca-se, como característica positiva da farinha de sangue, o alto nível de lisina, e como restritivas, o baixo nível de metionina e o alto nível de ferro. A lisina, embora abundante na farinha de sangue, é um dos aminoácidos mais sensíveis ao aquecimento, podendo ser destruído ou tornar-se indisponível aos animais. Segundo Ockerman e Hansen (1988), citados por Lu e Chen (2000), o conteúdo de lisina, da farinha de sangue de aves, varia com o método de secagem utilizado, sendo de 100 a 200g/kg, para a *spray-dried*, e 60 a 80g/kg, para a farinha convencional.

Pezzato (1995) relatou que, além da baixa digestibilidade da proteína bruta, outro fator limitante para a utilização da farinha de sangue é o excesso de ferro. Segundo o NRC (1993), a farinha de sangue

desidratada pelo sistema *spray-dry* apresenta, em sua composição, 2.769mg de ferro/kg. Conclui-se quando se observam os valores de exigência dietética de ferro para algumas espécies de peixes, como para o bagre do canal (*Ictalurus punctatus*) (30mg Fe/kg), truta arco-íris (60mg Fe/kg), carpa comum (*Cyprinus carpio*) (150mg Fe/kg) (NRC, 1993) e tilápia do Nilo (60mg/kg) (Kleemann, 2002), que a concentração de ferro na farinha de sangue é muito elevada.

Otubusin (1987) avaliou a farinha de sangue como substituto da farinha de peixe para alevinos de tilápia do Nilo, cultivados em gaiolas durante 120 dias. O referido autor observou que níveis de substituição acima de 50% resultaram em redução significativa no crescimento dos peixes, enquanto que o nível de 10% foi o mais eficiente.

Já o potencial do farelo de soja, em combinação com a farinha de sangue (10% da dieta) e o glúten de milho, como substitutos da farinha de peixe, em dietas para o linguado japonês (*Paralichthys olivaceus*), foi avaliado por Kikuchi (1999). Em seu estudo, observou que a farinha de sangue, em combinação com o farelo de soja, produziu melhores resultados que o glúten de milho, em combinação com o farelo de soja. O autor ressalta que pelos resultados das análises hematológicas e hemat químicas realizadas, nenhuma das dietas testadas produziram efeitos adversos na saúde dos peixes.

Embora a indústria de nutrição animal venha utilizando, normalmente, a farinha de sangue na fabricação de rações balanceadas, poucas são as informações disponíveis sobre o nível adequado de inclusão de farinha de sangue em rações para peixes, principalmente relacionadas a outros parâmetros que não de desempenho produtivo, como, por exemplo, os hematológicos. Dessa forma, o presente estudo teve por objetivo avaliar a substituição gradual da proteína do farelo de soja pela proteína da farinha de sangue tostada, em dietas práticas para tilápia do Nilo por meio da observação de variáveis de desempenho produtivo e hematológicas.

Material e métodos

A pesquisa foi desenvolvida por um período de 15 semanas, no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos - AquaNutri - da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Unesp, Campus de Botucatu, unidade integrada ao Centro de Aquicultura da Unesp, Estado de São Paulo.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, apresentando 4 tratamentos e 8 repetições. Os tratamentos se constituíram de 4 níveis de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da farinha de sangue (0%; 10%; 30% e 60%), em dietas práticas para a tilápia do Nilo.

A estrutura experimental foi formada por 32 caixas de 250L, dotados de biofiltro comum para

manutenção da qualidade físico-química da água. A temperatura da água foi controlada por termostato e aquecedores individuais, sendo mantida a $25,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$. Essa faixa de temperatura é considerada como de conforto térmico para a espécie em estudo. Foi realizada distribuição aleatória de 128 alevinos de tilápia do Nilo, revertidos sexualmente, com peso médio inicial de $8,0 \pm 0,4\text{g}$, perfazendo uma lotação de quatro peixes/caixa.

Semanalmente, efetuou-se o monitoramento da qualidade da água, observando-se a concentração de oxigênio dissolvido, pH e amônia. Para a retirada de eventuais sobras de rações e acúmulo de fezes, foram realizadas sifonagens periódicas dos aquários, fazendo-se, quando necessário, a limpeza dos mesmos.

Elaborou-se uma dieta de referência, à base de farelo de soja, contendo 33% de proteína bruta e 3000 kcal de energia digestível/kg. Às demais rações foram incluídas 3,67%; 11% e 22% de farinha de sangue, o que significou a substituição de 10%; 30% e 60% da proteína do farelo de soja pela proteína da farinha de sangue, mantendo-se constantes os níveis de proteína bruta e energia digestível (Tabela 1). As rações foram oferecidas diariamente nos horários de 8h30min. 11h30min. 14h30min. e 17h30min. *ad libitum*, objetivando-se atingir a saciedade aparente.

No preparo das rações, os alimentos utilizados foram padronizados por meio de moagem e peneiramento (0,46mm de abertura de malha). Os ingredientes alimentares foram homogeneizados em misturador automático, sendo a mistura peletizada com a adição de 50% de água ($50 \pm 5^\circ\text{C}$) e seca em estufa com circulação de ar forçado, a 55°C , por 24 horas. Posteriormente, realizou-se o fracionamento dos grânulos em moinho de disco, adequando-os ao tamanho dos peixes. A composição químico-bromatológica das dietas foi determinada segundo a AOAC (1990).

Tabela 1. Composição percentual e químico-bromatológica das dietas experimentais.

Ingrediente	Nível de substituição ¹ (%)			
	0,0	10,0	30,0	60,0
Farelo de soja	65,80	58,20	41,50	16,60
Farinha de sangue	-	3,67	11,00	22,00
Fubá de milho	17,53	18,36	16,53	15,50
Farelo de trigo	10,00	13,10	24,30	40,10
DL-metionina	0,35	0,35	0,35	0,25
Óleo de soja	1,70	1,70	1,70	0,93
Fosfato bicálcico	3,90	3,90	3,90	3,90
Suplemento vitamínico e mineral ²	0,50	0,50	0,50	0,50
Sal comum	0,20	0,20	0,20	0,20
BHT (antioxidante)	0,02	0,02	0,02	0,02
Composição químico-bromatológica calculada				
Proteína bruta (%)	33,04	33,12	33,06	33,03
Proteína digestível (%)	30,00	29,09	26,57	22,86
Energia digestível (kcal/kg) ³	3,000	3,057	3,054	3,013
Extrato etéreo (%)	3,53	3,58	3,69	3,13
Fibra bruta (%)	5,13	4,99	5,00	4,96

¹ Percentual de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da farinha de sangue; ² Níveis de garantia por quilograma do produto: Vit. A=1.200.000UI; Vit. D₃=200.000UI; Vit. E=12.000mg; Vit. K3=2.400mg; Vit. B1=4.800mg; Vit.

B2=4.800mg; Vit. B6=4.000mg; Vit. B12=4.800mg; Ác. Fólico=1.200mg; Pantotenato Ca=12.000mg; Vit. C=48.000mg; Biotina=48mg; Colina=65.000mg; Niacina=24.000mg; Ferro=10.000mg; Cobre=6.000mg; Manganês=4.000mg; Zinco=6.000mg; Iodo=20mg; Cobalto=2mg; Selênio=20mg; ³ Cálculos realizados com base nos valores de energia e proteína digestível dos seguintes alimentos: farelo de soja, glúten de milho, milho e farelo de trigo (Pezzato *et al.*, 2002).

No início e no final do período experimental, os peixes foram pesados para a avaliação do ganho de peso, quantificando-se o consumo de ração para determinação da conversão alimentar aparente. Foram retirados 3 peixes de cada caixa (12 por tratamento), para avaliação macroscópica do fígado desses animais. Após esse procedimento, determinou-se a concentração de ferro, no fígado e filés dos peixes, por espectrofotometria de absorção atômica por chama (Shimadzu AA-6800).

Para a realização das análises hematológicas, utilizou-se, ao final do período experimental, 11 peixes/tratamento, aleatoriamente escolhidos. Inicialmente os peixes foram sedados com solução de benzocaina (1g/15L de água). Em seguida, após a dessensibilização dos animais, realizou-se a coleta de sangue por punção da veia caudal, com seringas de 1mL, banhadas com anticoagulante EDTA a 3%.

A contagem do número de eritrócitos foi realizada pelo método do hemocitômetro, em câmara de Neubauer, utilizando-se azul de toluidina (Merck[®]) a 0,01%, diluído em solução fisiológica 0,9%, com pipeta de Thoma, na proporção 1:200. A concentração de hemoglobina foi determinada pelo método da cianometahemoglobina, utilizando-se kit comercial para determinação colorimétrica (Analisa Diagnóstica[®]). O hematócrito foi obtido utilizando-se o método do microhematócrito (Jain, 1986). Foram determinados os índices hematimétricos volume globular médio (VGM) e concentração de hemoglobina globular média (CHGM), que são úteis na classificação morfológica das anemias e na avaliação da resposta eritropoiética.

As amostras de sangue foram centrifugadas a 5000 rpm, durante cinco minutos, para obtenção do soro, que foi armazenado a -20°C para posterior quantificação de ferro. Essa análise foi feita pelo método colorimétrico de Goodwin modificado (Goodwin *et al.*, 1966), utilizando-se kit comercial (Analisa Diagnóstica[®]).

Os resultados foram submetidos à análise de variância no nível de 5,00% de significância, e análise de regressão polinomial quando significativo, utilizando o programa estatístico Saeg - Sistema de análises estatísticas e genéticas (Universidade Federal de Viçosa, 1997).

Resultados e discussão

Qualidade da água

As variáveis de qualidade de água monitoradas se mantiveram dentro da faixa de conforto para a tilápia do Nilo, com valores médios de temperatura, oxigênio

dissolvido e pH de $25,1 \pm 1,3^\circ\text{C}$; $5,3 \pm 0,3\text{mg/L}$ e $6,8 \pm 0,5$, respectivamente. Com base nesses valores, infere-se que não houve interferência dos fatores de qualidade de água analisados sobre os indicadores experimentais avaliados no presente trabalho.

Desempenho produtivo

Os valores médios de ganho em peso, conversão alimentar aparente e porcentagem de sobrevivência estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Ganho em peso, conversão alimentar e sobrevivência de alevinos de tilápia do Nilo alimentados, por 15 semanas, com dietas contendo diferentes níveis de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da farinha de sangue (média $\pm$ d.p.).

Nível de substituição ¹ (%)	Ganho de peso (g) ²	Conversão alimentar	Sobrevivência (%)
0	$78,80 \pm 5,77$	$1,75 \pm 0,12$	100,00
10	$78,47 \pm 12,54$	$1,81 \pm 0,36$	$95,83 \pm 11,79$
30	$74,33 \pm 8,93$	$1,85 \pm 0,36$	100,00
60	$60,20 \pm 6,75$	$2,04 \pm 0,37$	100,00

¹ Percentual de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da farinha de sangue; ² Efeito linear ($p < 0,05$) $y = 80,9078 - 0,3183244 x$ ($r^2 = 0,92$).

A análise de variância para experimentos inteiramente casualizado demonstrou efeito significativo para ganho de peso e que os efeitos são dependentes. Aumentando-se a inclusão de farinha de sangue na dieta ocorreu queda significativa no ganho em peso dos peixes. Em função dos tratamentos serem quantitativos, aplicou-se a análise de regressão polinomial sobre os resultados de ganho de peso. A regressão linear obtida foi significativa ($p < 0,05$), indicando que é possível estabelecer uma relação funcional entre o nível de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da farinha de sangue e o ganho de peso da tilápia. Determinou-se a seguinte equação de regressão para ganho de peso.

Não houve efeito significativo do nível de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da farinha de sangue sobre a conversão alimentar dos peixes. Entretanto, aplicando-se o índice relativo de comparação, observou-se que a conversão alimentar aparente média piorou em 8,6% para os tratamentos com farinha de sangue em relação à dieta sem farinha de sangue. A sobrevivência dos animais não foi afetada pelo nível de substituição do farelo de soja nas rações.

Avaliando-se conjuntamente o ganho em peso e a conversão alimentar aparente, observa-se coerência entre os dados. O ganho de peso diminui com o aumento do nível substituição da proteína vegetal, refletindo na conversão alimentar aparente.

O pior desempenho produtivo dos peixes alimentados com as dietas com farinha de sangue pode ser explicado pela baixa digestibilidade e pelo desbalanço de aminoácidos da farinha de sangue (Miller, 1993). Ainda que o nível de energia das rações tenha sido equivalente, a proteína digestível dos tratamentos em que se incluiu farinha de sangue

foi, em média, 14% menor.

De Silva e Anderson (1995) advertiu para as consequências negativas do uso da farinha de sangue por conta do desbalanço de aminoácidos específicos, como é o caso do antagonismo entre leucina/isoleucina. Este autor descreve que a farinha de sangue é rica em valina, leucina e histidina, mas deficiente em metionina e isoleucina. Dessa forma, animais alimentados com dietas que contenham altos níveis de farinha de sangue podem apresentar deficiência de isoleucina causada pelo excesso de leucina. Entretanto, Luzier *et al.* (1995), citados por Yousif *et al.* (1996), afirmaram que a farinha de sangue convencional, em função da baixa qualidade nutricional e da menor disponibilidade de lisina, não é normalmente utilizada em dietas para peixes, não sendo recomendada em níveis maiores que 10% - 15%.

Tacon *et al.* (1983) observaram, em um experimento de seis semanas, que o uso de farinha de carne e ossos e farinha de sangue, na proporção de 4:1, respectivamente, com suplementação em metionina, substituiu, com sucesso, mais de 50% da farinha de peixe, em dietas para alevinos de tilápia do Nilo. Embora as dietas utilizadas no presente estudo também tenham sido suplementadas com metionina, os resultados obtidos foram divergentes dos encontrados por Tacon *et al.* (1983). Isso pode ter ocorrido não só em função dos diferentes níveis de inclusão de farinha de sangue nas dietas, mas também como consequência do maior período experimental do presente trabalho (15 semanas).

Otubusin (1987) investigou a possibilidade de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da farinha de sangue, em dietas para alevinos de tilápia do Nilo, cultivados em gaiolas. Em seu estudo, observou-se, após 120 dias, que os níveis de substituição acima de 50% resultaram em redução significativa no crescimento dos peixes, enquanto que o nível de 10% foi o mais eficiente. Além disso, a inclusão de 11% de farinha de sangue na dieta, em substituição a 30% da proteína do farelo de soja, determinou crescimento 5,67% inferior, quando comparado com a ração controle (sem farinha de peixe). Finalmente, a substituição de 60% da proteína do farelo de soja, pela proteína da farinha de sangue, ou seja, uma inclusão de 22% de farinha de sangue na dieta, determinou queda de 23,6% no ganho de peso dos animais.

Yousif *et al.* (1996) também obtiveram resultados negativos com o uso de grandes proporções de farinha de sangue em dietas para alevinos de tilápia azul (*Oreochromis aureus*). Em seu trabalho, os autores avaliaram a substituição completa da farinha de peixe da dieta por farinha de subprodutos de aves e por farinha de sangue. Observaram que as menores taxas de crescimento e eficiência alimentar ($p < 0,05$) foram obtidas para os peixes alimentados com as dietas em

que a farinha de peixe foi completamente substituída pela farinha de sangue. A pior utilização das dietas com farinha de sangue, pelos alevinos dessa espécie, foi atribuída ao processamento inadequado desse ingrediente.

Os dados de desempenho produtivo (ganho de peso, conversão alimentar aparente e sobrevivência) que foram obtidos neste trabalho demonstraram que a farinha de sangue não pode substituir totalmente o farelo de soja em rações para tilápia do Nilo, sem prejuízo zootécnico. Entretanto, níveis de inclusão de farinha de sangue até 10% podem ser considerados, uma vez que não afetaram significativamente o desempenho dos peixes estudados.

Parâmetros hematológicos

Os valores médios da contagem de eritrócitos e leucócitos, da concentração de hemoglobina, hemoglobina globular média e proteína plasmática total; da porcentagem de hematócrito e do volume globular médio, de alevinos de tilápia do Nilo alimentados, por 15 semanas, com dietas contendo diferentes níveis de substituição da proteína do farelo de soja, pela proteína da farinha de sangue, estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Contagem de eritrócitos (Erit), concentração de hemoglobina (Hb), hematócrito (Htc), volume globular médio (VGM), concentração de hemoglobina globular média (CHGM), n° de leucócitos (Leuc) e concentração de proteína plasmática total (PPT) de alevinos de tilápia do Nilo alimentados, por 15 semanas, com dietas contendo diferentes níveis de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da farinha de sangue.

Nível de substituição ¹ (%)	Erit (10 ⁶ /μL)	Hb (g/dL)	Htc (%)	VGM ² (fL)	CHGM ³ (%)	Leuc (10 ³)	PPT (mg/dL)
0	1,80 ±0,28 ¹	8,34 ±1,54	28,0 ±2,17	157,54 ±16,45	29,90 ±5,26	1,25 ±0,45	2,80 ±0,43
10	1,95 ±0,34	8,47 ±1,15	28,0 ±2,14	146,11 ±25,82	30,78 ±5,99	1,28 ±0,24	2,90 ±0,36
30	1,82 ±0,28	8,29 ±1,27	28,0 ±3,00	156,54 ±25,77	29,57 ±3,13	1,27 ±0,41	2,90 ±0,44
60	1,91 ±0,29	8,74 ±1,37	29,0 ±3,68	153,17 ±22,49	30,44 ±5,41	1,45 ±0,32	3,00 ±0,87

¹ Percentual de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da farinha de sangue; ² VGM (fL) = hematócrito x 10³ / n° eritrócitos x 10⁶; ³ CHGM (%) = (hemoglobina x 100) / hematócrito.

Os diferentes tratamentos e o período experimental de 15 semanas não determinaram alterações significativas nos parâmetros hematológicos avaliados ($p > 0,05$). Embora discreta, pode-se observar tendência de aumento nos valores de eritrócitos (2,79%), hemoglobina (4,27%) e hematócrito (3,45%) dos peixes arraçoados com a dieta que continha 22% de farinha de sangue, se comparados com as médias para os demais tratamentos.

A farinha de sangue é excessivamente rica em ferro, característica considerada limitante para sua utilização em rações animais (Pezzato, 1995). Por outro lado, o ferro, por ser componente do pigmento hemoglobina, responsável pelo transporte do

oxigênio, é um elemento essencial para os órgãos e tecidos do organismo (Boldt, 1999). A hemoglobina é o principal constituinte do citoplasma do eritrócito, representando cerca de 90% do peso seco da célula madura (Feldman *et al.*, 2000). Observou-se, no presente estudo, que a maior tendência de aumento dos parâmetros sanguíneos avaliados, com a elevação no nível de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da farinha de sangue, foi para a concentração de hemoglobina.

Segundo o NRC (1993), a farinha de sangue desidratada pelo sistema *spray-dry* apresenta, em sua composição, 2.769mg de ferro/kg. Já a concentração de ferro da farinha de sangue tradicional, utilizada neste trabalho, foi de 3.269mg de ferro/kg, valor ainda mais elevado ao referido para a farinha de sangue obtida pelo método *spray-dry*.

Kleemann (2002) observou, igualmente aos resultados desta pesquisa, tendência de aumento dos parâmetros sanguíneos, com o incremento na concentração de ferro na dieta para tilápia do Nilo. Barros *et al.* (2002a) observaram também, embora não de forma significativa, tendência de aumento de 3% nos valores de hemoglobina quando a suplementação de ferro da dieta, para alevinos de tilápia do Nilo, passou de 30 para 270mg/kg. Segundo Nimeh e Bishop (1980), deficiência ou excesso de ferro na dieta podem determinar alterações na absorção desse elemento pelo intestino, aumentando-a ou diminuindo-a, respectivamente. Embora o mecanismo de regulação da absorção de ferro não esteja totalmente elucidado, sabe-se que alterações no nível de reserva e de eritropoiese exercem influência controladora sobre o mesmo (Miller *et al.*, 1993).

Os valores sanguíneos observados no presente experimento encontram-se em concordância com os descritos por Feldman *et al.* (2000). Estes autores apresentaram, para a tilápia do Nilo, os seguintes valores sanguíneos normais: 1,91 - 2,83 x 10⁶/μL, para os eritrócitos; 27% - 47%, para o hematócrito; 7,0 - 9,8g/dL, para hemoglobina; 115% - 183%, para o VGM, e 22 - 29, para o CHGM. Tavares-Dias e Faustino (1998), por sua vez, apresentaram, para a tilápia do Nilo, mantida em sistema extensivo, valores de 1,73 - 4,83 x 10⁶/μL, para eritrócitos; 23% - 41%, para hematócrito; 5,4 - 12,7g/dL, para hemoglobina; 70,8% - 205,50%, para o VGM, e 16,8% - 55,2% para o CHGM.

Kikuchi (1999) avaliou o potencial do farelo de soja em combinação com a farinha de sangue (10% da dieta) e com o glúten de milho, para substituição da farinha de peixe em dietas para o linguado japonês. Igualmente ao verificado neste estudo, no referido trabalho, o autor não observou alterações significativas nos parâmetros hematológicos e hematológicos avaliados.

A determinação dos valores hematológicos sofre

influência das diferentes condições experimentais, metodologias, tamanhos dos peixes e tipos de alimentação empregados. Excetuando-se o controle do próprio experimento, a realização de pesquisas sob as mesmas condições seria o parâmetro mais adequado para comparação de resultados. Neste sentido, comparando-se os resultados da presente pesquisa com outras desenvolvidas no mesmo laboratório, sob as mesmas condições, observaram-se valores bastante similares. Essas pesquisas indicam os seguintes valores médios: $1,75 \times 10^6/\mu\text{L}$, para os eritrócitos; 28%, para hematócrito; 8,46 g/dL, para hemoglobina; 169,77%, para VGM, e 24,42%, para CHGM (Barros *et al.*, 2002 a, b; Kleemann, 2002; Hisano *et al.*, 2003).

A literatura apresenta valores entre 21600 e 154700 de leucócitos/ μL de sangue, para a tilápia (Feldman *et al.*, 2000). A média dos resultados observados, neste trabalho, encontra-se dentro dessa faixa. Feldman *et al.* (2000) ressaltaram que, embora a resposta leucocitária seja importante ferramenta para análise do estado de saúde dos animais, a interpretação dos valores encontrados para o número total de células brancas deve ser bastante cautelosa, em função da grande variação nos tipos e aparência dos leucócitos, nas diferentes espécies de peixes.

Barros *et al.* (2002b) não observaram efeito significativo da suplementação dietética de ferro e/ou de vitamina C na produção de leucócitos na tilápia do Nilo. Além disso, estes autores também não constataram diferença no percentual de linfócitos e neutrófilos. Segundo Tavares-Dias e Faustino (1998), 3% seria o valor mínimo de neutrófilos para a tilápia do Nilo. Para as espécies *Oreochromis aureus* e *O. mossambicus*, os valores médios respectivos, para essa variável, são de 1,6% e 7,8% (Silveira e Rigos, 1989; Nussey, 1995). Já para a *Tilapia zilli*, o percentual médio de neutrófilos é de 24,50 % (Ezzat *et al.*, 1974).

No presente trabalho, a concentração de proteína plasmática total não sofreu influência dos níveis de substituição da proteína do farelo de soja, pela proteína da farinha de sangue. Segundo Swenson (1996), as proteínas plasmáticas são identificadas como albuminas, globulinas e fibrinogênio, podendo estar marcadamente reduzidas nas alterações hepáticas graves ou pela ingestão prolongada de dietas com deficiência em proteína.

A farinha de sangue, apesar de ser um alimento desbalanceado em aminoácidos em função do tratamento térmico necessário para a sua fabricação, o seu uso, em dietas para tilápia do Nilo, não afetou de forma significativa os níveis de proteína plasmática dos peixes. O cozimento e secagem do material cru podem resultar em alterações nas proteínas ou em danos aos aminoácidos e outros nutrientes, por meio da oxidação de ligações sulfidríla (-SH), bissulfeto (S-S), não-peptídicas; reações de Maillard,

degradação oxidativa e pirólise. Todas essas reações são conhecidas por afetar o valor nutritivo dos alimentos (Opsvedt *et al.*, 1984; Otterbuen, 1989; Phillips, 1989, citados por Bureau *et al.*, 1999).

Embora tenha havido prejuízo significativo no desempenho produtivo das tilápias, pela substituição da proteína do farelo de soja da dieta pela proteína da farinha de sangue, não se observou o mesmo para os parâmetros sanguíneos avaliados. Com base nesses resultados, pode-se inferir que os níveis de substituição da proteína vegetal não causou efeitos adversos à hematopoiese.

Concentração de ferro plasmático, hepático e muscular

Os valores médios para concentração de ferro plasmático, hepático e muscular, de alevinos de tilápia do Nilo alimentados, por 15 semanas, com dietas contendo diferentes níveis de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da farinha de sangue, estão apresentados na Tabela 4.

A análise de variância para experimentos inteiramente casualizados não determinou efeito significativo do nível inclusão de farinha de sangue na dieta, sobre a concentração de ferro plasmático ($p > 0,05$). Resultados opostos aos determinados na presente pesquisa foram observados por Lim e Klesius (1997). Estes autores observaram, em juvenis de bagre do canal alimentados durante 13 semanas com dietas purificadas, aumento significativo na concentração de ferro sérico e no índice de saturação da transferrina (IST), em relação ao observado para os peixes arraçoados com a dieta não suplementada com 20mg Fe/kg. No entanto, nesse período inicial, a capacidade total de ligação do ferro (CTLF) não diferiu entre os tratamentos experimentais, somente apresentando significância após 17 semanas, quando o tratamento sem suplementação com ferro causou um aumento de, aproximadamente, 43% na CTLF.

Tabela 4. Concentração de ferro plasmático, hepático e muscular de alevinos de tilápia do Nilo alimentados, por 15 semanas, com dietas contendo diferentes níveis de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da farinha de sangue (média $\pm$ d.p.).

Nível de substituição ¹ (%)	Ferro plasmático ($\mu\text{g/dL}$)	Ferro hepático (mg/kg) ²	Ferro muscular (mg/kg) ³
0	61,99 $\pm$ 3,13	74,50 $\pm$ 3,00	14,75 $\pm$ 1,26
10	60,30 $\pm$ 4,60	135,25 $\pm$ 1,50	25,00 $\pm$ 1,15
30	60,00 $\pm$ 9,23	229,75 $\pm$ 2,06	36,50 $\pm$ 1,00
60	62,27 $\pm$ 4,65	637,00 $\pm$ 5,29	65,75 $\pm$ 3,30

¹ Percentual de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da farinha de sangue; ² Efeito linear ($p < 0,05$) $y = 36,35714 + 9,3107 x$ ($r^2 = 0,94$); ³ Efeito linear ($p < 0,05$) $y = 15,28571 + 0,7785714 x$ ($r^2 = 0,99$).

Resultados semelhantes aos acima descritos foram encontrados por Gatlin e Wilson (1986) em experimento conduzido com o bagre do canal, durante 10 semanas, no qual os peixes foram alimentados com dietas suplementadas com 0 - 50 mg Fe/kg. Em seu

trabalho, os autores não detectaram diferença significativa para a CTLF, porém a concentração de ferro sérico e o IST responderam significativamente aos diferentes níveis de ferro na dieta. Nesse caso, os resultados para o tratamento sem suplementação com ferro foram inferiores aos demais. A pequena quantidade de plasma obtida nesse estudo impossibilitou a determinação da CTLF e do IST, o que auxiliaria o entendimento do metabolismo do ferro nos peixes.

Kleemann (2002), igualmente ao presente estudo, observou que os diferentes níveis de suplementação de ferro em dietas purificadas, na forma de sulfato ferroso, não causaram alterações significativas na concentração de ferro plasmático de alevinos de tilápia do Nilo. O mesmo também foi observado por Barros *et al.* (2002a), após 10 semanas, com o bagre do canal alimentado com dietas práticas suplementadas com sulfato ferroso.

Para a concentração hepática de ferro, observou-se efeito significativo do nível de inclusão de farinha de sangue nas dietas. À medida que se aumentou a inclusão da farinha de sangue nas dietas ocorreu incremento linear na concentração de ferro no fígado dos peixes.

Os resultados para concentração de ferro hepático demonstraram que, em média, a inclusão de farinha de sangue na dieta determinou aumento de 4,43 vezes na concentração de ferro do fígado dos peixes. O fígado é o principal órgão de armazenamento de ferro. Por esse órgão ocorre a passagem inicial dos nutrientes da dieta. O fígado resgata a quantidade de ferro circulante que excede a capacidade de ligação da transferrina plasmática. Os hepatócitos possuem receptores para transferrina, ferritina e para hemoglobina e heme, podendo capturar o ferro de todas essas moléculas, especialmente a ferritina, provinda das células de Kupfer (Bonkovsky, 1991).

No presente trabalho, embora, não tenha sido determinada a CTLF, pode-se inferir que esta estaria aumentada, uma vez que a concentração de ferro circulante (plasmático) provavelmente ultrapassou a CTLF, determinando a deposição de ferro no fígado. Ainda que não se tenha detectado alterações macroscópicas no fígado dos peixes, podemos igualmente sugerir que as concentrações elevadas de ferro, encontradas nos tratamentos com farinha de sangue, podem ter provocado alterações histológicas no fígado, as quais podem ter também contribuído para o menor crescimento desses animais.

Essa suposição encontra apoio na citação de Desjardins *et al.* (1987), que avaliaram diferentes concentrações de ferro na dieta de trutas arco-íris, observando efeitos significativos no crescimento e respostas fisiológicas dos peixes estudados. Esses autores observaram, ainda, que houve alterações histopatológicas no fígado dos animais alimentados com as dietas com excesso de ferro, havendo lesões

nos hepatócitos, que apresentavam-se vacuolizados, com alto teor de gordura e baixos níveis de glicogênio.

Como para os parâmetros de ganho de peso e ferro hepático, o aumento na inclusão de farinha de sangue na dieta determinou aumento linear significativo para a concentração de ferro nos filés dos peixes.

Andersen *et al.* (1996) apresentaram a hipótese do mecanismo regulador da absorção de ferro nos peixes, como descrito para outras espécies, e que, desta forma, o ferro em excesso na dieta não determinaria aumento proporcional na deposição tecidual de ferro. Os resultados do presente estudo contrariam os obtidos por esses autores, uma vez que houve aumento na concentração de ferro tanto no fígado como no filé. Por outro lado, Kleemann (2002) observou que o incremento de ferro, em dietas purificadas (0, 20, 40, 80 e 160mg/kg), determinou, em relação à dieta não suplementada com ferro, aumento médio de 24% na concentração de ferro muscular dos peixes.

Os resultados desta pesquisa permitem concluir que a farinha de sangue não substitui totalmente o farelo de soja em rações para tilápia do Nilo; valores de inclusão até 10,0% de farinha de sangue podem ser considerados, dependendo de fatores a serem analisados, como, por exemplo, o mínimo custo das rações; os níveis de substituição da proteína do farelo de soja pela proteína da farinha de sangue nas rações de tilápia do Nilo não determinaram efeitos adversos nos parâmetros hematológicos; as concentrações de ferro do fígado e filé são responsivas à concentração de ferro da ração.

Referências

- ANDERSEN, F. *et al.* An estimation of dietary iron requirement of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parr. *Aquacult. Nutr.*, Oxford, v.2, p.41-47, 1996.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). *Official methods of analysis*. 14.ed. Arlington, 1990.
- BARBOSA, H. P. *et al.* Farinha de sangue como fonte de proteína para suínos em crescimento e terminação. *Pesq. Agropecu. Bras.*, Brasília, v.18, n.6, p.675-678, 1983.
- BARROS, M. M. *et al.* Níveis de vitamina C e ferro para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Rev. Bras. Zootec.*, Viçosa, v.31, n.6, p.2149-2156, 2002.
- BARROS, M. M. *et al.* 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. Amsterdam*, v.207, p.263-279, 2002b.
- BELLAVER, C. Ingredientes de origem animal destinados à fabricação de rações. In: *SIMPÓSIO SOBRE INGREDIENTES NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL*. Campinas, SP, abr, 2001.
- BOLDT, D. H. New perspectives on iron: an introduction. *Am. J. Med. Sci.*, Hagerstown, v.318, p. 207-212, 1999.

- BONKOVSKY, H. L. Iron and the liver. *Am. J. Med. Sci.*, Hagerstown, v.301, p. 32-43, 1991.
- BUREAU, D. P. *et al.* Apparent digestibility of rendered animal protein ingredients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, Amsterdam, v.180, p.345-358, 1999.
- DE SILVA, S. S.; ANDERSON, T. A. *Fish nutrition in aquaculture*. 1.ed. London: Chapman & Hall, 1995.
- DESJARDINS, L. M. *et al.* Iron catalysed oxidation of trout diets and its effect on the growth and physiological response of rainbow trout. *Fish Physiol. Biochem.*, Amsterdam, v.3, n.4, p.173-182, 1987.
- EZZAT, A. A. *et al.* Studies on blood characteristics of *Tilapia zilli*. I. Blood cells. *J. Fish Biol.*, London, v.6., n.1, p.1-2, 1974.
- FELDMAN, B. F. *et al.* *Schalm's veterinary hematology*. 5.ed. Philadelphia: Donna Balado, 2000.
- GATLIN, D. M.; WILSON, P. W. Characterization of iron deficiency and the dietary iron requirement of fingerling channel catfish. *Aquaculture*, Amsterdam, v.52, p.191-198, 1986.
- GOODWIN, J. *et al.* Direct measurement of serum iron and binding capacity. *Clin. Chem.*, Washington, DC, v.12, p.47-57, 1966.
- GRANT, R. J.; HADDAD, S. G. Effect of a mixture of feather and blood meals on lactational performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, Savoy, v.81, p.1358-1363, 1998.
- HISANO, H. *et al.* Yeast and zinc on hematological parameters of Nile tilapia fingerlings *Oreochromis niloticus*...Anais of World Aquaculture, Salvador, v.2, p.575, 2003.
- JACKSON, A. J. *et al.* Evaluation of some plant protein in complete diets for the tilapia *Sarotherodon mossambicus*. *Aquaculture*, Amsterdam, v.27, p.97-109, 1982.
- JAIN, N. C. *Schalm's veterinary haematology*. 4.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986.
- KIKUCHI, K. Use of defatted soybean meal as a substitute for fish meal in diets of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, Amsterdam, v.179, p.3-11, 1999.
- KLEEMANN, G. K. *Exigência nutricional de ferro para tilápia do Nilo Oreochromis niloticus*. 2002. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2002.
- KUBITZA, F. *Nutrição e alimentação de peixes cultivados*. Campo Grande-MS, 1998.
- LIM, C.; KLESIOUS, P. H. Responses of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fed iron-deficient and replete diets to *Edwardsiella ictaluri* challenge. *Aquaculture*, Amsterdam, v.157, p.83-93, 1997.
- LU, G. W.; CHEN, T. C. Quality characteristics of broiler blood meal as affected by yeast, glucose oxidase, and antioxidant treatments. *Anim. Feed Sci. Technol.*, New York, v.83, p.159-164, 2000.
- MILLER, J. K. *et al.* Elementos vestigiales. In: *Fisiologia digestiva y nutrición*, Chile, p.391-457, 1993.
- NIMEH, N.; BISHOP, R. C. Distúrbios do metabolismo do ferro. *Clin. Med. Am. North*, Philadelphia, p.633-48, 1980.
- NRC (National Research Council). *Nutrient requirements of fish*. Washington: National Academy Press, 1993. 114p.
- NUSSEY, G. Effects of cooper on the differential white cell counts of the Mosambique tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae). *Comp. Biochem. Physiol.*, London, v.111, n.3, p.381-388, 1995.
- OTUBUSIN, S. O. Effects of different levels of blood meal in pelleted feeds on tilapia, *Oreochromis niloticus*, production in floating bamboo net-cages. *Aquaculture*, Amsterdam, v.65, n.3-4, p.263-266, 1987.
- Perfil da Indústria Brasileira de Alimentação Animal. São Paulo: ANFAL/SINDIRAÇÕES Folder, 2002.
- PEZZATO, L. E. Alimentos convencionais e não convencionais disponíveis para a indústria da nutrição de peixes no Brasil. In: *SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE NUTRIÇÃO DE PEIXES E CRUSTÁCEOS*, Campos do Jordão. *Anais...*: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, n.1, p.33-52, 1995.
- SAMPAIO, F. G. *et al.* Digestibilidade aparente das farinhas de peixe nacional e importada e das farinhas de sangue tostada e *spray-dried*, pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Acta Scientiarum*, Maringá, v.23, n.4, p.891-896, 2001.
- SHIAU, S. Y. *et al.* Defatted and full-fat soybean meal as partial replacements for fish meal in tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*) diets at low protein level. *Aquaculture*, Amsterdam, v.86, p. 401-407. 1990.
- SILVEIRA, R.; RIGORES, C. Características hematológicas normais de *Oreochromis aureus* em cultivo. *Rev. Lat. Acuicult.*, Madri, v.39, p.54-56, 1989.
- STEFFENS, W. Replacing fish meal with poultry byproduct meal in diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, Amsterdam, v.124, p. 27-34. 1994.
- SWENSON, M. J. Propriedades Fisiológicas e Constituintes Químicos e Celulares do Sangue. In: DUKES, H. H.; SWENSON, M. J.; REECE, W. O. *Fisiologia dos animais domésticos*. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996, p.19-43.
- TACON, A. G. J. *et al.* Studies on the utilization of full-fat soybean meal and solvent extracted soybean meal in a complete diet for rainbow trout. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, Toquio, v.40, p.1437-1443. 1983.
- TAVARES-DIAS, M.; FAUSTINO, C. D. Parâmetros hematológicos da tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* (Cichlidae) em cultivo extensivo. *Ars Veterinária*, Jaboticabal, v.14, n.3, p.254-263, 1998.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. SAEG - *Sistema de análises estatísticas e genéticas*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, (Manual do usuário), 1997.
- YOUSIF, O. M. *et al.* Evaluation of dates and date pits as dietary ingredients in tilapia (*Oreochromis aureus*) diets differing in protein sources. *Bioresour. Technol.*, Essex, v.57, p.81-85, 1996.

Received on July 01, 2003.

Accepted on March 29, 2004.