

**ALTERAÇÕES ANÁTOMO-PATOLÓGICAS RESULTANTES DO
ARRAÇOAMENTO DE ALEVINOS DE TILÁPIA DO NILO
(*Oreochromis niloticus*) COM FARINHA DE SOJA**

**Carlo Rossi Del Carratore^{*}, Luiz Edivaldo Pezzato⁺, Margarida
Maria Barros⁺ e Carlos Alberto Vicentini[#]**

RESUMO. O presente experimento desenvolveu-se no Laboratório de Nutrição de Peixes - Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, FMVZ - Unesp, *Câmpus* de Botucatu, SP. Teve por objetivo avaliar o efeito da utilização da farinha de soja crua no arraçoamento de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), através de análises anátomo-patológicas. As rações experimentais, isoprotéicas (26,0% PB) e isoenergéticas (3.000 kcal EM/kg de ração), que constituíram os tratamentos, continham 6,0%, 12,0% e 18,0% de farinha de soja crua (FSC) e um tratamento controle, ao qual não se adicionou o ingrediente teste. Foram utilizados 48 alevinos de tilápia do Nilo com peso médio inicial de $6,47 \pm 0,64$ gramas e comprimento padrão médio de $54,94 \pm 7,79$ milímetros. Observou-se, através das análises anátomo-patológicas, que os tratamentos com 12,0 e 18,0% de FSC induziram um aumento de granulação nas células pancreáticas e vacuolização aumentada dos hepatócitos, evidenciando, desta forma, um início de efeito deletério quando da utilização da farinha de soja crua nesses níveis.

Palavras-chave: farinha de soja, fatores antinutricionais, tilápia do Nilo, patologia.

**ANATOMOPATHOLOGICAL EFFECTS OF RAW FULL-FAT SOYBEAN
MEAL ON NILE TILAPIA FINGERLINGS (*Oreochromis niloticus*)**

ABSTRACT. This experiment was carried out in of Fish Nutrition laboratory of the Departament of Animal Improvement and Nutrition (FMVZ), Unesp -

^{*} FMVZ/Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Botucatu, Botucatu - São Paulo, Brasil.

⁺ FMVZ/Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Botucatu, Caixa Postal: 560, 18618-000, Botucatu - São Paulo, Brasil.

[#] IB/Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Bauru, Bauru - São Paulo, Brasil.

Correspondência para Luiz Edivaldo Pezzato.

Data de recebimento: 27/01/97.

Data de aceite: 29/04/97.

Campus of Botucatu, State of São Paulo, Brazil). The study investigated the effect of raw full-fat soybean meal feeding on fingerlings Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). The suitable level of consumption of raw full-fat soybean meal (RSF) was determined taking into account anatomopathological analyses. Each isoproteic (26% CP) and isoenergetic (3.000 kcal ME/ kg) diet contained raw full-fat soybean meal at 6.0%, 12.0% and 18.0% respectively. Another treatment without soybean meal was used as control. Forty-eight fingerlings with similar size and length (mean Wt \pm SD: 6.47 \pm 0.64g; and mean Lt \pm SD: 54.94 \pm 7.79 mm) were used at the beginning of the experiments. The treatments with 12.0 and 18.0% RSF induced a higher granulation level in the pancreatic cells and an increased vacuolization of the hepatocytes. This made evident a deleterious effect of the raw full-fat soybean meal at these considered levels (12.0% and 18.0% RSF).

Key words: full-fat soybean meal, antinutritional factors, Nile Tilapia, pathology.

INTRODUÇÃO

A utilização de dietas balanceadas é de fundamental importância para o desenvolvimento da piscicultura como forma de atividade zootécnica efetiva em nosso país. Neste sentido, muitas pesquisas são feitas a fim de se adequar a utilização de ingredientes normalmente utilizados em dietas para peixes às nossas condições. Entretanto, devido às dificuldades de obtenção, padrão de qualidade, armazenamento e transporte, muitas vezes é necessário ao pesquisador adaptar-se às potencialidades e às disponibilidades regionais no sentido de se produzir dietas de boa qualidade e, fundamentalmente, de baixo custo.

A soja é a mais importante fonte de proteína de origem vegetal, e sua utilização na forma integral pode estar limitada pelo efeito dos fatores antinutricionais presentes, como o antitriptico, que inibe a ação da tripsina, e o hemoaglutinante, que provoca a aglutinação de hemácias. Por outro lado, no Brasil, muitas vezes, os centros produtores encontram-se distantes dos processadores da soja. Assim, a aquisição do farelo de soja comercial, resíduo da extração do óleo, torna-se mais cara que a própria soja *in natura*.

No sentido de minimizar o custo de produção de dietas para peixes, tem sido sugerida a utilização, em pequenas quantidades, do grão integral da soja, bem como de outras leguminosas. Além de se abolir os custos de transporte, a utilização de soja integral implicaria uma ração com um teor

de óleo mais elevado, fato este extremamente benéfico aos peixes, que assimilam bem o óleo como componente energético da dieta.

A utilização de soja crua, na alimentação de peixes, resulta em menores ganhos e, até, em perdas de peso. Esses efeitos são atribuídos ao fator antitriptico por Sandholm *et al.* (1976). Comparando o valor nutritivo da soja tratada para salmonídeos, Lovell (1979) observou que a soja tratada é consideravelmente superior. Sobre a ação da soja crua, quando empregada no arraçamento de peixes, Runsey (1978) observou que esta pode influir na digestão e utilização de muitos nutrientes, resultando em menor ganho de peso, aumento de tamanho do pâncreas, menor absorção de gordura e aproveitamento de energia dietária, podendo causar, ainda, contração da vesícula biliar com aumento de ácidos biliares, menor atividade proteolítica no intestino e baixo metabolismo de metionina.

A necessidade de conhecer o potencial de utilização da soja crua, em substituição de parte da fração protéica da dieta, e a grande disponibilidade deste material levaram à realização desta pesquisa, em que os fígados dos peixes foram submetidos à avaliação macro e microscópica.

MATERIAL E MÉTODOS

A presente pesquisa foi conduzida no Laboratório de Nutrição de Peixes - Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal (Laboratório associado ao CAUNESP), FMVZ - Unesp, *Câmpus* de Botucatu. Durante 90, dias procedeu-se ao experimento, com início em 22 de julho e término em 19 de outubro de 1991, utilizando-se um lote homogêneo de 48 alevinos de tilápia do Nilo com peso médio inicial de $6,47 \pm 0,64$ g e comprimento-padrão médio de $54,94 \pm 7,79$ mm, distribuídos aleatoriamente em 16 aquários, de modo a constituir quatro repetições por tratamento, com três indivíduos perfazendo uma repetição.

As dietas isoprotéicas (26% de proteína bruta) e isoenergéticas (3.000 kcal EM/kg de ração) foram balanceadas segundo as normas apresentadas pelo NAS-NRC (1993) e constituíram os seguintes tratamentos: A) grupo-controle - farelo de soja comercial; B) farinha de soja crua em 6,0% da fração protéica; C) farinha de soja crua em 12,0% da fração protéica; D) farinha de soja crua em 18,0% da fração protéica. Os dados da análise bromatológica dos ingredientes apresentam-se na

Tabela 1 e a composição percentual dos ingredientes e características nutritivas das rações experimentais apresentam-se na Tabela 2.

Tabela 1. Análise Bromatológica dos ingredientes utilizados para confecção das diferentes rações. (Valores expressos em 100% de matéria seca).

Ingredientes	PB %	EE %	FB %
Farinha de peixe	58,09	8,44	0,25
Levedura de álcool	33,57	0,93	1,10
Farelo de soja	49,52	5,94	5,27
Fubá de milho	8,16	2,07	1,50
Farinha de soja	42,17	26,91	2,29

Tabela 2. Composição percentual dos ingredientes e características nutritivas das rações experimentais.

Ingredientes	Tratamentos			
	A	B	C	D
	controle	6% SC/FP ¹	12% SC/FP	18% SC/FP
Farinha de peixe	5,00	5,00	5,00	5,00
Levedura de álcool	10,00	10,00	10,00	10,00
Farinha de soja (crua)	-	3,70	7,40	11,10
Farelo de soja	31,59	28,48	25,32	22,11
Fubá de milho	50,22	49,98	50,03	50,38
Óleo de soja	2,00	1,59	0,92	-
Suplemento vitam. - minerais	1,00	1,00	1,00	1,00
Calcário calcítico	0,19	0,17	0,17	0,17
Feno (Rhodes)	-	0,08	0,16	0,24
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Proteína Bruta ²	26,00	26,00	26,00	26,01
Extrato Etéreo ²	5,430	5,825	5,965	5,857
Fibra Bruta ²	2,539	2,535	2,535	2,536
Energia Metabolizável ³	3016,55	3032,62	3034,58	3023,65
cálcio ²	0,546	0,540	0,542	0,544
fósforo ²	0,270	0,270	0,272	0,270

¹ soja crua na fração protéica

² valores calculados a partir dos resultados da Tabela 1.

³ valores estimados conforme Rostagno *et al.* (1983).

Estas dietas foram fornecidas duas vezes ao dia (após a aferição da temperatura) na proporção de 3% do peso vivo dos peixes. Foram utilizados 16 aquários de cimento amianto de iguais dimensões (30x60x30 cm), com renovação contínua de água, através de sistema de

alimentação e escoamento por vaso comunicante (vazão de 0,43 litros/minuto). Diariamente os aquários foram sifonados para retirada de fezes e eventuais sobras de ração.

Todos os doze indivíduos de cada um dos diferentes tratamentos, após 90 dias (peso médio de $15,0 \pm 0,3\text{g}$), foram sacrificados através de lesão na medula espinhal e submetidos à análise macroscópica dos órgãos internos, através de lupa com aumento de dez vezes. No sentido de que fosse permitido um exame detalhado dos órgãos, foram realizadas duas incisões dorso-ventrais, uma próxima ao opérculo e outra na abertura do poro urogenital. Uma terceira, paralela ao dorso, na região abdominal ventral, propiciou o rebatimento de toda a musculatura e uma ampla exposição dos órgãos cavitais.

Após a avaliação individualizada dos animais dos diferentes tratamentos, foram coletados fragmentos de fígado dos mesmos, acondicionados em frascos, fixados em formaldeído a 10%, devidamente identificados e encaminhados para processamento, segundo as técnicas usuais de inclusão em parafina e coloração com hematoxilina e eosina (H.E.), para exame microscópico, conforme Luna (1968).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação macroscópica, no que se refere à coloração e a morfologia do fígado, demonstrou a presença de diferenças entre os tratamentos. Assim, no grupo controle o fígado dos peixes apresentou-se com coloração castanho-clara e lóbulos bem definidos, aspectos estes descritos por Roberts (1981), que cita tais características como padrão de normalidade, para peixes bem alimentados.

Nos demais tratamentos, foram detectadas diferenças morfológicas e de coloração. Os fígados dos animais do tratamento B apresentaram-se, em sua maioria, com coloração castanho-clara mais acentuada e com bordas ligeiramente mais arredondadas que o controle em sua porção terminal. No tratamento C, o aspecto cor mostrou-se semelhante ao tratamento B, enquanto que, no que se refere à forma, o fígado dos peixes revelou-se ligeiramente aumentado em tamanho e com a presença de áreas esbranquiçadas em alguns exemplares. O tratamento D revelou alterações mais acentuadas, sendo que o órgão analisado mostrou bordas arredondadas, maior volume em relação aos demais tratamentos e coloração variando de marrom claro a esverdeado.

As alterações macroscópicas não possibilitaram a caracterização de processos patológicos específicos, entretanto os resultados sugerem um provável efeito da soja crua, em níveis crescentes, nos diferentes tratamentos.

A análise em microscopia óptica, realizada no fígado, revelou para os tratamentos A (controle) e B (6% SC/FP) que os hepatócitos apresentaram-se ligeiramente dispostos em cordões, mostrando citoplasma vacuolizado e frequentemente contendo estruturas globulares, com coloração róseo-pálida em seu interior. O núcleo dos hepatócitos dos indivíduos submetidos a estes tratamentos mostrou-se geralmente localizado na porção central. Mostram-se concordantes com Roberts (1981), observações de que a histologia do fígado de peixes mostra hepatócitos com menor tendência a dispor-se em cordões ou em lóbulos como nos mamíferos, sendo este aspecto normal para os teleósteos. Semelhante descrição histológica, com citoplasma vacuolizado e núcleo central, foi relatada como normal para hepatócitos de carpa e tilápia, respectivamente por Barros (1991) e Salaro (1992).

A vacuolização citoplasmática, com estruturas globulares de coloração rósea, também foi observada nos hepatócitos dos indivíduos do tratamento C. Entretanto, a intensidade desta vacuolização implicou um ligeiro deslocamento dos núcleos para a periferia celular, sendo ainda detectados alguns sinusóides com descontinuidade das células endoteliais e extravasamento de hemácias. Destaca-se, ainda nestes vasos, a presença de plaquetas aderidas ao endotélio ou soltas no lume, sugerindo, assim, uma provável alteração na permeabilidade vascular que pode estar relacionada aos efeitos da presença da soja crua neste tratamento. Os hepatócitos do tratamento D revelaram-se intensamente vacuolizados, com o citoplasma, às vezes, mostrando estruturas globulares róseas em seu interior, sendo que alguns grupos de hepatócitos, localizados próximos à região medial dos lóbulos, revelaram estruturas intensamente eosinofílicas, de tamanho e conformação variada e de aspecto homogêneo e hialino. A tendência de deslocamento do núcleo para a periferia celular, observada no tratamento B, intensificou-se neste tratamento, levando à mudança na disposição dos hepatócitos.

O provável efeito da soja crua na dieta, implicando alterações hepáticas, pode ser ainda reforçado pelo fato de que capilares venosos com descontinuidade das células endoteliais e extravasamento de hemácias e a presença de plaquetas aderidas ao endotélio ou soltas no

lume apresentam-se evidentes neste tratamento, fato que nos permite inferir alterações na permeabilidade vascular hepática. Tais alterações hepáticas são concordantes com Barros (1991), que detectou efeito patológico no fígado, quando da presença de gossipol em dietas para alevinos de carpa (*Cyprinus carpio* L.), evidenciando participação deste órgão no metabolismo de fator antinutricional, confirmando as observações de Roehm *et al.* (1967) e Oioli *et al.* (1992).

O aumento na intensidade de vacuolização, implicando o deslocamento do núcleo para a periferia dos hepatócitos, também foi observado por Salaro *et al.* (1992), quando do emprego de 20% de farinha de semente de leucena em dieta para alevinos de carpa comum.

A análise histológica, realizada ao nível de hepatopâncreas, dos peixes dos diferentes tratamentos, indicou a ocorrência de células de forma arredondada, com núcleo geralmente localizado na porção basal e citoplasma volumoso repleto de grânulos esféricos e acidófilos. Estas características apresentam-se concordantes com o relatado para peixes normais, por Roberts (1981), quando descreveu que as células acinares pancreáticas contêm inúmeros grânulos secretores brilhantes e eosinofílicos, em peixes nutricionalmente bem alimentados.

Apesar das células dos quatro diferentes tratamentos revelarem um mesmo padrão morfológico, pode-se observar que os grânulos de secreção citoplasmáticos, nos tratamentos C e D, apresentaram-se com volume aumentado. Tal fato sugere uma exacerbação da atividade secretora do pâncreas, provavelmente em função do aumento da ação antitriptica decorrente da presença de níveis mais elevados de soja crua nestes tratamentos.

Estas prováveis alterações celulares ao nível de pâncreas parecem ser confirmadas pelo relato de Rackis (1974) de que a soja crua estimularia uma hiper e hiposecreção de enzimas pancreáticas, podendo ainda, conforme observado em aves e ratos por Sandholm *et al.* (1976), estimular uma hipertrofia pancreática como resposta adaptativa ao aumento da necessidade de tripsina, uma vez que a soja crua diminui ou impede a atividade triptica (Jauncey e Ross, 1982).

As alterações macro e microscópicas, detectadas neste experimento, não parecem suficientes para caracterizar alterações metabólicas severas, mas sim um quadro de exacerbação de atividades destes órgãos. Pesquisas precisam ser realizadas a fim de que seja elucidada a ação antitriptica em peixes tropicais, principalmente se considerarmos que os

resultados obtidos neste experimento contrariam os resultados de Sandholm *et al.* (1976), Van den Ingh *et al.* (1991) e Del Carratore *et al.* (1993), que observaram efeitos altamente deletérios quando do emprego de soja crua, respectivamente em truta, salmão e carpa comum.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente experimento permitiram as seguintes conclusões:

- a) a soja crua pode ser usada em níveis de até 18% da fração protéica, o que correspondeu a 11,1% do total da dieta, produz alterações histopatológicas suficientes para restringir o seu uso. Portanto mais estudos são necessários para determinar a evolução dessas lesões e da performance dos animais;
- b) as alterações hepáticas e pancreáticas, observadas nos tratamentos com 12 e 18% de soja crua na fração protéica, evidenciam a participação destes órgãos no metabolismo dos fatores antinutricionais presentes na farinha de soja crua;
- c) a constatação de alterações nas células secretoras do pâncreas retrata a presença e o efeito dos inibidores de tripsina e quimiotripsina quando da presença de farinha de soja crua na dieta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARROS, M.M. Efeitos do farelo de algodão, como sucedâneo protéico, sobre o desempenho produtivo e alterações anatomopatológicas de alevinos de carpa (*Cyprinus carpio*, L.), Piracicaba: ESALQ/USP 1991. 58p. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Área de Concentração Nutrição Animal e Pastagem) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- DEL CARRATORE, C.R., SALARO, A.L., LUVIZOTTO, M.C.R. & PEZZATO, L.E. Soja crua na alimentação inicial de carpa comum (*Cyprinus carpio*, L.). Ação antinutricional. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE ICTIOLOGIA, 10, São Paulo, 1993. Anais... São Paulo: 1993 p.168.
- JAUNCEY, K. & ROSS, B. *A guide to tilapia feeds and feeding*. Stirling: Institute of Aquaculture University of Stirling Scotland, 1982. 101p.
- LUNA, L.G. *Manual histologic methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. New York: Mc Graw-Hill, 1968. 258p.

- LOVEL, T. Factors affecting voluntary feed consumption by channel catfish. In: ANNUAL CONFERENCE SOUTHEAST ASSOCIATION FISH AND WILDL AGENCIES, 33, Hamburg. 1979. PRECEEDING... Hamburg, eds. Berlin, 1979. P. 363-371.
- NAS-NRC. *Nutrient requeriment of warm water fishes and shellfishes*. Washington: National Academy Press, 1993. p.102.
- OIOLI, K.V., PEZZATO, L.E., LUVIZOTTO, M.C.R., SILVEIRA, A.C. & BARROS, M.M. Desempenho produtivo e alterações anatomo-patológicas resultantes da utilização do farelo de algodão na alimentação inicial da Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Bol. Red. Reg. Acuicult.*, 6:7-9, 1992.
- RACKIS, J.J. Biological and physiological factors in soybeans. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 41:161-174, 1974.
- ROBERTS, R.J. *Patologia de los peces*. Madrid: Mundi-Prensa, 1981. 366p.
- ROEHM, J.N., LEE, D.J. & SINNHUBER, R.O. Accumulation and elimination of dietary gossypol in the organs of rainbow trout. *J. Nutr.*, 92:425-428, 1967.
- ROSTAGNO, H.S., SILVA, D.J., COSTA, P.M.A. & FONSECA, J.B. *Composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1983. 61p.
- RUNSEY, G.L. Recent advances in nutrition of salmonids. *J. Nutr.*, 2:21-26, 1978.
- SALARO, A.L. Desempenho produtivo e alterações anatomo-patológicas de alevinos de tilapia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) e carpa comum (*Cyprinus carpio*, L.), alimentados com ração contendo farinha da semente de leucena (*Leucaena leucocephala*), Botucatu, 1992. 61p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências – UNESP, 1992.
- SANDHOLM, M., SMITH, R.R., SHIH, J.C.H. & BERNN, J. Determination of antitrypsin activity on agar plates: Relationship between antitrypsin and biological value of soybean for trout. *J. Nutr.*, 106:761-766, 1976.
- VAN den INGH, T.S.G.A.M., KROGDAHAL, A., OLLI, J.J. & BERNN, J. Effects of soybean-containing diets on the proximal and distal intestine in Atlantic salmon (*Salmo salar*): a morphological study. *Aquaculture*, 94:297-305, 1991.