Revista Agrarian
ISSN: 1984-2538

Digestibilidade aparente de dietas contendo complexo enzimático para o tambaqui (*Colossoma macropomum*)

Apparent digestibility of diets containing enzyme supplement for tambaqui (Colossoma macropomum)

Sílvio Magri Filho[1], Delma Machado Cantisani Pádua[1], Janaína Gomes Araújo[2], Cristielle Nunes Souto[2], Cirano José Ulhoa[3], Cristine Santos Settimi Cysneiros[3], Reginaldo Ferreira Nassar[3], Jessica Meireles Souza Cunha[1]

[1]Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC-GO), Campus II, departamento de Zootecnia. Avenida Engler, s/nº, Jardim Mariliza , 74885-460 Goiânia, GO, Email: magrifilho@hotmail.com
[2]Universidade Federal de Goiás (UFG), Escola de Veterinária e Zootecnia, Goiânia, GO
[3]Universidade Federal de Goiás (UFG), Instituto de Ciências Biológicas, Goiânia, GO

Recebido em: 07/07/2014 Aceito em: 30/06/2015

Resumo. O objetivo do trabalho foi avaliar a digestibilidade de dietas para juvenis de tambaqui com diferentes níveis de inclusão de solução enzimática produzida pelo fungo *Aspergillus awamori*. 96 juvenis de tambaqui, com peso médio de 55,69 ± 2,55 gramas foram distribuídos aleatoriamente em doze aquários retangulares de PVC de 100 litros, cada um constituindo uma unidade experimental, contendo oito peixes. Foram avaliados quatro níveis de inclusão, sendo uma dieta controle de 100 mL de água destilada e 100, 150 e 200 mL de solução enzimática kg^{-1} da ração. A atividade enzimática do fungo foi avaliada apresentando valores maiores em pH 6,8. Os animais foram alimentados pela manhã e posteriormente transferidos aos aquários de coleta de fezes. Foram realizadas as análises químicas de energia bruta, proteína bruta e matéria seca das fezes. Foram observadas diferenças significativas para a matéria seca, sendo o melhor nível de 200 ml do complexo enzimático kg^{-1} da ração e para a energia bruta o nível de 150 ml do complexo enzimático kg^{-1} da ração. Para a proteína bruta, não houve diferença significativa entre os grupos avaliados, porém diferiu significativamente do tratamento controle. Assim, a inclusão do complexo enzimático nas dietas melhorou a digestibilidade dos ingredientes.

Palavras-chave: *Aspergillus awamori*, enzimologia, nutrição, peixe

Abstract. The aim of the study was to evaluate the digestibility of diets for tambaqui with different inclusion levels of enzyme solution produced by the fungus *Aspergillus awamori*. Ninety-six tambaqui, with an average weight of 55.69 ± 2.55 g were randomly distributed into twelve rectangular PVC tanks of 100 liters each constituting an experimental unit, containing eight fish. Four levels of inclusion were evaluated a control diet 100 ml of distilled water and 100, 150 and 200 mL / kg of feed enzyme solution. The enzymatic activity of the fungus was evaluated by presenting greater at pH 6.8. The animals were fed in the morning and later transferred to aquaria feces collection. Chemical analysis of gross energy, crude protein and dry matter of feces were made. Significant differences ($p < 0.05$) were observed for dry matter, with the level of 200 ml of the enzyme complex / kg of feed and the gross energy level of 150 ml of the enzyme complex / kg of feed. For crude protein, there was no significant difference among the groups, but differed significantly from the control treatment.

Keywords: *Aspergillus awamori*, enzimology, nutrition, fish

Introdução

A aquicultura brasileira vem passando por um processo expansionista que requer a utilização de técnicas de manejo eficientes que possibilitem um maior desempenho dos animais, visando o melhor aproveitamento das dietas e maior número de ingredientes utilizados nas formulações de rações. Com o objetivo de mitigar os custos com a ração, as fábricas têm buscado alternativas que melhorem a qualidade da ração comercializada sem aumentar os custos de produção. A substituição de alimentos de origem animal por alimentos de origem vegetal na nutrição de animais monogástricos torna-se uma opção viável, porém dependente de fatores que

Revista Agrarian
ISSN: 1984-2538

alteram a qualidade da ração, sendo limitada devido a fatores antinutricionais (Silva et al., 2007).

A determinação da digestibilidade que, segundo Andriguetto et al. (1982) é definida como a fração do alimento consumido que não é recuperada nas fezes, é de extrema importância no sentido de avaliar a qualidade do alimento. De acordo com Sadiku & Juancey (1995) a determinação dos coeficientes de digestibilidade tem sido instrumento de grande importância na área da nutrição na aquicultura, uma vez que pode avaliar ingredientes ou a qualidade das rações.

Segundo Yin et al. (2001) a utilização de enzimas exógenas como aditivo alimentar objetiva incrementar a disponibilidade dos nutrientes presentes nos alimentos, apesar de não possuírem valor nutricional. Para Walsh et al. (1993) as enzimas podem remover fatores antinutricionais, tornando certos nutrientes disponíveis para absorção e também aumentando o valor energético de ingredientes mais baratos.

O tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818) pertence à família Characidae e é uma espécie de amplo crescimento na piscicultura, apresentando forte potencial de cultivo devido a boas características de ganho de peso, conversão alimentar e alta taxa de crescimento (Woynarovich, 1986; Kubitza, 2004).

Este trabalho tem como objetivo geral avaliar o efeito de um complexo enzimático produzido pelo fungo *Aspergillus awamorii* sobre a digestão dos macronutrientes da ração para juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum*.

Material e Métodos

O presente estudo foi realizado em duas etapas, primeiramente no Laboratório de Enzimologia do Instituto de Ciências Biológicas/ICB II, da Universidade Federal de Goiás, Campus Samambaia, localizado no município de Goiânia – Goiás, no período de junho a dezembro de 2011, referente ao preparo da solução enzimática e posteriormente no Laboratório de Pesquisa de Organismos Aquáticos (LAPOA), no Departamento de Zootecnia da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, onde foi realizada a confecção e digestibilidade das dietas. Noventa e seis juvenis de tambaquis foram alojados em 12 aquários de polietileno com capacidade para 310 litros, totalizando quatro tratamentos e três repetições.

Na primeira etapa, a amostra do fungo *Aspergillus awamori* utilizada no presente trabalho foi isolada do solo da Universidade de Brasília (UnB). O fungo foi cultivado em Meio MEX [extrato de malte 3,0% e Ágar 2,0%]. A cultura foi mantida por quatro dias a 30ºC, em estufa de ventilação forçada e, posteriormente as placas foram estocadas a 4ºC para utilização no experimento.

Produção, inoculação, filtragem e liofilização da solução enzimática

Três discos de cultura (5 mm), contendo esporos do fungo *Aspergillus awamori* foram inoculados em erlenmayers, contendo 250 ml de meio de indução (dieta controle). Os erlenmayers foram incubados em agitador rotatório (Controlled Environment Incubator Shacker, Brunswick Scientific Co. Inc., U.S.A) a 30ºC e velocidade de 180rpm. Após 48 horas de cultivo, a solução enzimática foi filtrada a vácuo. As alíquotas foram retiradas e congeladas para avaliação da atividade enzimática de amilase, CMCase, avicelase, Fpase, xilanase, pectinase, protease e lipase e posterior utilização.

A solução enzimática foi concentrada pelo processo de liofilização por 24 horas (Liofilizador Ilshin) e ressuspendida para utilização. A solução enzimática foi mantida em geladeira a temperatura de 4 a 8ºC para utilização.

Determinação da atividade enzimática

A 200 µl de solução de carboximetilcelulose 1% (média viscosidade - Sigma), dissolvido nos tampões acetato de sódio 50 mmol.L^{-1}, pH 5,5, citrato fosfato e Kansas, 50 mmol.L^{-1}, pH, 6,8, foram acrescentados 200 µl do extrato enzimático. Após incubação da mistura a 39ºC por 1 hora, a reação foi interrompida pela adição de 1 ml de ADNS (Ácido dinitrosalicílico) e aquecida por 10 minutos.

Para determinação atividade de Avicelase, 200 µl de solução de celulose microcristalina Avicel a 1% foi utilizado dissolvido em tampão citrato fosfato, 50 mmol.L^{-1}, pH, 6,8 e Kansas, 50 mmol.L^{-1}, pH, 6,8 foram acrescentados 200 µl do extrato enzimático. Após incubação da mistura a 39º C por 1 hora, a reação foi interrompida pela adição de 1 mL de ADNS e aquecida por 10 minutos.

A atividade de pectinase foi determinada utilizando pectina (citruspeel - Sigma) como substrato. A mistura da reação consistiu de 50 µl da amostra enzimática (pré-incubada em banho Maria, por 3 minutos a 39º e 50ºC), 100 µl de pectina 0,5% (dissolvida em tampão acetato de sódio 50 mmol.L^{-1}, pH 5,5 e citrato fosfato, 50 mmol.L^{-1}, pH, 6,8). Após 30 minutos de incubação a 50ºC, a reação foi interrompida com 300 µl de ADNS e a solução

Revista Agrarian
ISSN: 1984-2538

mantida em água fervente por 10 minutos, com posterior adição de 1,5 mL de água destilada. A concentração dessas enzimas foi estimada após a quantificação espectrofotométrica a 550nm, de açúcar redutor liberado. Uma unidade de atividade enzimática (U) foi definida como a quantidade de enzima necessária para formar um µmol de açúcar redutor por minuto da reação.

A atividade de xilanase foi determinada nos tampões acetato de sódio 50 mmol.L^{-1}, pH 5,5, citrato fosfato 50 mmol.L^{-1}, pH 6,8 e Kansas 50 mmol.L^{-1}, pH 6,8. A mistura de reação foi incubada a 50°C por 30 minutos. O ensaio enzimático realizado foi: teste: 50 µl do extrato enzimático, 100 µl de xilana (oatspelts - sigma), 350 µl de tampão, 500 µl de DNS; a mistura da reação foi incubada por 10 minutos em água fervente, com posterior adição de 1000 µl de água; controle 1:50 µl do extrato enzimático, 450 µl de tampão, 500 µl de ADNS; a mistura de reação foi incubada por 10 minutos em água fervente, com posterior adição de 1000 µl de água; controle 2:100 µl de xilana, 400 µl de tampão, 500 µl de ADNS; a mistura de reação foi incubada por 10 minutos em água fervente, com posterior adição de 1000 µl de água. A concentração de açúcar redutor liberado foi determinada espectrofotometricamente a 540 nm pelo método do ADNS, utilizando xilose como padrão. Uma unidade de atividade enzimática (U) foi definida como a quantidade de enzima necessária para formar um µmol de açúcar redutor por minuto da reação.

A atividade da amilase foi determinada pelo método sacarificante que se baseia na produção de açúcares redutores (Miller, 1959). A 40 µl de tampão citrato-fosfato (50 mmol.L^{-1}, pH 6,8) foram adicionados 60 µl de amostra enzimática e 100 µl de solução de amido 0,5%. A mistura foi incubada a 39ºC por 15 minutos. Posteriormente, 1,0 ml de reagente ácido dinitrosacilico (10 g.L^{-1} ácido dinitrosacilico (DNS), 100 ml de NaOH (2mmol.L^{-1}), 300 g.L^{-1} de tartarato de sódio e potássio foi adicionado nos tubos de ensaio. A mistura foi fervida por 5 minutos em banho-maria a 96ºC e absorbância determinada a 550 nm. A quantidade de açúcares redutores formados é calculada de acordo com uma curva padrão de glicose (Miller, 1959). Uma unidade (U) de atividade sacarificante foi definida como a quantidade de enzima que libera 0,1 mg de açúcar redutor por minuto de reação, e a reação interrompida com adição de 200 µl de ácido acético (1,0 mol.L^{-1}) e 200 µl de solução de iodo-iodeto a 1%, iodeto de potássio e água destilada na proporção de (1v:1v:3v). O volume foi completado com água destilada.

Após o preparo da solução enzimática, foi desenvolvida a segunda etapa. Para isso, no Laboratório de Pesquisa de Organismos Aquáticos (LAPOA) do Departamento de Zootecnia da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, foram avaliados os coeficientes de digestibilidade aparente (CDa) da matéria seca, da proteína bruta e do extrato etéreo das rações com adição de níveis crescentes do complexo enzimático produzido pelo fungo *Aspergillus awamori*. As rações experimentais foram formuladas de modo a apresentarem-se isoenergéticas, 4200 kcal de energia bruta (EB)/kg de ração, e isoproteicas, 33,0% de proteína bruta (PB). Foram avaliados quatro tratamentos, sendo o controle a ração sem suplementação do complexo enzimático, e os demais com 100, 150 e 200 ml do complexo enzimático por kg de ração, em delineamento inteiramente ao acaso, com três repetições. Para o preparo das rações, empregaram-se ingredientes energéticos e proteicos. A composição percentual calculada e determinada da energia bruta, proteína bruta e extrato etéreo da dieta referência encontra-se na Tabela 1.

No sentido de mensurar os coeficientes de digestibilidade aparente (CDa), as rações receberam 0,1% de óxido de crômio-III (Cr_2O_3), conforme metodologia proposta por Bremer Neto et al. (2005). As dietas foram peletizadas e secas em estufa com ventilação forçada a 55,0ºC por 24 horas, e os péletes desintegrados de modo a se apresentarem com diâmetro de 4,0mm. A solução enzimática foi adicionada pelo método de aspersão após a secagem das rações.

Foram utilizados doze aquários de formato circular, com capacidade de 300L, que constituíam quatro tratamentos e três repetições e, para a coleta de fezes, foram utilizados quatro aquários de formato cônico, com capacidade de 250L. As coletas de cada repetição foram realizadas em dias diferentes, sendo uma repetição por tratamento/dia, totalizando três dias de coleta. Esses aquários possuíam sistema de recirculação contínua de água, com filtro físico-biológico e temperatura controlada por meio de termostato. Foram alojados 96 juvenis de tambaqui, com peso médio de 55,69±2,55g, sendo oito animais por unidade experimental. Durante o período experimental, os parâmetros de qualidade da água dos aquários foram: para o pH, o valor médio de 7,20±0,35 para temperatura 27,37±0,72 ºC, para a amônia 1,32±0,87mg.L^{-1} (N-NH_3) e para o oxigênio dissolvido 6,28±0,56 mg.L^{-1}.

Revista Agrarian
ISSN: 1984-2538

Tabela 1. Composição das dietas experimentais (%)

	Complexo enzimático (mL)			
Ingrediente (%)	**Controle – 0**	**100**	**150**	**200**
Farelo de soja	45,00	45,00	45,00	45,00
Glúten de milho	8,00	8,00	8,00	8,00
Farinha de peixe	10,00	10,00	10,00	10,00
Fubá de milho	18,00	18,00	18,00	18,00
Farelo de trigo	11,00	11,00	11,00	11,00
DL – metionina	0,07	0,07	0,07	0,07
Cr_2O_3	0,10	0,10	0,10	0,10
Óleo de soja	3,00	3,00	3,00	3,00
Fosfato bicálcico	3,50	3,50	3,50	3,50
Calcário	1,00	1,00	1,00	1,00
Vitamina C	0,05	0,05	0,05	0,05
Premix[1]	0,30	0,30	0,30	0,30
Solução enzimática (mL/Kg)	*0,00*	*100,00*	*150,00*	*200,00*
Dieta referência				
Energia Bruta (cal g^{-1})[2]	4259,23			
Proteína Bruta (%)[2]	34,58			
Extrato etéreo (%)[2]	6,45			

Laboratório de de Solos – Departamento de zootecnia – PUC-GO
[1]Suplemento vitamínico e mineral (*Supremais*) - níveis de garantia por kg 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; ac. fólico: 1.200mg; pantotenato Ca: 12.000mg; vit.C: 48.000mg; biotina: 48mg; colina: 65.000mg; niacina: 24.000mg; Fe: 10.000mg; Cu: 600mg; Mn: 4.000mg; I: 20mg; Co: 2mg; Se: 20mg.
[2]Composição determinada da matéria seca, energia bruta, proteína bruta e extrato etéreo da dieta referência.

Empregou-se a metodologia descrita por Pezzato et al. (2004), em que os peixes são arraçoados fora do sistema coletor de fezes. Os peixes foram alimentados de uma em uma hora das 8 às 12h, até saciedade aparente. Após 30 minutos da última alimentação os peixes foram transferidos para os aquários de fundo cônico, onde a coleta foi realizada de uma em uma hora até às 18h. O total de fezes de uma mesma repetição eram armazenados no mesmo pote. Os tanques possuíam um sistema coletor de fezes por gravidade, possibilitando a obtenção do material para análise. Após o período de alimentação e de coleta de fezes, realizou-se a limpeza nos aquários, preparando-os para um novo procedimento (repetição). Foram necessários três dias de coleta de fezes por grupo (repetição/dia) para cada tratamento. Feito isso, as fezes foram desidratadas em estufa com ventilação forçada a 55,0°C por 48 horas, moídas e armazenadas a -20,0°C. As análises químicas dos alimentos, das rações e das fezes foram realizadas segundo o AOAC (1995). A determinação da concentração de crômio-III, das fezes e das rações foram feitas segundo Bremer Neto et al. (2005). O coeficiente de digestibilidade aparente foi calculado com base na fórmula proposta por Cho et al. (1985):

$$Da_{(n)} = 100 - \left[100 \left(\frac{\%Cr_2O_{3r}}{\%Cr_2O_{3f}} \right) \times \left(\frac{\%N_f}{\%N_r} \right) \right]$$

Em que:
Da(n) = Digestibilidade aparente;
Cr_2O_3r = % de óxido de crômio-III na ração;
Cr_2O_3f = % de óxido de crômio-III nas fezes;
N r = Nutrientes na ração;
Nf= Nutriente nas fezes

Os dados foram submetidos à análise de variância e usou-se o teste Tukey para a comparação de médias, nível de 5,0% de probabilidade. O software utilizado foi o SAS, versão 9.0.

Revista Agrarian
ISSN: 1984-2538

Resultados e Discussão

Ensaio do complexo enzimático

Os resultados do ensaio do complexo enzimático demonstraram que sua atividade específica foi maior em pH 6,8 (Tabela 2).

Ruegger & Tauk-Tornisielo (2004) obtiveram atividade de 1,64UI/mL de CMCase com o cultivo de *Trichoderma harzianum* em meio de farelo de trigo após cultivo por 4 dias, a 25 ºC evidenciando que este fungo é potencialmente bom produtor de celulase, sob condições adequadas de cultivo. É importante ressaltar que não há produção endógena desta enzima em espécies de peixes, sendo as bactérias simbióticas celulolíticas responsáveis pela sua produção. A adição desta enzima na dieta favorece a digestão da celulose, melhorando o aproveitamento da fibra.

Tabela 2. Ensaio do complexo enzimático em tampão citrato/fosfato, em pH 5,0 e 6,8; 50 mmol.L^{-1} a temperatura de 40ºC.

Enzimas	Atividade específica (UI mL^{-1}) em pH 5,0	Atividade específica (UI mL^{-1}) em pH 6,8
Celulase total	2,27	3,08
CMCase	1,56	1,95
Avicelase	0,83	0,97
Xilanase	5,07	8,32
Amilase	16,75	20,09

Aguero et al. (1990) estudaram a influência do pH na síntese e liberação de glicoamilase produzida por *Aspergillus awamorii* NRRL 3112 e *Aspergillus niger* NRRL 337, em meio como substrato amiláceo a farinha de mandioca. Estes autores verificaram em valores crescentes de pH, de 3,0 a 6,0, uma maior atividade de enzima intracelular. Estes resultados foram similares aos obtidos neste trabalho, o que confirma a maior atividade enzimática em amilase (e também das outras enzimas) em pH 6,8. Bedford (1995) relata que enzimas exógenas devem agir sob as condições do trato digestório e que o grau de digestão do substrato deve ser significativo para promover maior digestibilidade e melhora no desempenho do animal. A ação digestiva da amilase inicia-se no esôfago e ocorre no decorrer de todo o trato gastrointestinal, comprovando resistência desta enzima a flutuações de pH, principalmente ao pH ácido do estômago (Baldisseroto, 2009).

Umsza-Guez et al. (2011) obtiveram alta atividade de xilanase em pH 5,0 e 50ºC em *A. awamorii* cultivado em bagaço de tomate, resultados também similares ao encontrados neste experimento, demonstrando a capacidade deste fungo em degradar os componentes da parede celular da célula vegetal, tornando assim uma boa alternativa para seu uso na nutrição de monogástricos. No caso da α-amilase, estes mesmos autores relatam que a produção permaneceu praticamente constante ao longo do 15 dias de fermentação, com valores médios de 21,5 UI mL^{-1}. Esses resultados revelam a grande capacidade deste fungo na degradação do amido. O amido é um nutriente importante na nutrição do tambaqui, pois, considerando o hábito alimentar desta espécie e a importância de frutos e sementes em sua alimentação na natureza, ele possui uma capacidade maior em aproveitar carboidratos nas dietas (Wilson, 1994; Wu et al., 2007).

Digestibilidade aparente (CDa)

Os valores obtidos estão de acordo com os parâmetros exigidos para o tambaqui, segundo Castro et al. (2002), Araújo-Lima e Goulding (1997) e Vidal Jr et al. (2004). Os resultados obtidos demonstraram que houve aumento nos coeficientes de digestibilidade aparente com a suplementação do complexo enzimático na ração, em relação ao controle (Tabela 3).

Foi possível observar aumento do CDa a medida que aumentaram-se a quantidade de complexo enzimático. Tal fato pode ser explicado devido ao contato prévio das enzimas com a dieta, melhorando a digestão dos nutrientes e facilitando a ação de enzimas endógenas.

Revista Agrarian
ISSN: 1984-2538

Tabela 3. Médias dos coeficientes de digestibilidade total aparente, da matéria seca (MS), da proteína bruta (PB) e da energia bruta (EB) das dietas.

	Tratamentos			
	Controle 0 mL	100mL	150mL	200mL
CDA MS (%)	51,47 [b]	59,04 [b]	61,41 [b]	71,30 [a]
CDA PB (%)	70,54[b]	84,23[a]	87,88[a]	82,24[a]
CDA EB (%)	45,68 [b]	44,47 [b]	64,44 [a]	44,40 [b]

Médias seguidas de letras iguais nas linhas não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Tratamentos = mL do complexo enzimático/kg da ração.

Para a digestibilidade da MS, o tratamento com 200 mL do complexo enzimático/Kg de ração obteve a maior digestibilidade, com 71,30%. Os resultados observados no atual estudo coincidem com os estudos realizados por Silva et al. (2007), indicando que a suplementação enzimática aumenta a digestibilidade aparente dos nutrientes das rações experimentais avaliadas.

Os peixes que receberam em sua dieta 200 ml de complexo enzimático por kg de ração obtiveram a melhor digestibilidade para a MS provavelmente devido a alta atividade de amilase e de celulases nas dietas experimentais. É importante considerar que dietas para essa espécie têm como principal nutriente energético o amido. Tal fato favorece a otimização da digestão das fibras que não são digeridas pelo tambaqui, pois estes não possuem enzimas para tal função (Baldisseroto, 2009). A presença de celulases no complexo enzimático pode ter sido um fator em destaque nos resultados alcançados, explicando a ação de degradação dos constituintes das paredes celulares presentes nos ingredientes à base de produtos vegetais. A celulase em conjunto com as xilanases e glucanases, constituem as principais enzimas de degradação dos PNAs (polissacarídeos não amiláceos), os quais não são sintetizadas pelos não-ruminantes, tornando biodisponíveis os monômeros de carboidratos, proteínas e lipídios das células vegetais para os peixes (Classen, 1996).

O CDa da PB aumentou com a adição do complexo enzimático à dieta, apresentando diferença significativa entre os tratamentos em relação ao controle ($p<0,05$). O tratamento com 150 mL do complexo enzimático kg^{-1} de ração obteve o melhor resultado. Isto pode ser atribuído à maior superfície de contato do substrato com a enzima e à consequente melhora da digestão da proteína da ração, disponibilizando o substrato para a ação das proteases do trato digestório do animal e do complexo enzimático (Guimarães et al., 2009). A utilização de enzimas exógenas nas rações reduz a síntese de enzimas endógenas, disponibilizando mais aminoácidos para a síntese proteica (Yin et al., 2001). A adição de enzimas na ração pode neutralizar os efeitos negativos dos fatores antinutricionais da proteína vegetal e otimiza a quebra de moléculas proteicas existentes (Sheppy, 2001).

Os resultados deste trabalho em relação ao CDA da PB divergem dos resultados obtidos por Carter & Houlihan (1994) que trabalhando com juvenis de salmão do Atlântico não obtiveram diferença significativa entre os tratamentos com e sem a adição de complexo enzimático. Cavero (2004) observou que a adição de protease exógena teve influência positiva no desempenho zootécnico de juvenis de pirarucu, que exigem alta concentração de proteína na dieta, em razão do seu hábito alimentar. Segundo Oliveira (2006), na maioria das pesquisas envolvendo a adição de enzimas exógenas em dietas para peixes, os coeficientes de digestibilidade aparente apresentam respostas positivas até um determinado nível de inclusão, demonstrando uma tendência de estabilização ou declínio, o que foi observado nos resultados obtidos nesse estudo.

Para a digestibilidade da EB, os peixes do tratamento contendo 150 mL do complexo enzimático kg^{-1} de ração obtiveram a maior digestibilidade, com 64,44%. Os resultados desse parâmetro não se ajustaram a nenhum modelo de regressão, apresentando média de 45,68; 44,47; 64,44 e 44,40, respectivamente entre os distintos tratamentos.

O aumento na digestibilidade da fração energética (EB) deve-se principalmente ao aumento na digestibilidade dos demais nutrientes da ração, proteína, lipídios e carboidratos, que podem ser utilizados como fonte energética (Günther, 1996), corroborando os resultados de Classen (1996), que relatou correlação positiva entre a digestibilidade do amido e o aumento da digestibilidade da energia da ração. Uma hipótese para o aumento da digestibilidade da fração energética obtida nesse

experimento seria o fato de a amilase ter disponibilizado uma quantidade elevada de glicose, oriunda de ingredientes como o farelo de soja, fubá de milho, glúten de milho e farelo de trigo contido na ração.

Oliveira (2006) avaliou os efeitos da suplementação de ração com um complexo enzimático contendo celulase, protease e amilase sobre a digestibilidade de nutrientes em juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) concluindo que a adição do complexo enzimático à ração, composta à base de farelo de soja e milho, melhora o coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca, proteína bruta, energia bruta, no nível de 0,05%, o que corrobora com os resultados apresentados para o tambaqui neste trabalho.

Os resultados obtidos no presente estudo mostram que do ponto de vista nutricional, a suplementação enzimática pode ser uma alternativa viável na nutrição de juvenis de tambaquis. Os resultados aqui obtidos sugerem que esta técnica pode ser usada na alimentação desta espécie.

Conclusão

O uso do complexo enzimático extraído do fungo *Aspergillus awamorii* quando adicionado à ração de juvenis de tambaqui melhorou a digestibilidade aparente da ração, aumentando o aproveitamento da matéria seca, da proteína bruta e da energia bruta.

Referências

ANDRIGUETO, J.M.; PERLY, L.; MINARDI, I. Nutrição animal. Paraná: Nobel, 1982. v.1. p. 395, 1982.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists/Official methods of analysis.17ed., Arlington. p. 1141, 1995.

ARAÚJO-LIMA, C.A e GOULDING, M.So fruitful a fish: ecology, conservation and aquaculture of the Amazon's tambaqui. **Columbia University press**. New York. p. 191, 1997.

BEDFORD, M.R. Mechanism of action and potential environmental benefits from the use of feed enzymes. **Anim. Feed Sci. Technol**., v.53, p.145-155, 1995.

BREMER NETO, H.; GRANER, C.A.F.; PEZZATO, L.E. et al. Determinação de rotina do crômio em fezes, como marcador biológico, pelo método espectrofotométrico ajustado da 1,5-difenilcarbazida. **Ciência Rural**, v.25, p.691-697, 2005.

CARTER, C.G., HOULIHAN, D.F., BUCHANAN. B., A. I. MITCHELL,. A.I. Growth and feed utilization efficiencies of seawater Atlantic salmon, *Salmo salar L.,* fed a diet containing supplementary enzymes. **Aquaculture Research**, v. 25, I. 1, p. 37–46, 1994.

CASTRO, A. L.; SOUZA, N. H.; BARROS, L. C., Avaliação do sistema de produção de Tambaqui intensivo em viveiro de terra com aeração. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento**. Comunicado Técnico**, Aracajú – Sergipe, 2002.

CAVERO, B.A.S. Uso de enzimas digestivas exógenas na alimentação de juvenis de Pirarucu, Arapaima gigas (Cuvier,1829). 2004. 79p. Tese (Doutorado) – Programa de Pós Graduação em Doutorado da Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2004.

CHO, C.Y., COWEY, C.W., WATANABE, T. Finfish nutrition in Asia: methodological approaches to research and development Otawa: **IDRC**, 1985.

CLASSEN, H.L. Cereal grain starch and exogenous enzymes in poultry diets. **Animal Feed Science and Technology**, v.62, p.21-27, 1996.

GUIMARÃES, I. G., FALCON, D. R. SCHICH, D., BARROS, M. M.,PEZZATO, L.E. Digestibilidade aparente de rações contendo complexo enzimático para tilápia-do-Nilo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.61, n.6, p.1397-1402, 2009.

GÜNTHER, J. Growth of tambaqui (Colossoma macropomum) juveniles at diferent carbohydrate-lipid ratios. **Journal of Aquaculture in the Tropics**, 11: 105-112, 1996.

MILLER, G. L. Use of dinitosalicylic acid reagent for the determination of reducting sugar. **Analytical Chemistry**, v.31, p. 426-428, 1959.

NRC (National Research Council).Nutrient Requirements of Fish. National Academy Press, Washington, DC, 114 pp. 2011.

OLIVEIRA, G.R. **Digestibilidade de nutrientes em ração com complexo enzimático para tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*).** 2006. Ano de obtenção 2006. 102p. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, 2006.

PEZZATO, L.E., BARROS, M.M., FRACALOSSI, D.M. et al. Nutrição de peixes. In: CYRINO, J.E.P., URBINATI, E.C., FRACALOSSI, D.M. et al. (Ed.). Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. São Paulo: Aquabil, 2004. p.75-172.

SADIKU, S.O.E.; JUANCEY, K. Digestibility, apparent amino acid availability and waste generation potential of soybean flour: poultry meat meal blend based diets for tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), fingerlings. **Aquaculture Research**, 26:651-657. 1995.

SHEPPY, C., The current feed enzyme market and likely trends. Enzyme In: Farm Animal Nutrition, CABI, New York, p. 1-10, 2001.

SILVA, J. A. M., PEREIRA-FILHO, M., CAVERO, B. A. S., OLIVEIRA-PEREIRA, M..I. Digestibilidade aparente dos nutrientes e energia de ração suplementada com enzimas digestivas exógenas para juvenis de tambaqui (*Colossoma macroporum* Cuvier 1818). **Acta Amazonica**, Manaus, v. 37, n.1, p. 157 – 164, 2007.

UMSZA-GUEZ, M.A., DÍAZ, A.B., ORY, I., BLANDINO, A., GOMES, E., CARO, I. Xylanase production by aspergillus awamori under solid state fermentation conditions on tomato pomace. **Brazilian Journal of Microbiology** v. 42, n. 1517-8382, p. 1585-1597, 2011.

VIDAL Jr. M.V.; DONZELE, J.L.; da SILVA CAMARGO, A.C.; de ANDRADE, D.R.; dos SANTOS, L.C. Níveis de proteína bruta para tambaqui (*Colossoma macropomum*), na fase de 30 a 250 gramas. Desempenho dos tambaquis. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 27, p. 421-426. 1998.

VIDAL JR., M.V.; DONZELE, J.L.; ANDRADE, D.R. et al. Determinação da digestibilidade da matéria seca e da proteína bruta do fubá de milho e do farelo de soja para tambaqui (*Colossoma macropomum*), utilizando-se técnicas com uso de indicadores internos e externos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p.2193-2200, 2004.

WALSH.G.A. et al. Enzymes in the animal feed industry. **Trends in Biotechnology**, v.11, n.10, p.946-957, 1993.

WILSON, R.P. Utilization of dietary carbohydrate by fish. **Aquaculture**, 124: 67-80, 1994.

WU, X.-Y.; LIU, Y.-L.; TIAN, L.-X.; MAI, K.-S.; YANG, H.-J. Utilization of different raw and pre-gelatinized starch sources by juvenile yellowfin seabream Sparus latus. **Aquaculture Nutrition**, 13: 389-396, 2007.

WOYNAROVICH, E. Tambaqui e Pirapitinga. Propagação artificial e criação de alevinos. Brasília, **CODEVASF**, p. 69,1986.

YIN, Y.-L.; BAIDOO, S.K.; JIN, L.Z. The effect of different carbohydrase and protease supplementation on apparent (ileal and overall) digestibility of nutrients of five hulless barley varieties in young pigs. **Livestook Production Science**, v.71, p.109-120, 2001.