

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS
PESQUEIROS E ENGENHARIA DE PESCA

GILDETE DE SOUZA BEZERRA

Inclusão de *Single Cell Protein* em dietas para peixes: uma avaliação sobre
a palatabilidade

Toledo

2021

GILDETE DE SOUZA BEZERRA

Inclusão de *Single Cell Protein* em dietas para peixes: uma avaliação sobre a palatabilidade

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca – Nível de Mestrado e Doutorado, do Centro de Engenharias e Ciências Exatas, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Área de concentração: Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Orientador: Prof. Dr. Pitágoras Augusto Piana

Coorientador: Wilson Rogério Boscolo

Nyamien Yahaut Sebastien

Toledo

2021

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Souza Bezerra, Gildete de
Inclusão de Single Cell Protein em dietas para peixes:
uma avaliação sobre a palatabilidade / Gildete de Souza
Bezerra; orientador Pitágoras Augusto Piana; coorientador
Nyamien Yahaut sebastien Wilson Rogério Boscolo. -- Toledo,
2021.

66 p.

Tese (Doutorado Campus de Toledo) -- Universidade
Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Engenharias e
Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Recursos
Pesqueiros e Engenharia de Pesca, 2021.

1. Palatabilidade. 2. Single Cell Protein. 3. Nutrição
animal. 4. Receptores de sabor. I. Piana, Pitágoras
Augusto, orient. II. Wilson Rogério Boscolo, Nyamien Yahaut
sebastien, coorient. III. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

GILDETE DE SOUZA BEZERRA

Inclusão de *Single Cell Protein* em dietas para peixes: uma avaliação sobre a palatabilidade

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca – Nível de Mestrado e Doutorado, do Centro de Engenharias e Ciências Exatas, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

Prof. Dr. Pitágoras Augusto Piana

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Presidente)

Prof. Dr. Éder André Gubiani

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Prof. Dr. Fábio Bittencourt

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Prof. Dr. Dacley Herts Neu

Universidade Federal da Grande Dourados

Prof^a. Dr^a. Lilian Dena dos Santos

Universidade Federal do Paraná

Aprovada em: 09 de agosto de 2021.

Local de defesa: Plataforma Google meet.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos
meus maiores
incentivadores, meus pais,
em especial a mainha, (*in
memorian*).

AGRADECIMENTOS

A Deus por tudo...

Aos meus pais (Maria Clarinete de Souza Bezerra e Gelson Bezerra da Silva) por todo apoio, “patrocínio” e incentivo durante esse ciclo que pareceu interminável!

Obrigada a mulher mais forte do universo, meu maior exemplo de determinação e ética. Sem você nada disso estaria acontecendo, obrigada por desde cedo me ensinar a importância de estudar e não medir esforços para que eu pudesse ter a melhor educação. A algum tempo não posso mais ligar para fofocar, contar dos experimentos que dão errado e ouvir que não devemos desistir e que e para continuar... Hoje encerro mais um ciclo e infelizmente não terei sua presença física, não terei sua participação em mais uma conquista totalmente influenciada por você, mas sei que estará sempre comigo em meu coração e mente, prometo que tentarei ser forte e continuarei com nossos planos. Muito Obrigada por ser minha mãe e por todos os ensinamentos.

Obrigada paiinho por nunca ter soltado a minha mão e não ter deixado eu desistir, obrigada por ter sido tão forte e continuar sendo meu porto seguro, referência de honestidade...

Às minhas amigas, Isabela e Kaliana que me apoiam em tudo e se fazem presente mesmo distante, meninas vocês são as melhores pessoas, obrigada por serem família.

À minha pequena, Coral, por me trazer calma, segurança, muitos lambeijos e um amor incondicional. E ao Aldo, por aturar meus surtos, choros e nunca cansar de dizer o quanto sou capaz.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Pitágoras A. Piana, por toda dedicação, atenção e cuidado com nosso trabalho, por sempre ter paciência comigo, por se fazer presente, mesmo as vezes dando uma de mestre dos magos! Obrigada por ser o melhor orientador que um pós-graduando poderia ter, obrigada por ter sido meu orientador ao longo desses anos de doutorado, sei que não foram fáceis, principalmente por eu não ser tão paciente quanto aparento, obrigada pelos vácuos e por responder às minhas perguntas que muitas vezes fogem do padrão. Muito obrigada por ter embarcado comigo em todas as alternativas para que eu pudesse ter uma tese e principalmente por sua conduta com seus orientados e agregados. Muito thanks e não irá se livrar de mim tão cedo!

Ao Prof. Dr. Wilson R. Boscolo por ter salvado meu doutorado, muito obrigada pelo plano C e suas contribuições para o trabalho.

Ao Prof. Dr. Nyamien Y. Sebastien, quando cheguei em Toledo o senhor tornou a minha primeira experiência fora de casa muito mais agradável e menos assustadora ao abrir as portas da sua casa e do InPAA. Por todo acolhimento científico e pessoal ao longo desses seis anos. Sempre serei grata por tudo!

A banca por terem aceito o convite tão prontamente e pelas considerações, meu muito obrigada!

A Vanilva e Juliana por passarem comigo por todos os perrengues, alegrias e sofrimento durante esse período que se agravou devido a pandemia, meninas muito obrigada sem vocês teria sido bem pior.

Ao programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca e todos os professores que fazem parte do mesmo, bem como aos secretários Carla e Uilian.

E a todos que contribuíram para este momento!

Inclusão de *Single Cell Protein* em dietas para peixes: uma avaliação sobre a palatabilidade

Resumo

Alimentos alternativos em substituição a farinha de peixe vem sendo estudado constantemente devido ser um recurso que se encontra sobreexplotado enquanto a demanda aumenta cada vez mais. E, no intuito de substituir este produto, o presente estudo objetivou avaliar a palatabilidade de *Single cell protein* em diferentes níveis de inclusão (3, 6, 9 e 12%) além de uma dieta controle sem a inclusão do *Single Cell Protein*, ofertadas durante cinco dias a juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e betta (*Betta splendens*) duas vezes ao dia, as 10 e 14 horas. Para tanto, foram utilizados 10 peixes de cada espécie distribuídos em aquários com capacidade de 10 L, em delineamento do tipo quadrado latino. Após cada período de alimentação foram realizadas filmagens com duração de 5 min cada, afim de obter os parâmetros de eficiência relativa de captura (*EDC*), ingestão relativa (*ING*), rejeição relativa de pélete (*RDP*), tempo relativo ao consumo inicial (*TCI*), tempo relativo ao consumo total (*TCT*) e o índice de palatabilidade (*IP*). Para a tilápia não foram encontrados efeitos significativos entre os tratamentos, no entanto, as dietas com 3 e 6% de inclusão de SCP mostram-se mais palatáveis. Enquanto que para o betta a dieta com os melhores resultados foi a com 12% de inclusão de SCP. Portanto, recomenda-se a inclusão de 6% de *Single cell protein* para tilápia do Nilo e de 12% para peixe betta.

Palavras-chave: nutrição de organismos aquáticos; comportamento alimentar; Manejo alimentar; Palatabilizantes; Substituição da farinha de peixe

Inclusion of Single Cell Protein in fish diets: a palatability evaluation

ABSTRACT

Alternative foods to replace fishmeal have been constantly studied because it is a resource that is stagnant while the demand is increasing more and more. Thus, the present study aimed to evaluate the palatability of Single cell protein at different inclusion levels (3,6,9 and 12%) together with the control diet offered during five days to Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and betta (*Betta splendens*) juveniles twice a day, at 10 am and 2 pm. After each feeding period, the fish were filmed for 5 min each, in order to obtain the parameters of relative capture efficiency (*RCE*), relative ingestion (*ING*), relative pellet rejection (*RDP*), relative time to initial consumption (*TCI*) and relative time to total consumption (*TCT*), and the palatability index (*PI*). For tilapia no significant effects were found between treatments, however, the diets with 3 and 6% SCP were shown to be more palatable. While for betta the diet with the best results was the one with 12% SCP. Therefore, the authors recommend the inclusion of 6% Single cell protein for Nile tilapia and 12% for betta fish.

Keywords: nutrition; aquatic organisms; feeding behavior

SUMÁRIO

Introdução Geral.....	12
Referências.....	13
Capítulo 1: Inclusão de <i>Single Cell Protein</i> em dietas de juvenis de tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>): uma avaliação sobre a palatabilidade.....	17
Introdução.....	18
Material e Métodos	19
Aquisição dos ingredientes e formulação das dietas.....	20
Formulação das dietas	21
Análises químicas.....	21
Ensaio de atratividade e palatabilidade	23
Análise Estatística.....	25
Resultados	26
Discussão	28
Conclusão.....	31
Agradecimentos.....	31
Referências	31
Capítulo 2: Palatabilidade de rações com inclusão de <i>single cell protein</i> em dietas de <i>Betta splendens</i> (Regan, 1910).....	42
Introdução.....	43
Material e Métodos	44
Ensaio.....	44
Elaboração das rações.....	44
Análises Químicas.....	46
Metodologia Experimental.....	48
Determinação da atratividade e da palatabilidade das rações.....	49
Análise estatística.....	50
Resultados	50
Discussão	53
Conclusão.....	56

Agradecimentos.....	56
Referências.....	56
Considerações Finais.....	63
Anexo.....	65

Efeitos da inclusão de *Single cell protein* em dietas para peixes de produção e ornamental

Introdução Geral

Na aquicultura, a alimentação dos organismos representa mais de 60% dos custos operacionais, sendo a fonte proteica o ingrediente mais caro (Asche & Oglend, 2016). A composição de aminoácidos, o excelente balanceamento, ser rica em vitaminas, minerais e ácidos graxos insaturados, bem como promover o crescimento das espécies, mesmo que estes não sejam de conhecimento, tornam a farinha de peixe a proteína de maior qualidade para diversas espécies da cadeia de produção (Xie et al., 2016).

A farinha de peixe é também, um dos ingredientes alimentares mais caros na ração de peixes, sendo o desenvolvimento de fontes alternativas para alimentação desses animais uma preocupação constante durante a formulação das dietas para organismos aquáticos, visto que o preço no mercado internacional continuará a aumentar devido a elevada procura e escassez de fontes naturais de peixes usadas como fonte de farinha de peixe, bem como a expansão global da aquicultura. Portanto, uma fonte alternativa para farinha de peixe, a qual tenha uma oferta estável e que seja barata, tem sido de interesse para nutricionistas e fabricas de rações em diversos lugares do mundo (Kim et al, 2021). No entanto, ocorre que apesar dos coprodutos, utilizados na substituição da farinha de peixe fornecerem benefícios financeiros e nutricionais às dietas dos peixes, a sua qualidade varia e o desequilíbrio dos aminoácidos limita seriamente o uso regular (Hernandez et al,2010; Wu et al, 2020).

Uma característica importante para novas fontes de proteínas é que elas não podem afetar negativamente a nutrição ideal necessária para o crescimento, saúde e qualidade do produto final (Zhao et al.2015). Também, as fontes alternativas devem ser economicamente viáveis, não poluentes, de fácil armazenamento e manuseio, garantindo sua sustentabilidade e um bom perfil de aminoácidos (Sweetman 2008). Existem algumas alternativas as quais apresentam as características mencionadas anteriormente, a exemplo do farelo de soja (Francis et al.,2001), proteínas de levedura (Ferreira et al., 2010), hidrolisados (Sanaz et al., 2015) e proteína de célula única (Single Cell Protein) (Ogello et al., 2014).

Portanto, se faz necessário a continuidade dos estudos voltados à substituição da proteína de origem animal nas elaborações das rações para organismos aquáticos bem como seus efeitos sobre aceitação e no desenvolvimento dos indivíduos (Sicuro, 2017), garantindo desse modo a redução de desperdício de alimentos, bem como fornecer novas alternativas alimentares de qualidade disponíveis no mercado (Tantikitti, 2014).

Referências

Asche, F. & Oglend, A. (2016). The relationship between input-factor and output prices in commodity industries: The case of Norwegian salmon aquaculture. *Journal of Commodity Markets*, 1, 35-47. <https://doi.org/10.1016/j.jcomm.2015.11.001>

Ferreira, I.M.P.L.V.O. Pinho, O. Vieira, E. & Taveira, J.G. (2010). Brewer's *Saccharomyces* yeast biomass: characteristics and potential applications. *Trends in Food Science & Technology*, 21, 77– 84. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.10.008>

Francis G., Makkar H.P.S. & Klaus B. (2001). Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*, 199, 197– 227. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00526-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00526-9)

Hernandez, C., Olvera-novoa, M. A., Hardy, R. W., Hermosillo, A., Reyes, C., & Gonzalez, B. (2010). Complete replacement of fish meal by porcine and poultry by-products meals in practical diets for fingerling Nile tilapia *Oreochromis niloticus*: Digestibility and growth performance. *Aquaculture Nutrition*, 16, 44– 53. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2008.00639.x>

Kim, J., Cho, S.H., Kim, T., & Hur, W.C. (2021). Substitution effect of fish meal with various sources of animal by-product meal in feed on growth, feed utilization, body composition, hematology and non-specific immune response of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*, Temminck & Schlegel, 1846). *Aquaculture Research*, 52, 2802-2817. <https://doi.org/10.1111/are.15132>

Sanaz, K., Hien, T. D. B., Samad, R., Mikael, H., Vincent, F., Sung-Sam, K., Joon-bum, J., & Kyeong-Jun, L. (2015). Dietary supplementation of marine protein hydrolysates in fish-meal based diets for red bream (*Pagrus major*) and olive flounder (*paralichthys*

olivaceus). *Aquaculture*, 435, 371– 376. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.10.019>

Sicuro, B. (2017). Nutrition in ornamental aquaculture: the raise of anthropocentrism in aquaculture?. *Reviews in Aquaculture*, 0,1-9.[doi:10.1111/raq.12196](https://doi.org/10.1111/raq.12196)

Sweetman, J. (2008). The role of yeast derived proteins in modern aqua feed formulations. *International AquaFeed*, 8, 19– 23.

Tantikitti, C. (2014). Palatabilidade alimentar e fontes alternativas de proteína na alimentação de camarão. *Songklanakarin Journal of Science Technology* , 36 ,51-55.

Wu, J.P., Liu, W., Wen, H., Zhou, Y., & Wu, J.J. (2020). Animal by-products with or without enzymatic hydrolysis completely replacement of fish meal in genetically improved farmed tilapia diets (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Research*, 52,291-301. <https://doi.org/10.1111/are.14892>

Xie, S. W., Liu, Y. J., Zeng, S., Niu, J., & Tian, L. X. (2016). Partial replacement of fish-meal by soy protein concentrate and soybean meal based protein blend for juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 464, 296 - 302. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.07.002>.

Zhao, L., Wang, W., Huang, X., Gou, T., Wen, W., Feng, W.W., Feng, L., Wei, L. (2015). The effect of replacement of fish meal by yeast extract on the digestibility, growth and muscle composition of the shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, 48,311-320. <https://doi.org/10.1111/are.12883>

Capítulo 1: Inclusão de *Single Cell Protein* em dietas para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*): uma avaliação sobre a palatabilidade

Inclusion of Single Cell Protein in diets for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): a palatability evaluation

ABSTRACT

The palatability of diets containing single cell protein (SCP) intended for *Oreochromis niloticus* juveniles were evaluated in experimental trials. In a Latin-Square design in duplicates, 5 diets, with levels of 0, 3, 6, 9 and 12% of SCP, were fed 2 times a day to 10 individuals for 5 days. The amount of feed offered was 30 pellets/meal/juvenile, and the following behaviors were observed: consumption, number of approach and rejection after capture, first pellet capture time and total capture time. Based on these variables, relative capture efficiency (EDC), relative intake (ING), relative pellet rejection (RDP), relative time to initial consumption (TCI) and relative time to total consumption (TCT) were computed, in addition to the palatability index. These facets were subjected to principal component analysis and the retained axes were evaluated with main effects ANOVA. Although no significant effects were observed between treatments, the 3% and 6% inclusions were satisfactory in terms of central trends. In conclusion, the results of this study indicate that the inclusion of up to 6% of SCP makes the feed more palatable.

Keywords: fish nutrition; attractiveness; sustainability in aquaculture; palatable ingredients; feeding behavior

Capitulo 1 foi elaborado e formatado conforme as normas da publicação científica *Aquaculture*. Disponível em: <<https://www.elsevier.com/journals/aquaculture/0044-8486/guide-for-authors>>*

**Inclusão de *Single Cell Protein* em dietas para juvenis de tilápia do Nilo
(*Oreochromis niloticus*): uma avaliação sobre a palatabilidade**

Bezerra, G.S.^{1*}; Fava, A.F.¹; Sebastien, N.Y.²; Boscolo, W.R.¹; Piana, P.A.¹

¹Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Jardim Santa Maria, Toledo-Paraná.

²Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Jardim Santa Maria, Toledo-Paraná.

*Autor correspondente: gildetesb@gmail.com

Resumo:

As palatabilidades de rações contendo *single cell protein* (SCP) destinadas à juvenis de *Oreochromis niloticus* foram avaliadas em ensaios experimentais. Em delineamento Quadrado-Latino em duplicatas, 5 rações, com níveis de 0, 3, 6, 9 e 12% de SCP, foram fornecidas 2 vezes ao dia a 10 indivíduos durante 5 dias. A quantidade de ração ofertada foi de 30 péletes/refeição/juvenil, sendo observados os seguintes comportamentos: consumo, número de aproximação e rejeição após captura, tempo de captura do primeiro pélete e tempo de captura total. Com base nestas variáveis, foram computados a eficiência relativa de captura (*EDC*), ingestão relativa (*ING*), rejeição relativa dos péletes (*RDP*), tempo relativo do consumo inicial (*TCI*), e tempo relativo do consumo total (*TCT*), além do índice de palatabilidade. Estas facetas foram submetidas a análise de componentes principais e os eixos retidos foram avaliados com ANOVA de efeitos principais. Embora não tenham sido observados efeitos significativos entre os tratamentos, as inclusões de 3% e 6% se mostraram satisfatórias em termos de tendências centrais. Em conclusão, os resultados deste estudo indicam que a inclusão de até 6% de SCP tornam a ração mais palatável.

Palavras-chave: Nutrição de peixes; atratividade; sustentabilidade; ingredientes palatáveis; comportamento alimentar

Introdução

O cultivo continental de organismos aquáticos é a atividade que mais contribui para produção mundial de peixes (FAO, 2018). Em 2018 a produção de organismos aquáticos chegou a 82 milhões de toneladas, sendo 51,3 correspondentes à aquicultura continental de peixes (FAO, 2020). Estes elevados patamares foram alcançados devido aos avanços científicos que ocorreram nos últimos 50 anos, os quais permitiram o melhoramento das condições voltadas para o funcionamento dos ecossistemas aquáticos, bem como a conscientização mundial da necessidade de haver uma administração sustentável (Vieira et al. 2018). Espera-se, ainda, que a produção da aquicultura continue a crescer, como parte da solução para fornecer alimentos para uma projeção de mais de nove bilhões de pessoas em 2050 (FAO, 2018).

No Brasil, a tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758), tem destaque por ser uma das principais espécies cultivadas devido à fácil reprodução, boa aceitação aos diversos tipos de alimentos e excelente desenvolvimento em cultivo intensivo (Osti, 2018). No entanto, o crescimento da tilapicultura deve alicerçar-se nos princípios de sustentabilidade, como o uso racional de recursos limitados (farinha e óleo de peixe), bem como a mitigação de impactos negativos oriundos de descargas de nutrientes no ambiente aquático (Aragão et al. 2019; Coldebella et al. 2020; Gentelini et al. 2021).

Nesse contexto, a alimentação artificial representa cerca de 50 a 70% do custo total das diversas fases de cultivos da tilápia (Arbeláez-Rojas et al. 2002), sendo a farinha de peixe uma das principais fontes proteicas utilizadas na formulação de rações (Suárez et al. 2009). No entanto, há um entrave para o uso contínuo desta proteína, visto que o aumento exponencial do mercado implica na possibilidade futura de maior procura, que tornará a oferta limitada ou até mesmo escassa, podendo aumentar os custos e diminuir os lucros na cadeia produtiva (Silva et al. 2017; Turchini et al. 2018).

Assim, a busca por ingredientes alternativos à farinha de peixe, que sejam economicamente viáveis, disponíveis, de igual ou superior teor proteico para serem utilizados na elaboração de dietas para peixes é um tema relevante e de total interesse à cadeia produtiva (Kavitha et al. 2018; Interaminense et al. 2019; Zhou et al. 2019; Kuebutornye et al. 2020). É também relevante que os ingredientes alternativos contribuam para redução de nitrogênio e fósforo eliminados no ambiente durante o cultivo (Coldebella et al. 2020), reduzindo o impacto ambiental causado pela atividade (Boyd & McNevin, 2015).

Os estudos já realizados neste contexto, em sua maioria, são concentrados em substituir ou reduzir o uso da farinha de peixe mantendo a qualidade da proteína, a atratividade e a palatabilidade da ração (Tacon & Metian, 2015; Apper et al. 2016), e permitem a substituição de até 50% da farinha de peixe durante o cultivo (Hardy, 2010). Alguns alimentos, como farelo de soja (Nascimento et al. 2019), resíduos de café e manga (Pimenta et al. 2011; Souza et al. 2013), bem como subprodutos da indústria de processamento de pescado, como hidrolisados proteicos, farinha de sangue, carcaça de peixes (Silva et al. 2017), plantas aquáticas (El-Sayed et al. 2000) e proteínas de célula única (SCP) (El-sayed & Tacon, 1997), já demonstram resultados satisfatórios no que diz respeito à substituição parcial ou total da fonte proteica principal (Nascimento et al. 2019; Sanches et al. 2019; Araujo et al. 2019; Alves et al. 2019ab).

As SCP correspondem a partículas de microrganismos desidratadas provenientes de leveduras, fungos, algas e bactérias que, por sua vez, podem ser usadas como fonte de proteína destinadas à alimentação de animais e humanos (Najafpour, 2015). O princípio deste processo consiste na reciclagem de nutrientes, mantendo uma relação entre carbono e nitrogênio ideal para o crescimento bacteriano heterotrófico, convertendo amônia em proteínas (Azim e Little, 2008). Desta maneira, os subprodutos derivados das SCP são altamente nutritivos e possuem em torno de 38% de proteínas, 3% de lipídios e 6% de fibras, considerados necessários para produção de diversos organismos, dentre eles a tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* (Widanarni et al. 2012).

Na escolha da proteína alternativa deve-se levar em consideração alguns aspectos, como a composição nutricional, o perfil dos aminoácidos, assim como palatabilidade, digestibilidade e desempenho zootécnico que os animais obtêm ao consumir esta fonte (Turchini et al. 2018), visto que, alimentos saborosos e nutritivamente equilibrados resultam em excelentes taxas de crescimento (Ogello et al. 2014). Sendo assim, a determinação de características como preferências alimentares (Carlberg et al. 2015), perfil aminoacídico e palatabilidade (Vinogradskaya & Kasumyan 2019; Alves et al. 2019) são importantes quanto a aceitabilidade do novo ingrediente. Com isso, diante do atual cenário pela busca de novos ingredientes, bem como sua aceitabilidade, o presente estudo teve por objetivo avaliar a palatabilidade de dietas formuladas com proteínas de célula única (*single cell protein* - SCP) em substituição à farinha de peixe, destinadas ao cultivo de juvenis de tilápia do Nilo.

Material e Métodos

Todos os procedimentos desenvolvidos neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA) da UNIOESTE, conforme o Certificado Experimental de Uso de Animais nº11/20. O ensaio experimental foi realizado em 10 aquários individuais, isolados, de capacidade para 10 L, dispostos no Laboratório de Aquicultura do Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura (GEMAQ), na Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE, *Campus* Toledo, PR, Brasil, durante o mês de novembro de 2019.

Aquisição dos ingredientes e Formulação das dietas

A *single cell protein* (SCP) utilizada foi fornecida pela empresa Brasil Foods S/A (BRF) e produzida pela multinacional String Bio[®]. A proteína foi obtida através da fermentação de gases (metano e nitrogênio) na água, formando nutrientes que foram consumidos por bactérias metanotróficas, *Methylococcus capsulatus*, dando origem a base da proteína. Em seguida a mesma foi separada do meio aquoso em que foi cultivada e devolvida ao fermentador com água e nutrientes. Por fim, a proteína foi seca e embalada para formulação das rações.

Cinco dietas experimentais isoproteicas e isoenergéticas foram formuladas de acordo com as necessidades nutricionais da espécie, como recomendado por Furuya (2010) (Tabela 1). Estas foram as seguintes:

1. C (controle) = dieta com nível de inclusão de 12% de farinha de peixe.
2. 3% SCP = dieta com nível de inclusão de 3% de single cell protein.
3. 6% SCP = dieta com nível de inclusão de 6% de single cell protein.
4. 9% SCP = dieta com nível de inclusão de 9% de single cell protein.
5. 12% SCP = dieta com nível de inclusão de 12% de single cell protein.

Tabela 1. Ingrediente utilizados das rações experimentais com farinha de peixe (Controle = C) e diferentes níveis de *single cell protein* (SCP), utilizadas para avaliação da atratividade e palatabilidade de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

Ingredientes	Rações				
	C	3% SCP	6% SCP	9% SCP	12% SCP
Fubá de milho	29,03	28,16	28,18	28,21	28,24
Farelo de soja (48%) ¹	21,84	21,18	20,59	20,00	19,41
Farinha de vísceras (aves)	19,76	19,17	19,16	19,15	19,14
Farinha de penas	10,31	10,00	10,00	10,00	10,00
Farinha de peixe (58%) ¹	12,00	9,00	6,00	3,00	0,00

Single cell protein (68%) ²	0,00	3,00	6,00	9,00	12,00
Quirera de arroz	5,15	5,00	5,00	5,00	5,00
Óleo de soja	2,52	2,45	2,62	2,80	2,98
Suplemento mineral e vitamínico ⁵	0,52	0,50	0,50	0,50	0,50
Sal comum	0,31	0,30	0,30	0,30	0,30
Calcário calcítico	0,27	0,26	0,52	0,78	1,04
Cloreto de colina	0,21	0,20	0,20	0,20	0,20
L-lisina HCL	0,19	0,18	0,20	0,22	0,24
Fosfato bicálcico	0,15	0,15	0,29	0,44	0,59
Vitamina C	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14
DL-metionina	0,11	0,10	0,10	0,10	0,09
Antifúngico ³	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
L- triptofano	0,09	0,09	0,06	0,03	0,00
Antioxidante (BHT) ⁴	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
L-treonina	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Total	100	100	100	100	100

^{1e 2} Teor proteico do ingrediente; ³Propionato de Cálcio; ⁴Butil-hidroxi-tolueno; ⁵Níveis de garantia por quilograma de produto: vit.A:1.750.000 UI; vit. D3:375000 UI; vit. K3: 500 mg, vit B1: 2000 mg; vit B2: 2500 mg; vit B6: 2500 mg; vit B12: 5000 mg; ácido fólico: 625 mg; pantotenato de cálcio: 7500 mg; vit C: 37500 mg; Biotina: 50 mg; inositol: 12500 mg; niacina: 8750 mg; colina: 100000 mg; cobalto: 50 mg; cobre: 1250 mg; ferro: 15000 mg; iodo: 100 mg; manganês: 3750 mg; selênio: 75 mg; zinco: 17500 mg.

Formulação das dietas

Os ingredientes foram triturados em moinho do tipo martelo e passados em peneira com 0,3 mm de malha. Em seguida, para cada formulação de ração foi acrescentado 20% de água e homogeneizado por 15 minutos em um misturador mecânico do tipo Y. Todas as rações foram extrusadas em 1,0 mm de diâmetro. Após a extrusão, foram secas em estufa de ventilação por 12 horas a 55°C.

Análise Química

As rações experimentais foram submetidas às análises para determinação da composição química, nas quais foram obtidos os níveis de fósforo total, lipídios, matéria mineral, proteína bruta, cálcio, energia digestível e fibra bruta (Tabela 2). As análises foram realizadas no Laboratório de Qualidade dos Alimentos (LQA) do GEMaQ, conforme metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2004).

Tabela 2. Composição química das rações experimentais com farinha de peixe (Controle = C) e diferentes níveis de *single cell protein* (SCP), utilizadas para determinação da atratividade e palatabilidade para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

Composição química	Rações				
	C	3% SCP	6% SCP	9% SCP	12% SCP
Cálcio (%)	1,88	1,88	1,88	1,88	1,89
Energia digestível*(kcal.kg ⁻¹)	3,40	3,40	3,40	3,40	3,40
Fibra bruta (%)	1,42	1,39	1,37	1,35	1,32
Fósforo total (%)	1,10	1,10	1,10	1,10	1,10
Lipídio (%)	7,99	8,08	8,16	8,25	8,34
Material mineral (%)	7,43	7,15	6,86	6,58	6,29
Proteína bruta (%)	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00

*A energia digestível para juvenis de tilápia.

Uma amostra de SCP foi enviada à um laboratório comercial (CBO Análises Laboratoriais Ltda) que realizou a composição de aminoácidos (Tabela 3), seguindo o método MA-009 (Hagen et al. 1989; White et al. 1986) e MA-010 (Bernardo e Soletto, 1980).

Tabela 3. Perfil percentual dos aminoácidos presente na *single cell protein* (SCP), utilizada na elaboração das dietas experimentais para determinação da atratividade e palatabilidade para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). ND = não detectado.

Aminoácidos	Composição química SCP	
	Livres	Não livres
Ácido aspártico	0,02	6,08
Ácido glutâmico	0,17	6,49
Serina	0,03	2,17
Glicina	0,69	3,81
Histidina	0,21	1,55
Taurina	ND	ND

Arginina	0,02	3,65
Treonina	0,30	2,81
Alanina	1,76	4,90
Prolina	0,54	2,68
Tirosina	0,63	2,67
Valina	1,03	3,81
Metionina	0,43	1,54
Cistina	0,16	0,47
Isoleucina	0,67	2,88
Leucina	1,13	5,21
Fenilalanina	0,45	3,07
Lisina	0,13	3,65
Triptofano	ND	1,51
Asparagina	ND	0,01
Glutamina	ND	0,03
Soma dos aminoácidos	8,37	58,99

Ensaio de atratividade e palatabilidade

Para o ensaio de atratividade e palatabilidade, 10 aquários foram equipados com sistemas de aeração, controle de temperatura (termostatos de 15 W) e iluminação (fita de *led*, branca, de 25 W), simulando as oscilações do ciclo circadiano (11 h de luz, 13 h de escuro). Tampas transparentes, com orifício centralizado, foram sobrepostas aos aquários para adição dos péletes de ração. Adicionalmente, uma barreira de polietileno foi colocada ao redor dos mesmos, com intuito de isolá-los da rotina diária do laboratório, bem como minimizar possíveis efeitos no comportamento dos animais, conforme recomendação de Alves et al. (2019).

Após equipar os aquários, cada um recebeu de forma aleatória, um juvenil de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) de aproximadamente $3,0 \pm 0,05$ g, os quais foram submetidos a 10 dias de adaptação para a rotina do laboratório. Neste período os juvenis receberam alimentação *ad libitum* de ração comercial peletizada a 1 mm, contendo 40%

de proteína bruta, às 10h e 15h, seguindo as recomendações de Andrade et al. (2015). No período de adaptação observou-se que os juvenis consumiram até 30 péletes por refeição.

Imediatamente após a adaptação, iniciou-se o ensaio para mensuração da palatabilidade das rações experimentais. O termo palatabilidade refere-se à condição de aceitação do alimento pelo peixe durante o processo que envolve aproximação, ingestão, recusa e tempo de captura do mesmo (Kasumyan e Morsi, 1995; Løkkeborg et al. 2014). Assim, após cada evento de alimentação, marcado pelo momento em que foram fornecidos os péletes aos peixes, os 5 minutos subsequentes foram filmados com câmera do tipo GoPro (Hero 5 Black 12 MP 4K), conforme recomendações de Kasumyan & Morsi (1996), Kasumyan & Døving (2003) e Kasumyan & Sidorov (2012). Posteriormente, as filmagens foram visualizadas para obtenção de variáveis relacionadas a palatabilidade, assim definidas:

$$EDC = CP/NA$$

$$ING = PC/NA$$

$$RDP = RP/CP$$

$$TCI = TCPP/TOT$$

$$TCT = TTCP/TOT$$

Onde: EDC é a eficiência relativa de captura; CP é o número de péletes capturados; NA = número total de abordagens; ING = ingestão relativa; PC = péletes consumidos; RDP = rejeição relativa de péletes; RP = número de péletes rejeitados; TCI = tempo relativo ao consumo inicial; TCPP = tempo de captura do primeiro pélete; TTO = tempo total de observação; TCT = tempo relativo ao consumo total; TTCP = tempo total de captura de péletes.

Para obtenção destas variáveis, 30 péletes de cada ração experimental (Controle, 3% SCP, 6% SCP, 9% SCP e 12% SCP) foram ofertados a cada peixe, às 10 h e às 15 h, durante 5 dias, por meio de um delineamento em Quadrado-Latino 5x5 em duplicata (Fig. 1). Esse delineamento foi escolhido por possibilitar o controle simultâneo das variações individuais dos peixes e da ordem de oferta das rações, visto que cada peixe recebeu, alternadamente entre os 5 dias, cada uma das rações (Sampaio, 2002). Como havia disponíveis 10 aquários, o Quadrado-Latino pôde ser realizado em duas réplicas.












		Grupos de Peixes				
		1	2	3	4	5
Dia	Hora					
1	 10 h  15 h	Controle	3% SCP	6% SCP	9% SCP	12% SCP
2	 10 h  15 h	3% SCP	6% SCP	9% SCP	12% SCP	Controle
3	 10 h  15 h	6% SCP	9% SCP	12% SCP	Controle	3% SCP
4	 10 h  15 h	9% SCP	12% SCP	Controle	3% SCP	6% SCP
5	 10 h  15 h	12% SCP	Controle	3% SCP	6% SCP	9% SCP

Figura 1. Esquema do delineamento em Quadrado-Latino utilizado para realização do ensaio de palatabilidade em juvenis de tilápia (*Oreochromis niloticus*). Controle = farinha de peixe, SCP = *single cell protein*.

O índice de palatabilidade (IP) (Kasumyan e Morsi, 1996) também foi calculado, visto que ele fornece uma medida da palatabilidade das rações de interesse em relação à ração controle. Como todos os juvenis receberam todas as rações, os *IPs* foram computados em relação à cada juvenil:

$$IP = (\text{consumo no tratamento} - \text{consumo no controle}) / (\text{consumo no tratamento} + \text{consumo no controle})$$

Diariamente, todos os aquários foram sifonados após a última alimentação para remover excretas e restos de comida, sendo neste momento realizada a renovação de 10% de água. Ao longo do experimento foram monitoradas a temperatura, pH e oxigênio dissolvido com o auxílio de sonda multiparâmetros. A amônia total também foi monitorada, porém pelo método descrito em APHA (2017). Todos os parâmetros foram mantidos dentro da faixa segura e confortável de qualidade de água indicada para o cultivo de juvenis de tilápia (Ridha e Cruz, 2001), sendo a temperatura mantida em $27,15 \pm 0,15$ C°; pH em $7,07 \pm 0,06$; oxigênio dissolvido em $5,81 \pm 0,11$ mg/l; e amônia total de $0,2 \pm 0,03$ ppm.

Análise Estatística

Foi realizado uma abordagem multivariada de análise estatística com o emprego da análise de componentes principais (PCA; Hothorn et al.,2008). Para retenção dos componentes interpretáveis utilizamos o critério de Kaiser-Guttman, segundo o qual, para que um componente seja interpretado, ele deve possuir variabilidade superior àquela esperada em média para uma variável (autovalor > 1 ; Guttman,1954; Kaiser,1960). Após identificar os componentes interpretáveis, avaliamos suas associações com as variáveis por meio da correlação de Pearson e empregamos sobre cada um deles a análise de variância (ANOVA) de efeitos principais, a qual é a indicada para o delineamento experimental empregado (Scheinner e Gurevitch, 1996).

Também utilizamos a ANOVA para avaliar o IP. Na ANOVA, consideramos como efeitos principais os juvenis, os dias, os períodos e o foco do estudo, as rações experimentais. Em caso de efeitos significativos na ANOVA, utilizamos o teste de Dunnett para comparações das médias contra o controle (Dunnett, 1955). Checamos os pressupostos da ANOVA nos resíduos, por meio dos testes de Shapiro-Wilk para normalidade e Levene para homogeneidade de variância e nenhuma transformação foi necessária para atingi-los. Todos os testes foram avaliados a 5% de probabilidade no software R (R Core Team,2019).

Resultados

As estatísticas descritivas das variáveis relacionadas à palatabilidade indicaram boa aceitação de todas as rações experimentais, com valores médios superiores a 85% para eficiência relativa de captura e ingestão relativa, rejeição relativa de péletes abaixo de 5% (com exceção da ração com 12% SCP que atingiu quase 20%), tempos para consumo do 1º pélete inferior a 13s, sendo os mais lentos observados no controle e no tratamento com 9% SCP; e tempo inferior a 61% (=183 s) para o consumo total observado (Tabela 4).

Tabela 4 – Médias \pm desvios padrões para eficiência relativa de captura (*EDC*), ingestão relativa (*ING*), rejeição relativa de péletes (*RDP*), tempo relativo ao consumo inicial (*TCI*), e tempo relativo ao consumo total (*TCT*), observados nos grupos formados pelas rações avaliadas (C = farinha de peixe, SCP = *single cell protein*).

Ração	<i>EDC</i>	<i>ING</i>	<i>RDP</i>	<i>TCI</i>	<i>TCT</i>
C	0,972 \pm 0,032	0,875 \pm 0,253	0,045 \pm 0,162	0,041 \pm 0,162	0,502 \pm 0,402
3% SCP	0,960 \pm 0,047	0,961 \pm 0,107	0,044 \pm 0,157	0,006 \pm 0,011	0,377 \pm 0,341
6% SCP	0,954 \pm 0,065	0,966 \pm 0,063	0,040 \pm 0,138	0,005 \pm 0,006	0,520 \pm 0,349

9% SCP	0,943±0,085	0,880±0,142	0,028±0,047	0,018±0,047	0,604±0,411
12% SCP	0,873±0,192	0,850±0,277	0,193±0,593	0,008±0,016	0,535±0,392

A abordagem multivariada foi eficiente e resumiu o conjunto de variáveis em dois componentes principais, sendo que o primeiro componente respondeu 55% da variabilidade total (autovalor = 1,62) e se mostrou associado positivamente com *RDP* e *TCT* e negativamente com *ING* e *EDC*. Este componente teve como fonte significativa de variação os indivíduos ($F_{(9, 81)} = 6,195$; $p < 0,0001$) controlados no quadrado latino, mas não para os dias ($F_{(4, 81)} = 0,572$; $p = 0,6839$), períodos ($F_{(1, 81)} = 0,002$; $p = 0,9614$), nem rações experimentais ($F_{(4, 81)} = 2,193$; $p = 0,0771$). Embora sem efeitos significativos, as tendências centrais dos tratamentos de SCP 3% e SCP 6% foram melhores que a da ração controle, enquanto dos tratamentos de 9% SCP e 12% SCP foram piores em termos das características de palatabilidade associadas ao primeiro componente (Fig. 2a).

O segundo componente representou 25% da variabilidade (autovalor = 1,13) e esteve negativamente associado com *TCI*. Este componente teve como fontes significativas de variação os dias ($F_{(4, 81)} = 3,314$; $p = 0,0145$) e os indivíduos ($F_{(9, 81)} = 2,040$; $p = 0,0450$) controlados no quadrado latino, mas não para o período ($F_{(1, 81)} = 2,061$; $p = 0,1550$) e nem as rações experimentais ($F_{(4, 81)} = 1,466$; $p = 0,2201$). Embora não significativos, as tendências centrais da ração controle e do tratamento de 9% SCP foram os mais lentos a iniciar o consumo de péletes (Fig. 2b).

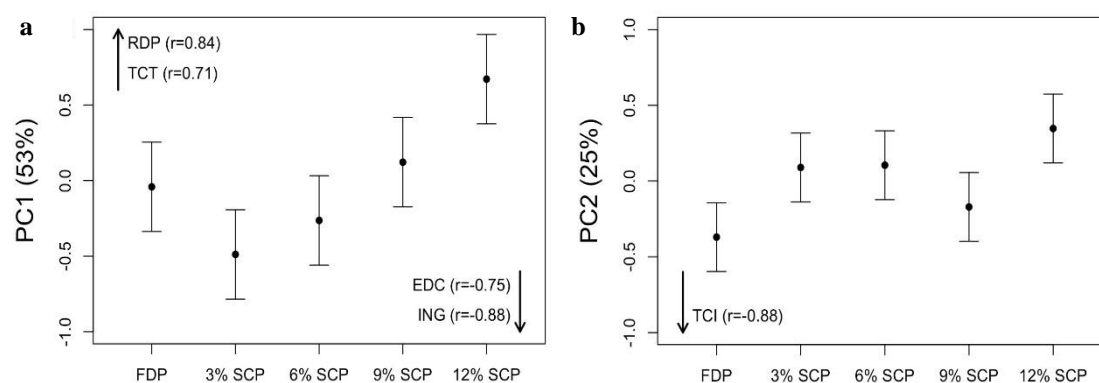


Figura 2 – Médias e intervalos de 95% de confiança computados da ANOVA de efeitos principais para o primeiro (a) e segundo (b) componentes da análise de componentes principais (PCA) aplicada sobre a matriz das variáveis: eficiência relativa de captura (*EDC*), ingestão relativa (*ING*), rejeição relativa de péletes (*RDP*), tempo relativo ao consumo inicial (*TCI*), e tempo relativo ao consumo total (*TCT*), observados nos grupos formados pelas rações avaliadas (FDP = farinha de peixe, SCP = *single cell protein*). Percentagens de explicação e correlações (*r*) das variáveis aos componentes principais (PC1 e PC2) também

são apresentados. O teste de Dunnett não foi realizado porque a ANOVA de efeitos principais não identificou efeito significativo.

O índice de palatabilidade (IP) computado em relação à ração controle teve como fontes de variação significativas os indivíduos ($F_{(9, 81)} = 5,013$; $p < 0,0001$) e os períodos ($F_{(1, 81)} = 10,53$; $p = 0,0019$), enquanto que os dias ($F_{(4, 81)} = 0,578$; $p = 0,6769$) e rações experimentais não foram significativas ($F_{(4, 81)} = 0,925$; $p = 0,4342$). Embora não significativas, as tendências centrais novamente indicaram os tratamentos de 3% SCP e 6% SCP como os mais palatáveis (Fig. 3), corroborando os resultados obtidos pelas tendências centrais dos componentes principais da PCA.

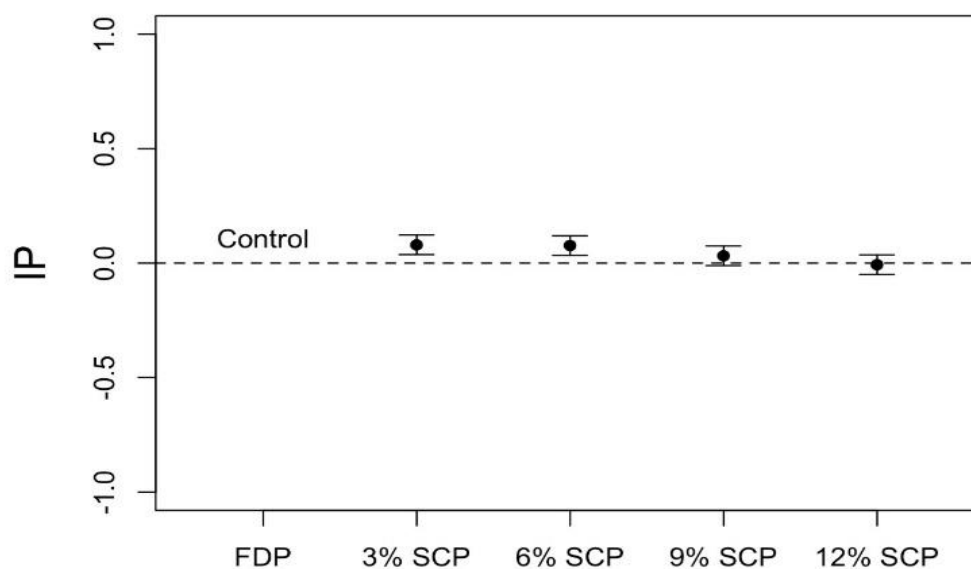


Figura 3 – Médias \pm intervalo de 95% de confiança para o índice de palatabilidade (IP) computado para os grupos formados pelas rações experimentais (SCP 3%, SCP 6%, SCP 9% e SCP 12%). Tratamento controle (FDP) representado pela linha tracejada.

Discussão

Estudos voltados para avaliação do comportamento alimentar dos animais são realizados desde os primórdios (Snowdon, 1999) e, como pode ser observado no presente estudo, é inquestionável que os peixes apresentam preferências por alimentos. O conhecimento de tal aspecto é de extrema importância para o manejo dos organismos, avaliação de bem-estar e resolução de problemáticas acerca dos métodos de criação (Volpato, 2007; Broom & Fraser, 2010).

As distintas facetas da palatabilidade avaliadas, bem como o índice utilizado, indicaram que dietas com diferentes níveis de inclusão de SCP em substituição à farinha de peixe foram relevantes. Embora não tenha sido obtida significância estatística, os tratamentos com inclusão de 3% e 6% de SCP obtiveram os maiores valores pontuais médios de ingestão e os menores de rejeição de péletes, tempo de captura do primeiro pélete e tempo total de captura. No entanto, o tratamento com SCP 9% resultou num prolongamento do tempo para o consumo total, e a inclusão de 12% de SCP resultou em aproximadamente 20% de rejeição dos péletes. Esses comportamentos podem ter relação com a composição dos aminoácidos presentes nas dietas, pois os mesmos podem ser denominados como estimulantes, e, por sua vez influenciam na atratividade do alimento (Løkkeborg et al. 2014). Os AAs que ganham mais notoriedade são a cisteína, betaína, ácido glutâmico, serina, glicina, alanina, prolina, metionina, fenilalanina, arginina, tirosina, valina, leucina e glutamina (Kasumyan e Morsi, 1996 ; Kasumyan, 1997; Kasumyan e Døving, 2003 ; Hara, 2011; Suresh, et al. 2011; Kasumyan e Sidorov, 2012 ; Alves et al. 2019; Alves et al. 2019b; Alves et al. 2020). Estando estes presentes na composição do SCP, com exceção da cisteína.

Alves et al. (2019) desenvolveram estudos voltados para inclusão de hidrolisados na alimentação de juvenis de tilápia do Nilo por meio da atratividade e palatabilidade. Em um dos estudos foi testado a substituição de farinha de peixe por 5% de diferentes tipos de hidrolisado proteico, no qual o de frango apresentou melhor índice de palatabilidade enquanto de fígado suíno obteve menor aceitação. Tais resultados corroboram com os encontrados por este estudo, para o índice de palatabilidade, consumo de pelete e número de rejeições de péletes após a captura. É sabido da existência da relação entre a composição química e a aceitabilidade dos alimentos pelos organismos, esta por sua vez varia de acordo com a espécie, pois cada indivíduo tem preferência quanto às características da dieta ofertada (Olsen e Lundh, 2016; Moraes, 2016; Alves et al. 2020).

De acordo com o NRC (2011), as proteínas quando digeridas são hidrolisadas em aminoácidos livres formando novas proteínas as quais são destinadas ao crescimento, reprodução e manutenção do indivíduo. Estes fatores podem ser relacionados também com a ingestão regular de ingredientes de boa qualidade os quais garantem ao peixe os aminoácidos necessários para formação e reposição de proteínas que serão metabolizadas pelo corpo (Fracalossi e Cyrino, 2013). Desta forma, o organismo produz mais aminoácidos tornando seu perfil aminoácídico mais diversificado em relação as demais dietas em virtude da presença de aminoácidos e peptídeos livres, sendo os mesmos mais

importantes para a palatabilidade da dieta (Kasumyan e Døving, 2003; Fracalossi e Cyrino, 2013). Sendo assim, é importante ressaltar que fazer o uso de estimulantes alimentares que permitam resultados positivos para o desempenho zootécnico do indivíduo é de extrema importância para cadeia produtiva (Felix e Sudharsan, 2004).

Em relação ao tempo de captura do primeiro pélete, a inclusão de 12% SCP apresentou atraso de 22 segundos em comparação com a dieta mais atrativa (3% SCP). Estes parâmetros influenciam de forma direta as questões ambientais relacionadas à qualidade da água, de forma que a procura e captura rápida do alimento reflete em menor lixiviação de nutrientes na água, reduzindo os teores de nitrogênio total e fósforo presentes no efluente e no consumo total da dieta, esta que será balanceada de acordo com as necessidades do peixe (Cyrino et al. 2010; Coldebella et al. 2018). Além disto, o uso de ingredientes com capacidade de detecção rápida pelo peixe desencadeia uma resposta positiva quanto à procura do alimento, bem como um estímulo extra-oral no paladar do peixe (Kasumyan e Døving, 2003; Hara, 2011b; Løkkeberg et al. 2014)

A palatabilidade de uma ração envolve dois componentes principais que são o perfil de aminoácidos e as exigências dos mesmos, pois como dito anteriormente os peixes têm a capacidade de detectar e reconhecer substâncias com sabor, e então, tomar a decisão de ingerir ou rejeitar, durante o exercício bucal, e ainda a quantidade a ser consumida (Løkkeberg et al., 2014; Olsen e Lundh, 2016). Estudos realizados por Kasumyan e Døving (2003) constataram que espécies da mesma família podem apresentar respostas distintas quanto ao mesmo estimulante alimentar.

Mesmo a composição aminoacídica não sendo o foco do presente estudo, demos importância a estes componentes devido aos inúmeros estudos classificando os mesmos como incitantes ou estimulantes, ou ainda, determinando a atratividade dos peixes por alimentos palatáveis, visto que os aminoácidos podem agir de forma individual ou em conjunto, no comportamento alimentar das espécies (Løkkeberg et al. 2014; Olsen e Lundh, 2016, Alves et al 2019; Alves et al. 2020). Visto que, Hu et al. (2008) indicaram melhora da palatabilidade quando a farinha de peixe foi substituída por ingredientes proteicos de origem animal com suplementação de lisina e metionina em dietas para carpa de gibel (*Carassius auratus gibelio*). Neste estudo, todas as dietas foram consideráveis atrativas e palatáveis para os juvenis de tilápia do Nilo, os autores acreditam que a aceitabilidade está relacionada com a composição dos aminoácidos presente na *single cell protein*.

Conclusão

Com base nas análises realizadas foi possível constatar que não ocorreram diferenças entre os alimentos (farinha de peixe, 3% de SCP, 6% de SCP, 9% de SCP e 12 % de SCP). Contudo, para melhor aproveitamento do alimento, bem como menor uso de ingredientes, evitando o desperdício, recomendamos a inclusão de até 6% de SCP.

Agradecimentos

A empresa BRF Ingredient's pela doação dos ingredientes e pelo financiamento das análises de aminoácidos.

Ao Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura - GEMAq, da Universidade do Oeste do Paraná – UNIOESTE, *campus* de Toledo-PR, pela disponibilização dos estudos laboratoriais e suporte técnico.

Referências

- Alves, D.R.S., Silva, T.C., Rocha, J.D.M., Oliveira, S.R., Signor, A., & Boscolo, W.R. (2019a). Compelling palatability of protein hydrolysates for Nile tilapia juveniles. *Latina American Journal of Aquatic Research*, 47(2),371-376. <https://doi.org/10.3856/vol47-issue2-fulltext-19>
- Alves, D.R.S., Oliveira, S.R., Luczinski, T.G., Boscolo, W.R., Bittencourt, F., Signor, A., & Detsch, D.T. (2020). Attractability and palatability of liquid protein hydrolysates for Nile tilapia juveniles. *Aquaculture Research*, 00,1-8. <https://doi.org/10.1111/are.14514>
- Alves, D.R.S., Oliveira, S.R., Luczinski, T.G., Paulo, I.G.P., Boscolo, W.R., Bittencourt, F., & Signor, A. (2019b). Palatability of protein hydroliysates from industrial byproducts for Nile tilapia juveniles. *Animals*. 9,311. <https://doi.org/10.3390/ani9060311>
- Andrade, C.L., Rodrigues, F.S., Carvalho, D.P., Pires, S.F., & Pires, M.F. (2015). Nutrição e alimentação de tilápias do Nilo. *Nutritime revista Eletrônica*. 12,4464-4469.
- APHA, (2017). Water and Wastewater Examination Manual. Routledge. <https://doi.org/10.1201/9780203734131>

Apper, E., Weissman, D., Respondek, F., Guyonvarch, A., Baron, F., Boisot, P., Rodiles, A., & Merrifield, D.L. (2016). Hydrolysed wheat gluten as part of a diet based on animal and plant proteins supports good growth performance of Asian seabass (*Lates calcarifer*), without impairing intestinal morphology or microbiota. *Aquaculture*, 453, 40–48. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.11.018>

Aragão, C., Cabano, M., Colen, R., Fuentes, J., & Dias, J. (2019). Alternative formulations for gilthead seabream diets: Towards a more sustainable production. *Aquaculture Nutrition*, 00, 1–12. <https://doi.org/10.1111/anu.13007>

Araujo, M.T., Braga, I.F.M., Cisneros, S.V., Silva, S.M.B.C., Galvez, A.O., & Correia, E.S. (2019). The intensive culture of Nile tilapia supplemented with the microalgae *Chlorella vulgaris* in a biofloc system. *Boletim do Instituto de Pesca*, 45, 398. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2019.45.2.398>.

Arbeláez-Rojas, G.A., Fracalossi, D.M., & Fim, J.D.I. (2002). Body composition of tambaqui, *Colossoma macropomum*, and matrinxã, *Brycon cephalus* when raised in intensive (Igarapé Channel) and semi-intensive (pond) culture systems. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 31, 1059– 1069. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982002000500001>.

Azim, M.E., & Little, D.C., (2008). The biofloc technology (BFT) in indoor tanks: Water quality, biofloc composition and growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 283, 29 – 35. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.06.036>

Bernardo, L., & Sotelo, A. (1980). Effect of alkalies, temperature and hydrolysis times on tryptophan determination of pure proteins and of food. *Analytical Biochemistry*, 109, 192–197. [https://doi.org/10.1016 / 0003-2697 \(80\) 90028-7](https://doi.org/10.1016 / 0003-2697 (80) 90028-7)

Boyd, C., & McNevin, A. (2015). *Aquaculture, Resource Use, and the Environment*, in: Wiley, J., Inc, S. An overview of aquaculture, Hoboken, New Jersey, pp.1–20.

Broom, D. M., & Fraser, A. F. (2010). *Comportamento e bem-estar de animais domésticos*. Tradução de Carla Forte Maiolino Molento. 4. Ed. São Paulo: Manole.

Carlberg, H., Cheng, K., Lundh, T., & Brannas, E. (2015). Using self-selection to evaluate the acceptance of new diet formulation by farmed fish. *Applied Animal Behaviour Science*, 171,226-232. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2015.08.016>

Coldebella, A., Gentelini, A.L., Piana, P.A., Coldebella, P.F., Boscolo, W.R., & Feiden, A. (2018). Effluents from fish farming ponds: a view from the perspective of its main components. *Sustainability*, 10, <https://doi.org/10.3390/su10010003>

Coldebella, A., Godoy, A.C., Gentelini, A.L., Piana, P.A., Coldebella, P.F., Boscolo, W.R., & Feiden, A. (2020). Nitrogen and phosphorus dynamics in Nile tilapia farming in excavated rearing ponds. *Research Society and Development*, 9, e1319119699. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i11.9699>

Cyrino, J.E.P., Bicudo, A.J.A., Sado, R.Y., Borghesi, R., & Dairiki, J.K. (2010). A piscicultura e o ambiente - o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39 ,68-87. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010001300009>

Dunnett, C.W. (1955). A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. *Journal of the American Statistical Association*, 50,1096–1121. <https://doi.org/10.2307/2281208>

El-Sayed, A.F.M., & Tacon, A.G.J. (1997). Fish meal replacers for tilapia: A review. In: Tacon AGJ, Basurco B (eds) *Feeding Tomorrow's Fish*, pp. 205–224. CIHEAM, Zaragoza.

El-Sayed, A.F.M., Nmartínez, I., & Moyano, F. (2000). Evaluation of the effect of plant inhibitors on digestive proteases of Nile tilapia using in vitro assays. *Aquaculture International*, 8, 403-415. <https://doi.org/10.1023/A:1009262407725>

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. *The State of World Fisheries and Aquaculture*. 2020. Rome. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>

FAO - The State of World Fisheries and Aquaculture 2018-Meeting the sustainable development goals. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO

Felix, N., & Sudharsan, M. (2004). Effect of glycine betaine, a feed attractant affecting growth and feed conversion of juvenile freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture Nutrition*, 10, 193-197. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2004.00292.x>

Fracalossi, D.M., & Cyrino, J.E.P. (2013). Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira, in: Gonçalves, L.U., Rodrigues, A.P.O., Moro, G.V., Cargnin-Ferreira, E., & Cyrino, J.E.P. (Eds.), *Morfologia e fisiologia dos sistema digestório de peixes*, *Sociedade Brasileira de Aquicultura e biologia aquática*, Florianópolis, pp.9-36.

Furuya, W.M. (2010). *Tabelas Brasileiras para Nutrição de Tilápias*, 1st ed. Toledo, Paraná.

Gentelini, A.L., Oxford, J.H., Godoy, A.C., Coldebella, A., Piana, P.A., Feiden, A., & Boscolo, W.R. (2021). The influence of aquaculture on the hydro-geochemistry of a neotropical aquatic system. *Aquaculture*, 533, 736179. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736179>

Guttman, L. (1954). Some necessary conditions for common-factor analysis. *Psychometrika*, 19, 149-161. <https://doi.org/10.1007/BF02289162>

Hardy, R.W. (2010). Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquaculture Research*, 4, 770-776. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02349.x>

Hagen, S.R., Frost, B., & Augustin, J. (1989). Precolumn phenyl isothiocyanate derivatization and liquid chromatography of amino-acids in food. *Journal of the Association of Official Analytical Chemistry*, 72, 912-916.

Hara, T.J. (2011). Smell, taste, and chemical sensing/chemoreception (smell and taste): An introduction, in: Farrell, AP (Eds.), *Encyclopedia of fish physiology* 183–186. San Diego, CA: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374553-8.00021-6>.

Hothorn, T., Bretz, F., & Westfall, P. (2008). Simultaneous inference in general parametric models. *Biometrical Journal*, 50,346-363. <https://doi.org/10.1002/bimj.200810425>

Hu, M., Wang, Y., Wang, Q., Zhao, M., Xiong, B., Qian, X., Zhao, Y., & Luo, Z. (2008). Replacement of fish meal by rendered animal protein ingredients with lysine and methionine supplementation to practical diets for gibel carp, *Carassius auratus gibelio*. *Aquaculture*, 275, 260-265. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.01.005>

Instituto Adolfo Lutz. (2004). Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análises de alimentos. IMESP, São Paulo.

Interaminense, J.A., Vogeley, J.L., Gouveia, C.K., Portela, R.S., Oliveira, J.P., Silva, S.M., & Bezerra, R.S. (2019). Effects of dietary *Bacillus subtilis* and *Shewanella* algae in expression profile of immune-related genes from hemolymph of *Litopenaeus vannamei* challenged with *Vibrio parahaemolyticus*. *Fish Shellfish Immunol.* 86,253–259.<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.11.051>

Kaiser, H.F. (1960). The application of electronic computers to factor analysis. *Research article*. 20,141-151. doi.org/10.1177/001316446002000116

Kasumyan, A.O. (1997). Gustatory reception and feeding behavior in fish. *Journal of Ichthyology*, 37, 78–93.

Kasumyan, A.O., & Døving, K.B (2003). Taste preferences in fishes. *Fish and Fisheries*, 4,289-347. <https://doi.org/10.1046/j.1467-2979.2003.00121.x>

Kasumyan, A.O., & Morsi, A.M.Kh. (1996). Taste sensitivity of common carp *Cyprinus Carpio* to free aminoacids and classical taste substances. *Journal of Ichthyology*, 36,391-403.

Kasumyan, A.O., & Sidorov, S.S. (2012). Effects of the long-term anosmia combined with vision deprivation on the taste sensitivity and feeding behaviour of the rainbow trout *Parasalmo (Oncorhynchus) mykiss*. *Journal of Ichthyology*, 52, 109–119.

Kavitha, M., Raja, M., & Perumal, P. (2018). Evaluation of probiotic potential of *Bacillus* spp. isolated from the digestive tract of freshwater fish *Labeo calbasu* (Hamilton, 1822). *Aquaculture Reports*, 11, 59-69. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2018.07.001>

Kuebutornye, F.K., Abarike, E.D., Lu, Y., Hlordzi, V., Sakyi, M.E., Afriyie, G., Wang, Z., Li, Y., & Xie, C.X. (2020). Mechanisms and the role of probiotic *Bacillus* in mitigating fish pathogens in aquaculture. *Fish Physiology and Biochemistry*, 46,819-841. <https://doi.org/10.1007/s10695-019-00754-y>

Løkkeborg, S., Siikavuopio, S.I., Humborstad, O.B., Palm, A.C.U., & Ferter, K. (2014). Towards more efficient longline fisheries: Fish feeding behavior, bait characteristics and development of alternative baits. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 24, 985–1003. <https://doi.org/10.1007/s11160-014-9360-z>

Moraes, S. (2016). The Physiology of Taste in Fish: Potential Implications for Feeding Stimulation and Gut Chemical Sensing. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 25, 133–149. <https://doi.org/10.1080/23308249.2016.1249279>

Najafpour, G.D. (2015). Single cell protein. In: GD. Najafpour (2nd ed.), *Biochemical engineering and biotechnology*, Nova York,pp.417-434.

Nascimento, A.A., Melo, J.F.B., Souza, A.M., & Melo, F.V.S.T. (2019). Inclusion of mesquite pod meal (*Prosopis juliflora*) in diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles. *Boletim do Instituto de Pesca*, 45, e425. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2019.45.3.425>

NRC, (2011). *Nutrient requirements of fish and shrimp*. National Academies Press, Washington D. C., USA.

Ogello, E.O., Munguti, J.M.M., Sakakura, Y., & Hagiwara, A. (2014). Complete replacement of fish meal in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) grow-out with alternative protein sources. A review. *International Journal of Advanced Research*, 2, 962-978.

Olsen, K.H., & Lundh, T. (2016). Feeding stimulants in an omnivorous species, crucian carp *Carassius carassius* (Linnaeus,1758). *Aquaculture Reports*, 4, 66–73. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2016.06.005>

Osti, J.A.S., Moraes, M.A.B., Carmo, C.F., & Mercante, C.T.J. (2018). Nitrogen and phosphorus flux from the production of Nile tilapia through the application of environmental indicators. *Brazilian Journal of Biology*,78,25-31. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.02116>.

Pimenta, C.J., Oliveira, M.M., Ferreira, L.O., Pimenta, M.E.S.G., Logato, P.V.R., Leal, R.S., & Murgas, L.D.S. (2011). Aproveitamento do resíduo do café na alimentação de tilápia do Nilo. *Archivos de Zootecnia*, 60,583-593. <https://doi.org/10.4321/S0004-05922011000300047>.

R Core Team (2019). R: A Language and environment for statistical computing R Foundation for statistical computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>

Ridha, M.T., & Cruz, E.M. (2001). Effect of biofilter media on water Quality and biological performance of the tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) reared in a simple recirculating system. *Aquacultural Engineering*, 24, 157–166. [https://doi.org/10.1016/S0144-8609\(01\)00060-7](https://doi.org/10.1016/S0144-8609(01)00060-7)

Sampaio, I.B.M. (2002). Estatística aplicada à experimentação animal. 2.ed. Belo Horizonte, FEPMVZ, pp.265

Sanches, E.G., Herrera, L.A., Sato, L.Y., Borges, J.S., Machado, T.M., & Kuhnen, V.V. (2019). Salted sardine residue to feed cobia: zootechnic advantages and histological

responses. *Boletim do Instituto de Pesca*, 45, e.442. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2019.45.1.442>

Scheiner, S.M., & Gurevitch, J. (2001). *Design and analysis of ecological experiments*. Second ed. Oxford University Press.

Silva, T.C., Rocha, J.D.M., Moreira, P., Signor, A., & Boscolo, W.R. (2017). Fish protein hydrolysate in diets for Nile tilapia post-larvae. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 52, 485-492. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2017000700002>

Snowdon, C.T. (1999). O significado da pesquisa em comportamento animal. *Estudos de Psicologia*, 4, 365-373. <https://doi.org/10.1590/S1413-294X1999000200011>

Souza, R.C., Melo, J.F.B., Nogueira Filho, R.M., Campeche, D.F.B., & Figueiredo, R.A.C.R. (2013). Influence of mango flour on growth and body composition of Nile tilapia. *Archivos de Zootecnia*, 62, 217-225. <https://doi.org/10.4321/S0004-05922013000200007>.

Suárez, J.Á., Gaxiola, G., Mendoza, R., Cadavid, S., Garcia, G., Alanis, G., Suárez, A., Facillace, J., & Cuzon, G. (2009). Substitution of fish meal with plant protein sources and energy budget for white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Aquaculture*, 289, 118- 123. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.01.001>

Suresh, A.V., Vasagam, K.P.K., & Nates, S. (2011). Attractability and palatability of protein ingredients of aquatic and terrestrial animal origin, and their practical value for blue shrimp, *Litopenaeus stylirostris* fed diets formulated with high levels of poultry by product meal. *Aquaculture Amsterdam*, 319, 132–
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.06.039>

Tacon, A.G.J., & Metian, M. (2015). Feed Matters: Satisfying the Feed Demand of Aquaculture. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 23, 1-10. <https://doi.org/10.1080/23308249.2014.987209>

Turchini, G.M., Trushenski, J.T., & Glencross, B.D. (2018). Thoughts for the future of aquaculture nutrition: realigning perspectives to reflect contemporary issues related to the judicious use of marine resources in aquafeeds. *North American Journal of Aquaculture*, 81, 13–39, <https://doi.org/10.1002/naaq.10067>.

Vieira, B.C.R., Mendonca, P.P., Deminicis, B.B., Selvatici, P.D.C., & Demicies R.G.S. (2018). Performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed with diets containing caffeine. *International Journal of Fisheries and Aquaculture*, 10,109-115. <https://doi.org/10.5897/IJFA2018.0690>

Vinogradskaya M.I. Kasumyan, A.O. (2019). Palatability of water organisms for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Cichlidae). *Jornal of Ichthyology*, 59,318-328. <https://doi.org/10.1134/S0032945219030196>

Volpato, G.L.; Freitas, E.G.; Castilho, M.F. (2007). Insights into the concept of fish welfare. *Diseases of Aquatic Organisms*, 75,165-171. doi: 10.3354 / dao075165.

White, J.A., Hart, R.J., & Fry, J.C. (1986). An evaluation of the waters pico-tag system for the amino-acid-analysis of food materials. *Journal of Automatic Chemistry*, 8, 170-177.

Widanarni., Ekasari, J., & Maryam, S. (2012). Evaluation of biofloc technology application water quality and production performance of red tilapia *Oreochromis sp.* cultured at diferente stocking densities. *HAYATI Journal of Biosciences*, 19,73-80. <https://doi.org/10.4308/hjb.19.2.73>

Zhou, S., Song, D., Zhou, X., Mao, X., Zhou, X., Wang, S., & Qin, Q. (2019). Characterization of *Bacillus subtilis* from the gastrointestinal tract of hybrid Hulong grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* × *E. lanceolatus*) and its effects as probiotic additives. *Fish & Shellfish Immunology*, 84,1115–1124. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.10.058>

**Capítulo 2: Palatabilidade de rações com inclusão de *single cell protein* em dietas
de *Betta splendens* (Regan, 1910)**

Palatability of diets including single cell protein for *Betta splendens*
(Regan, 1910)

ABSTRACT

Single cell protein (SCP) is a highly nutritional ingredient with great potential for use in the food industry, provided that it is accepted by the body. Thus, this study evaluated the palatability of SCP-supplemented diets for betta fish, *Betta splendens*. To this end, five experimental diets were formulated with 0, 3, 6, 9 and 12% SCP as a fishmeal replacement. The diets were fed individually to 10 bettas, at 10 am and 3 pm, for 5 days, following a Latin-Square experimental design in duplicate, in which all fish alternately received all diets. All feedings were filmed for 5 min. From the videos, pellet capture efficiency, intake, relative time to capture the first pellet, and relative time to total consumption were obtained. These variables were analyzed individually and combined using principal component analysis and palatability index. The results indicated that the inclusion of 12% SCP generated higher palatability in the feed, thus *Betta splendens* is recommended.

Keywords: palatability; ornamental aquaculture; fish feed; fish nutrition; taste receptors

Capitulo 2 foi elaborado e formatado conforme as normas da publicação científica *Aquaculture Research*. Disponível em: <<https://www.elsevier.com/journals/aquaculture/0044-8486/guide-for-authors>>*

Palatabilidade de rações com inclusão de *single cell protein* em dietas de *Betta splendens* (Regan, 1910)

Bezerra, G.S.^{1*}; Fava, A.F.¹; Sebastien, N.Y.²; Boscolo, W.R.¹; Piana, P.A.¹

¹Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Jardim Santa Maria, Toledo-Paraná.

²Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Jardim Santa Maria, Toledo-Paraná.

*Autor correspondente: gildetesb@gmail.com

Resumo:

Single cell protein (SCP) é um ingrediente altamente nutricional com grande potencial para uso na indústria alimentícia, desde que aceito pelo organismo. Assim, neste estudo foi avaliada a palatabilidade de rações suplementadas com SCP em dietas para peixes betta, *Betta splendens*. Para isto foram formuladas cinco rações experimentais com 0, 3, 6, 9 e 12% de SCP em substituição a farinha de peixe. As rações foram ofertadas individualmente a 10 bettas, as 10 e 15 h, durante 5 dias, seguindo um delineamento experimental Quadrado-Latino em duplicada, no qual todos os peixes receberam alternadamente todas as rações. Todas as alimentações foram filmadas por 5 min. A partir dos vídeos foram obtidas a eficiência de captura de pélete, a ingestão, o tempo relativo de captura do primeiro pélete e o tempo relativo de consumo total. Estas variáveis foram analisadas individualmente e combinadas por meio da análise de componentes principais e do índice de palatabilidade. Os resultados indicaram que a inclusão de 12% de SCP gerou maior palatabilidade na ração, sendo assim, recomendada *Betta splendens*.

Palavras-chave: palatabilidade; aquicultura ornamental; ração para peixe; nutrição de peixes; receptores de sabor

Introdução

O comércio de peixes ornamentais é considerado pela indústria global uma atividade altamente rentável, com valor estimado entre 300 milhões de dólares provindos da comercialização de aproximadamente 400 milhões de unidades de espécies (Prathvi, et al., 2013; Yamamoto et al., 2021). Embora altamente lucrativa, essa atividade ainda é predominantemente extrativista, com cerca de 95% dos indivíduos obtidos diretamente de seus ambientes naturais (Murray & Watson, 2014). Dessa forma, a aquicultura surge como um meio de mitigar os impactos negativos dessa exploração (Moorhead & Zeng, 2015).

O cultivo de peixes ornamentais enfrenta os mesmos gargalos da produção de peixes destinados ao consumo humano, em especial à disponibilidade de farinha de peixe, principal fonte proteica utilizada nas rações (Sicuro, 2017; Velasco-Santamaría & Corredor-Santamaría, 2011). Isto deve-se ao crescimento da aquariofilia devido a elevada diversidade de peixes que apresentam grande apelo visual (Allen et al., 2017; Sneddon & Wolfenden, 2018), sendo o betta uma das principais espécies destinadas ao aquarismo (Novák et al., 2020).

O *Betta splendens*, mais conhecido popularmente como peixe lutador siamês, tem origem no Sudeste Asiático (Gianecchini et al., 2012) e ganhou destaque no mercado ornamental devido as características atrativas como variedade de cores e nadadeiras longas e largas (Zuanon et al., 2009; Novák et al., 2020), principalmente nos machos (Thongprajukaew et al., 2014). Em ambiente natural, estes peixes se alimentam de larvas de mosquitos, vermes tubifex, pequenos insetos aquáticos ou zooplâncton. Entretanto, em cultivos são utilizados alimentos secos em formato de péletes ou folhas desidratadas, pois a utilização de alimentos vivos requer mais mão-de-obra e maior espaço físico (Thongprajukaew et al., 2018).

Os alimentos artificiais são formulados de modo a atender as exigências nutricionais dos peixes com o acréscimo de carotenoides para realçar a coloração das espécies ornamentais. Embora similares, as formulações de rações para peixes devem atender as exigências específicas de cada espécie (NRC, 2011), além de serem palatáveis aos organismos (Carlberg et al., 2015). Além disto, a utilização dos chamados “ingredientes alternativos”, de qualidade igual ou superior, é preferível desde que reduzam os custos relativos à alimentação (Arana, 1999).

Geralmente a farinha de peixe é a principal fonte proteica de rações para peixes (Silva et al., 2017) e também o item de maior custo na sua formulação (Velasco-Santamaría & Corredor-Santamaría, 2011). Por isso, ingredientes alternativos, de baixo custo, alto teor proteico e elevada disponibilidade, devem ser buscados para substituir a farinha de peixe (De Marco et al., 2015). A *single cell protein* (SCP) é um ingrediente com alta potencialidade, pois atende a estes três requisitos. As SCPs são células secas de fungos, bactérias, leveduras e algas. Elas apresentam elevado teor proteico, similar ao da farinha de peixe (Ogello et al., 2014), e podem ser cultivadas sobre diversos tipos de substratos, principalmente os restos da própria indústria alimentícia, como os resíduos da cana-de-açúcar, do suco de manga, da uva e de resíduos animais (Suman et al., 2015; Ahuja & Kumari, 2019; Jones et al., 2020). No entanto, informações sobre a aceitação dos peixes por rações que usam SCP em sua composição ainda são desconhecidas. Dessa forma, neste estudo avaliamos a palatabilidade de SCP em dietas para adultos de *Betta splendens*.

Material e Métodos

Ensaio

O experimento foi realizado na Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *Campus* de Toledo no Setor de Aquicultura do Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura (GEMAQ), durante o mês de dezembro de 2019. Todos os procedimentos desenvolvidos no presente estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA) da UNIOESTE, conforme o Certificado Experimental de Uso de Animais n°73-19.

Elaboração das rações

A matéria-prima, *single cell protein* (SCP), utilizada na formulação das dietas foi cedida pela empresa Brazil Foods S/A (BRF) e produzida pela *Startup* String Bio®. Foram elaboradas cinco dietas isoproteicas e isoenergéticas de acordo com as recomendações nutricionais propostas por Zuanon et al. (2016), sendo estas: controle, 3% SCP, 6% SCP, 9% SCP e 12% SCP. Essas condições foram obtidas pela substituição gradual de farinha de peixe por SCP (Tabela 1).

No preparo das rações, os ingredientes foram pesados, triturados em moinho tipo martelo, peneirados em peneira de 0,3 mm de malha e misturados até homogeneização em um misturador mecânico do tipo Y por 15 min. Durante a mistura foi adicionado 20% de água para auxiliar na homogeneização. Por fim, as rações foram extrusadas a 1,0 mm de diâmetro, expostas em estufa de ventilação por 12 h a 55°C e armazenadas em sacos plásticos devidamente etiquetados até o seu uso.

Tabela 1. Composição nutricional das rações experimentais com os diferentes níveis de *single cell protein* (SCP), utilizadas para avaliação da palatabilidade de peixe betta (*Betta splendens*).

Ingredientes	Rações				
	Controle	3% SCP	6% SCP	9% SCP	12% SCP
Fubá de milho	29,03	28,16	28,18	28,21	28,24
Farelo de soja (48%) ¹	21,84	21,18	20,59	20,00	19,41
Farinha de vísceras (aves)	19,76	19,17	19,16	19,15	19,14
Farinha de penas	10,31	10,00	10,00	10,00	10,00
Farinha de peixe (58%) ¹	12,00	9,00	6,00	3,00	0,00
<i>Single cell protein</i> (68%) ²	0,00	3,00	6,00	9,00	12,00
Quirera de arroz	5,15	5,00	5,00	5,00	5,00
Óleo de soja	2,52	2,45	2,62	2,80	2,98
Suplemento mineral e vitamínico ⁵	0,52	0,50	0,50	0,50	0,50
Sal comum	0,31	0,30	0,30	0,30	0,30
Calcário calcítico	0,27	0,26	0,52	0,78	1,04
Cloreto de colina	0,21	0,20	0,20	0,20	0,20
L-lisina HCL	0,19	0,18	0,20	0,22	0,24
Fosfato bicálcico	0,15	0,15	0,29	0,44	0,59
Vitamina C	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14
DL-metionina	0,11	0,10	0,10	0,10	0,09
Antifúngico ³	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
L- triptofano	0,09	0,09	0,06	0,03	0,00
Antioxidante (BHT) ⁴	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02

L- triptofano	0,09	0,09	0,06	0,03	0,00
L-treonina	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Total	100	100	100	100	100

^{1e 2} Teor proteico do ingrediente; ³Propionato de Cálcio; ⁴Butil-hidroxi-tolueno; ⁵Níveis de garantia por quilograma de produto: vitamina A:1.750.000 UI; vitamina D3:375000 UI; vitamina K3: 500 mg, vitamina B1: 2000 mg; vit B2: 2500 mg; vitamina B6: 2500 mg; vitamina B12: 5000 mg; ácido fólico: 625 mg; pantotenato de cálcio: 7500 mg; vitamina C: 37500 mg; Biotina: 50 mg; inositol: 12500 mg; niacina: 8750 mg; colina: 100000 mg; cobalto: 50 mg; cobre: 1250 mg; ferro: 15000 mg; iodo: 100 mg; manganês: 3750 mg; selênio: 75 mg; e zinco: 17500 mg.

Análises Químicas

O perfil de aminoácidos do SCP (Tabela 2) foi realizado segundo o método MA-009 (Hagen et al., 1989; White et al., 1986) e MA-010 (Bernardo & Soletto, 1980) no CBO Análises Laboratoriais Ltda, enquanto as composições químicas das rações (Tabela 3) foram realizadas Laboratório de Qualidade dos Alimentos (LQA) do GEMAq, conforme metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2004).

Tabela 2. Perfil dos aminoácidos presente na *single cell protein* (SCP), usado na elaboração das dietas experimentais para determinação palatabilidade de *Betta splendens*. ND = não detectado.

Aminoácidos	Composição química SCP	
	Livres	Não livres
Ácido aspártico	0,02	6,08
Ácido glutâmico	0,17	6,49
Serina	0,03	2,17
Glicina	0,69	3,81
Histidina	0,21	1,55
Taurina	ND	ND

Arginina	0,02	3,65
Treonina	0,30	2,81
Alanina	1,76	4,90
Prolina	0,54	2,68
Tirosina	0,63	2,67
Valina	1,03	3,81
Metionina	0,43	1,54
Cistina	0,16	0,47
Isoleucina	0,67	2,88
Leucina	1,13	5,21
Fenilalanina	0,45	3,07
Lisina	0,13	3,65
Triptofano	ND	1,51
Asparagina	ND	0,01
Glutamina	ND	0,03
Soma dos aminoácidos	8,37	58,99

Tabela 3. Composição química das rações experimentais com farinha de peixe (controle) e diferentes níveis de *single cell protein* (SCP), utilizadas para determinação da palatabilidade de *Betta splendens*.

Composição química	Rações				
	Controle	3% SCP	6% SCP	9% SCP	12% SCP
Cálcio (%)	1,88	1,88	1,88	1,88	1,89
Energia digestível*(kcal.kg ⁻¹)	3,40	3,40	3,40	3,40	3,40
Fibra bruta (%)	1,42	1,39	1,37	1,35	1,32

Fósforo total (%)	1,10	1,10	1,10	1,10	1,10
Lipídio (%)	7,99	8,08	8,16	8,25	8,34
Material mineral (%)	7,43	7,15	6,86	6,58	6,29
Proteína bruta (%)	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00

Metodologia experimental

O ensaio de palatabilidade foi realizado pela observação diária da alimentação de 10 exemplares de *Betta splendens* (machos) com peso aproximado de $20 \pm 0,15$ g, durante cinco dias. Os exemplares foram distribuídos individualmente de forma aleatória em 10 aquários de vidro com capacidade de 10 L, equipados com termostato de 25 W regulados para 28 °C, e fita led de 15 W para ciclo circadiano com 11 h de luz e 13 h de escuro. Os aquários foram mantidos isolados por uma estrutura semelhante a uma cabine com orifício na parte superior destinada à alimentação.

A princípio os organismos passaram por um período de 7 dias para adaptação às condições do laboratório. Nesse período eles foram alimentados duas vezes ao dia com a ração controle, sendo observado a quantidade de péletes consumidos por refeição. Na sequência, iniciou-se o experimento para avaliação da palatabilidade das rações, o qual teve duração de cinco dias. Durante o experimento, os peixes receberam duas refeições diárias, às 10 h e às 16 h. A cada refeição foram ofertados 10 péletes de cada ração experimental a cada indivíduo, seguindo um delineamento Quadrado-Latino com duplicatas (Figura 1). Após a oferta dos péletes, os 5 min subsequentes foram filmados com uma câmera do tipo GoPro® (Hero 5 Black 12 MP 4K) acoplada a um tripé e aderida a estrutura dos aquários. O tempo de observação foi estipulado em concordância a Kasumyan & Morsi (1995). Ao final de cada alimentação, o excedente de péletes foi retirado dos aquários.

Diariamente os aquários foram sifonados para remoção de excretas e troca de cerca de 10% da quantidade de água. A temperatura, pH, oxigênio dissolvido e amônia total na água também foram monitorados diariamente e permaneceram dentro das faixas aceitáveis: $28 \pm 0,9$ °C, $7 \pm 0,04$, $5,60 \pm 0,50$ mg L⁻¹ e $0,60 \pm 0,20$ ppm, respectivamente. As três primeiras foram monitoradas com auxílio de uma sonda multiparâmetros, enquanto a amônia total foi determinada de acordo com APHA (2017).

Determinação da palatabilidade das rações

Os vídeos gerados foram visualizados para observação dos tempos de captura do primeiro pélete e de consumo total, números de capturas de péletes, de rejeições após captura e número de aproximações sem captura. Estas observações foram então convertidas nas seguintes variáveis:

$$EDC = CP/NA$$

$$ING = PC/NA$$

$$RDP = RP/CP$$




































$$TCI = TCPP/TOT$$

$$TCT = TTCP/TOT$$

$$IP = (CT - CC)/(CT + CC) * 100$$

Onde:

EDC é a eficiência relativa de captura; CP é o número de péletes capturados; NA é o número total de abordagens; ING é a ingestão relativa; PC é o número de péletes consumidos; RDP é a rejeição relativa de péletes; RP é o número de péletes rejeitados; TCI é o tempo relativo ao consumo inicial; TCPP é o tempo de captura do primeiro pélete; TTO é o tempo total de observação; TCT é o tempo relativo ao consumo total; TTCP é o tempo total de captura de péletes (s); IP é o índice de palatabilidade de Kasumyan & Morsi (1996); CT é o consumo no tratamento e CC é o consumo no controle.

Grupo de Peixes						
Dia	Hora	1 - 6	2 - 7	3 - 8	4 - 9	5 - 10
1	 					
2	 					
3	 					
4	 					
5	 					








 10h
  15h
  Controle
  3% SCP
  6% SCP
  9% SCP
  12% SCP

Figura 1. Esquema do delineamento experimental Quadrado-Latino desenvolvido para avaliação da palatabilidade de *single cell protein* (SCP) em *Betta splendens*.

Análises estatísticas

Devido ao fato das variáveis resultantes do presente estudo representarem distintos aspectos da palatabilidade, existe uma probabilidade elevada das mesmas serem correlacionadas. Desse modo, foi analisado a correlação linear entre os mesmos optando-se por uma abordagem multivariada de análise estatística com emprego da análise de componentes principais (PCA; Hothorn et al., 2008). Foi empregado o critério de Kaiser-Guttman ($\lambda > 1$; Guttman, 1954; Kaiser, 1960) com intuito de reter os componentes interpretáveis. Em seguida, avaliamos suas associações com as variáveis por meio da correlação de Pearson e empregamos sobre cada um deles a análise de variância (ANOVA) de efeitos principais (Scheiner e Gurevitch, 2001). Também utilizamos a ANOVA para avaliar o IP. Os dados desta variável foram transformados em raiz quadrada para atingir os pressupostos.

Na ANOVA, consideramos como efeitos principais os peixes, os dias, os períodos e o foco do estudo, as rações experimentais. Em caso de efeitos significativos na ANOVA, utilizamos o teste de Dunnett para comparações das médias contra o controle (Dunnett, 1955). Checamos os pressupostos da ANOVA nos resíduos, por meio dos testes de Shapiro-Wilk para normalidade e Levene para homogeneidade, afim de atingir os pressupostos. Todos os testes foram avaliados a 5% de probabilidade no software R (R Core Team, 2019).

Resultados

As análises realizadas apontaram que os peixes demonstraram excelente aceitação às dietas com inclusão de *single cell protein*. No entanto, a variável eficiência relativa de captura teve como melhor resposta os tratamentos com 12% SCP e 3% SCP, enquanto o melhor consumo correspondeu as dietas controle e 3% SCP com 90%, já em relação a rejeição relativa de péletes o maior valor correspondeu a dieta 6% SCP e 9% SCP com aproximadamente 40%, enquanto os parâmetros de tempo relativo de consumo inicial e total, as dietas controle, 3% SCP e 12 SCP% apresentaram os melhores tempos (Tabela 4).

Tabela 4 – Médias \pm DP para eficiência relativa de captura (*EDC*), ingestão relativa (*ING*), rejeição relativa de péletes (*RDP*), tempo relativo ao consumo inicial (*TCI*), e tempo relativo ao consumo total (*TCT*), observados nos grupos formados pelas rações avaliadas (Controle = farinha de peixe, SCP = *single cell protein*) para *Betta splendens*.

Ração	<i>EDC</i>	<i>ING</i>	<i>RDP</i>	<i>TCI</i> *	<i>TCT</i> *
Controle	0,824 \pm 0,230	0,925 \pm 0,129	0,245 \pm 0,394	0,007 \pm 0,010	0,531 \pm 0,363
3% SCP	0,862 \pm 0,213	0,925 \pm 0,137	0,140 \pm 0,245	0,019 \pm 0,039	0,538 \pm 0,371
6% SCP	0,767 \pm 0,235	0,760 \pm 0,211	0,413 \pm 0,622	0,014 \pm 0,027	0,787 \pm 0,353
9% SCP	0,749 \pm 0,242	0,755 \pm 0,208	0,363 \pm 0,498	0,007 \pm 0,012	0,854 \pm 0,292
12% SCP	0,878 \pm 0,229	0,860 \pm 0,193	0,097 \pm 0,239	0,022 \pm 0,053	0,546 \pm 0,397

* Calculado com base em 300s.

Com relação a abordagem multivariada, a análise de componentes principais resultou em dois eixos a serem interpretados. O primeiro representou 51.73% da variabilidade total ($\lambda=1,61$), foi positivamente relacionado à *RDP* e *TCT* e negativamente à *EDC* e *ING*. Quanto as fontes de variação neste componente, apenas o período não apresentou efeito significativo ($F_{(1,81)} = 1,08$; $p = 0,30$), enquanto que peixes ($F_{(9,81)} = 11,26$), dias ($F_{(4,81)} = 5,40$) e rações ($F_{(4,81)} = 8,28$) foram altamente significativas ($p < 0,001$). Pelo teste de Dunnett, as dietas com 3 e 12% de SCP não diferiram do controle enquanto 6 e 9% de SCP obtiveram alta rejeição e tempo elevado de consumo total (Fig. 2A).

O segundo componente principal, com representatividade de 20.48% da variabilidade total (autovalor = 1,01), foi negativamente associado à *TCI*. Este componente apresentou como fonte significativa de variação apenas os peixes ($F_{(9,81)} = 3,38$; $p = 0,001$), enquanto dias ($F_{(4,81)} = 1,74$), períodos ($F_{(1,81)} = 1,57$) e rações ($F_{(4,81)} = 0,66$) não foram significativos ($p > 0,05$). Contudo, mesmo existindo uma pequena diferença entre as médias, as mesmas não podem ser consideradas significativas tendo as dietas testes não diferido do controle (Fig. 2B).

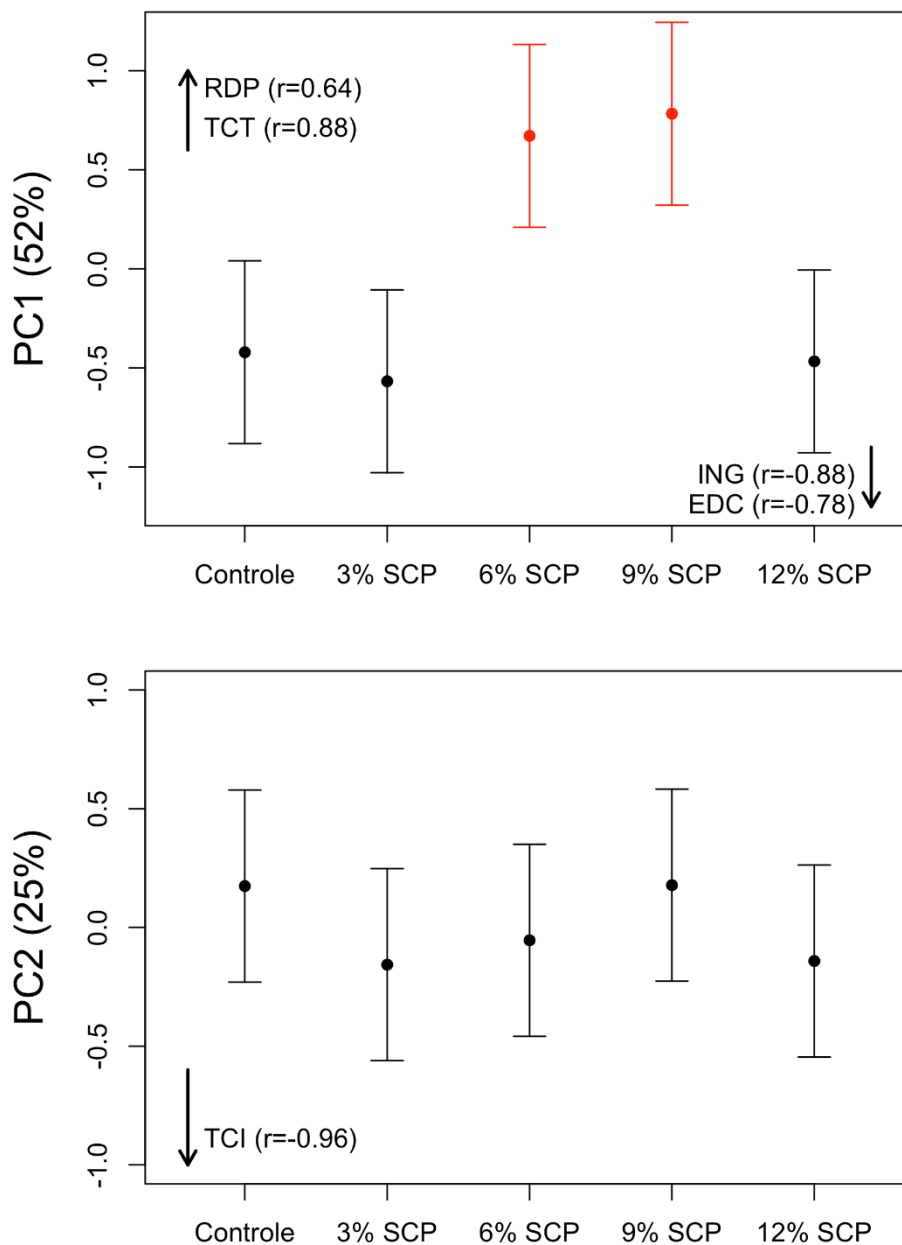


Figura 2. Médias \pm 95% IC para o primeiro (PC1) e segundo (PC2) eixos da análise de componentes principais (A e B, respectivamente) aplicada sobre a matriz das variáveis: eficiência relativa de captura (*EDC*), ingestão relativa (*ING*), rejeição relativa de péletes (*RDP*), tempo relativo ao consumo inicial (*TCI*), e tempo relativo ao consumo total (*TCT*), observados nos grupos formados pelas rações avaliadas (Controle = farinha de peixe, SCP = *single cell protein*). *r* corresponde a correlação de Pearson com o componente principal (PC1 e PC2). Valores em vermelho diferenciam do controle de acordo com o teste de Dunnett à 5% de probabilidade.

A avaliação do IP (Índice de palatabilidade) levando em consideração o controle demonstrou que apenas o período ($F_{(1, 62)} = 0,60$; $p = 0,44$) não apresentou diferenças significativas, enquanto que os dias ($F_{(4, 62)} = 4,16$), os indivíduos ($F_{(9,62)} = 2,99$) e as rações ($F_{(3, 62)} = 3,09$) foram significativas ($p < 0,05$). Isto corrobora o resultado da PCA, que identificou as rações com 6 e 9% de SCP como as piores em relação ao controle, pois apresentaram elevada rejeição, enquanto as rações com 3 e 12% SCP foram paliativamente similares à ração controle (Fig. 3).

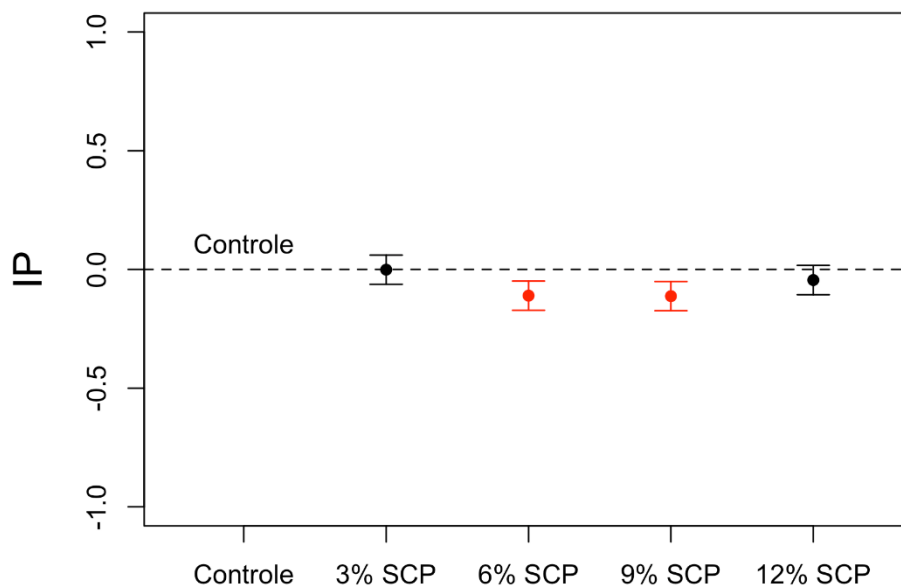


Figura 3 – Médias \pm 95% IC para o índice de palatabilidade (*IP*) analisados conforme os grupos formados pelas rações experimentais (3% SCP, 6% SCP, 9%SCP e 12%SCP). Tratamento controle (farinha de peixe) representado pela linha tracejada. Valores em vermelho diferenciam do controle de acordo com o teste de Dunnett à 5% de probabilidade.

Discussão

A farinha de peixe é considerada uma das fontes proteicas preferidas a ser incluída em dietas de peixes (Mamuad et al. 2020), entretanto, existem algumas restrições que tornam seu uso contínuo um obstáculo para o setor aquícola. Estas restrições são ocasionadas pela elevada demanda das fábricas de rações, mudanças climáticas e El Niño, tornando a sua produção instável e elevando o valor da matéria prima, bem como do produto final (FAO, 2018). Desta forma, o uso de fontes alternativas de proteínas para

dietas de peixes vem crescendo aceleradamente (Zhou et al. 2019) e neste estudo obtivemos resultados satisfatórios quanto a substituição da farinha de peixe por *single cell protein* (SCP) em todos os níveis de inclusão.

Os resultados indicaram que *B. splendens* tiveram maior eficiência de captura e ingestão pelas dietas com inclusão de SCP à 3 e 12%. Sabe-se que o comportamento alimentar dos peixes é controlado por diversas modalidades sensoriais, sendo olfato e paladar os principais sentidos (Løkkeborg et al., 2014). O olfato é o primeiro a ser acionado, agindo como um sensor que detecta estímulos à distância na água, em seguida induz o comportamento de busca de alimentos e atração pela fonte e, posteriormente, os itens são avaliados pelo sistema gustativo (Mearns, 1986). Além disto, é importante ressaltar que as espécies exibem diferenças quanto as preferências alimentares, tornando os ingredientes repelentes ou atrativos (Morais, 2016; Alves et al., 2020a).

Por ser uma importante fonte proteica, com aminoácidos essenciais e ter elevada palatabilidade, a farinha de peixe tem sido o ingrediente mais utilizado na formulação de rações para aquicultura (Zhao et al., 2015). As características desse ingrediente refletiram no resultado positivo apresentado pelo tratamento controle. No entanto, a substituição de 3 e 12% de farinha de peixe por SCP resultou em resultado similar ao controle, possivelmente pelo fato de que a *single cell protein* apresenta excelente teor proteico e diversos aminoácidos em sua composição. Esses resultados tornam explícita a importância de haver uma fonte proteica padronizada voltada para elaboração das dietas, visto que a mesma é um alimento completo, devido às suas características bromatológicas (Hardy, 2010).

Levando em consideração o tempo total de captura dos péletes, *B. splendens* novamente demonstrou maior interesse pelas dietas contendo a menor e a maior percentagem de SCP (3% e 12%). Tais resultados podem estar relacionados com as respostas aos efetores alimentares. Afetores alimentares são quimio-atraentes, estimulantes ou estimuladores, em sua maioria aminoácidos, como a glicina, arginina, ácido glutâmico e alanina (Smith et al., 2005), todos presentes nas dietas avaliadas. O tempo gasto para o indivíduo entrar em contato, bem como consumir o alimento, está diretamente relacionado com a atratividade e palatabilidade dos compostos naturais ou sintéticos presentes na ração. Estes por sua vez, vem sendo amplamente estudados com intuito de compreender o comportamento alimentar (Ali et al., 2007; Grey et al., 2009).

Nesse sentido é possível afirmar que os quimiorreceptores são fundamentais para atratividade dos ingredientes. É importante que os quimiorreceptores possuam baixo peso molecular (a exemplo aminoácidos, nucleotídeos e aminas biogênicas) e sejam solúveis em água, aumentando a detecção pelo organismo (Nunes et al, 2006). Isto possivelmente explica o fato do baixo tempo de primeira captura de pélete observado neste estudo, no qual os peixes levaram, em média, menos de 7s.

É de conhecimento que ingredientes de origem animal aquática (farinha de peixe, crustáceos e moluscos), são ricos nos compostos citados anteriormente, sendo assim, atuam como excelentes atrativos (Ali et al., 2007). No entanto, vale ressaltar que alimentos à base de coprodutos de animais, por exemplo farinha de aves, sangue, hidrolisados, plantas aquáticas e proteína de célula única vem demonstrando excelente aceitação e palatabilidade em peixes (Martínez et al., 2018; Ogello et al., 2014; Alves et al., 2019ab; Alves et al., 2020ab; Zapata et al., 2021). Por exemplo, em estudo realizado por Martinez et al. (2018), *Macrobrachium tenellum*, apresentaram maior atração por ração contendo farinha de ave, enquanto a mais palatável foi a ração contendo farinha de peru, levando cerca de 20s para consumo total dos péletes ofertados. Isto mostra o potencial do uso de proteínas alternativas para melhorar a palatabilidade das rações, conforme observado neste estudo, onde o uso de SCP obteve respostas positivas quanto a palatabilidade. De acordo com Kasumyan & Sidorov (2012), existem aminoácidos que atuam como atraentes ou repelentes, e neste caso, acredita-se que os atraentes se sobressaíram sobre os repelentes.

Todos estes resultados foram corroborados pelo índice de palatabilidade, o qual indicou boa aceitação pela ração contendo 12% de SCP, demonstrando que há uma correlação entre a boa aceitação das dietas com sua composição bromatológica (Løkkeborg et al., 2014; Siikavuopio et al., 2017). Isso porque, além dos aminoácidos atraentes (cisteína, prolina, ácidos glutâmico e aspártico, alanina, glutamina, lisina, leucina, tirosina, glicina, asparagina, isoleucina, neutro histidina, e outros compostos como, norvalina, ácido cítrico, cloreto de cálcio, cloreto de sódio e sacarose) (Hara, 2011; Kasumyan & Sidorov, 2012; Alves et al., 2019b) a proteína também influencia na preferência alimentar (Couto et al, 2018). Esta última também reflete nos parâmetros zootécnicos do peixe, pois o baixo consumo de ração reduz a taxa de crescimento e o desempenho do organismo (Yuan et al., 2021). Assim, as dietas formuladas devem ser

quimicamente atraentes para auxiliar na localização rápida e na ingestão completa o mais rápido possível.

As dietas com inclusão de 6 e 9% de SCP apresentaram respostas menos satisfatórias para as variáveis respostas analisadas, sendo considerado intermediário em relação ao tempo relativo de consumo inicial. Tal comportamento sugere maior sensibilidade atrativa de busca pelo alimento do que pelo consumo do mesmo (Morais, 2016). Embora algumas combinações de aminoácidos agem como estimulantes alimentares, a presença individual de alguns deles pode não ser estimulante (Adams & Johnsen, 1986). Isto se dá pela necessidade conjunta de certos aminoácidos para ativação de receptores independentes de sabor, os quais são expressos nas mesmas ou em diferentes células gustativas (Ogawa & Caprio, 2010). Assim, é possível que as dietas contendo SCP possuem alguns compostos (p. e., nucleotídeos, ácidos orgânicos, aminoácidos, etc...) que melhoraram a atratividade e palatabilidade das dietas experimentais.

Conclusão

Recomenda-se a substituição de 12% de farinha de peixe por SCP nas formulações de rações destinadas ao consumo por *B. splendens*, sem que ocorra perda de palatabilidade.

Agradecimentos

A empresa BRF Ingredient's pela doação dos ingredientes e pelo financiamento das análises de aminoácidos. Ao Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura - GEMAq, da Universidade do Oeste do Paraná – UNIOESTE, *campus* de Toledo-PR, pela disponibilização dos estudos laboratoriais e suporte técnico.

Referências

Adams, M.A & Johnsen, P.B. (1986). O controle químico de alimentação em peixes herbívoros e carnívoros, pp. 45 - 61 . In: *Chemical Signals in Vertebrates 4* (Duvall, D. , D. Müller-Schwarze e RM Silverstein , Eds) US : Springer.

- Ahuja, S. & Kumari, P. (2019). Production of Single Cell Protein from fruit and vegetable waste using *Saccharomyces cerevisiae*. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 8, 114-124. doi:10.20546/ijcmas.2019.802.014
- Ali, S.A., Gopal, C. Ramana, J.V. 2007. Attractant and growth promoting properties of some feed materials and chemicals incorporated in the diets for *Penaeus monodon* (Fabricius). Indian Journal of Fisheries, 57, 67-73.
- Allen PE, Barquero MD, Bermúdez E, Calderón JC, Hilje B, Pineda W *et al.* (2017) Solicitando informações mais precisas no comércio de aquários: análise de licenças de importação de peixes vivos na Costa Rica. Management of Biological Invasions 8, 533 - 542 .
- Alves, DRS, Oliveira, SR, Sosa, BS, Boscolo, WR, Signor, A, Bittencourt, F, 2020b. Compelling palatability of flavoring attractus AQVA® for Nile tilapia juveniles. Latin american journal of aquatic research, 48, 323-328. doi:10.3856/vol48-issue2-fulltext-2355
- Alves, DRS, Silva, TC, Rocha, JDM, Oliveira, SR, Signor, A, Boscolo, WR, 2019a. Compelling palatability of protein hydrolysates for Nile tilapia juveniles. Latina American Journal of Aquatic Research, 47, 371-376. doi:10.3856/vol47-issue2-fulltext-19
- Alves, DRS., Oliveira, SR, Luczinski, TG, Boscolo, WR, Bittencourt, F, Signor, A, Detsch, DT, 2020a. Attractability and palatability of liquid protein hydrolysates for Nile tilapia juveniles. Aquaculture Research, 00, 1-8. doi:10.1111/are.14514
- Alves, DRS., Oliveira, SR, Luczinski, TG, Paulo, IGP, Boscolo, WR, Bittencourt, F, Signor, A, 2019b. Palatability of protein hydrolysates from industrial byproducts for Nile tilapia juveniles. Animals. 9, 311. doi:10.3390/ani9060311
- APHA, 2017. Water and Wastewater Examination Manual. Routledge. doi:10.1201/9780203734131
- Arana, L. A. V. Aquicultura e desenvolvimento sustentável: subsídios para a formulação de políticas de desenvolvimento da aquicultura brasileira. Florianópolis: Ed. da UFSC, 1999. 310p.

Bernardo, L., Sotelo, A, 1980. Effect of alkalies, temperature and hydrolysis times on tryptophan determination of pure proteins and of food. *Analytical Biochemistry* 109, 192-197. doi:10.1016 / 0003-2697 (80) 90028-7

Carlberg, H., Cheng, K., Lundh, T., Brännäs, E., 2015. Usando a auto-seleção para avaliara aceitação de novas formulações alimentares por peixes de criação. *Appl. Anim. Behav. Sci.*171, 226-232.

Couto, M.V.S.; Sousa, N.C; Abe, H.A.; Dias, J.A.R; Meneses, J.O.;Paixão, P.E.G.; Cunha, F.S.; Ramos, F.M.; Maria, A.N.; Carneiro, P.C.F.; Fujimoto, R.Y. 2018. Effects of life feed containing *Panagrellus redivivus* and water depth on growth of *Betta splendens* larvae. *Aquaculture Research*, 48, 2671-2675.doi:10.1111/are.13727

De Marco, M., Martínez, S., Hernandez, F., Madrid, J., Gai, F., Rotolo, L., Belforti, M., Bergero, D., Katz, H., Dabbou, S., Kovitvadhi, A., Zoccarato, I., Gasco, L., Schiavone, A. 2015. Nutritional value of two insect larval meals (*Tenebrio molitor* and *Hermetia illucens*) for broiler chickens: Apparent nutrient digestibility, apparent ileal amino acid digestibility and apparent metabolizable energy. *Animal Feed Science and Technology*, 209, 211– 218. doi:/10.1016/j.anifeedsci.2015.08.006

Dunnett, CW, 1955. A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. *Journal of the American Statistical Association*, 50,1096–1121. doi:10.2307/2281208

FAO - The State of World Fisheries and Aquaculture 2018-Meeting the sustainable development goals. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO

Giannecchini, LG , Massago, H. , & Fernandes, JBK. 2012 . Efeitos do fotoperíodo na reprodução do peixe lutador Siamês *Betta splendens* . *Revista Brasileira de Zootecnia* , 41 , 821 - 826 .

Grey, M., I. Forster, W. Dominy, H. Ako & A.F. Giesen. 2009. Validation of a feeding stimulant bioassay using fish hydrolysates for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society*. 40, 547-555. doi:10.1111/j.1749-7345.2009.00264.x

Guttman, L, 1954. Some necessary conditions for common-factor analysis. *Psychomrtrika*, 19, 149-161. doi:10.1007/BF02289162

Hagen, SR., Frost, B, Augustin, J, 1989. Precolumn phenyl isothiocyanate derivatization and liquid chromatography of amino-acids in food. *Journal of the Association of Official Analytical Chemistry*, 72, 912-916.

Hara, TJ. 2011. Smell, taste, and chemical sensing|chemoreception (smell and taste): An introduction, in: Farrell, AP (Eds.), *Encyclopedia of fish physiology* 183–186. San Diego, CA: Academic Press. doi:10.1016/B978-0-12-374553-8.00021-6.

Hardy, R.W. (2010). Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquaculture Research*, 4, 770-776. doi:10.1111/j.1365-2109.2009.02349.x

Hothorn, T., Bretz, F, Westfall, P, 2008. Simultaneous inference in general parametric models. *Biometrical Journal*. 50,346-363. Doi:10.1002/bimj.200810425

Instituto Adolfo Lutz, 2004. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análises de alimentos. IMESP, São Paulo.

Jones, S.W., Karpol, A., Friedman, S., Maru, B.T., Tracy, B.P, 2020. Recent advances in single cell protein use as a feed ingredient in aquaculture. 61: 189-197.

Kaiser, HF, 1960. The application of electronic computers to factor analysis. Research article. 20,141-151. doi.:10.1177/001316446002000116

Kasumyan, AO., Morsi, AMKh, 1996. Taste sensitivity of common carp *Cyprinus Carpio* to free aminoacids and classical taste substances. *Journal of Ichthyology*, 36,391-403.

Kasumyan, AO., Sidorov, SS, 2012. Effects of the long-term anosmia combined with vision deprivation on the taste sensitivity and feeding behaviour of the rainbow trout *Parasalmo (Oncorhynchus) mykiss*. *Journal of Ichthyology*, 52, 109–119.

Løkkeborg, S., Siikavuopio, SI, Humborstad, OB, Palm, ACU, Ferter, K, 2014. Towards more efficient longline fisheries: Fish feeding behavior, bait characteristics and development of alternative baits. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 24, 985–1003. doi:10.1007/s11160-014-9360-z

Mamuad, L., Lee, SH, Jeong, CD, Ramos, S, Miguel, M, Son, AR, Kim, SH, Choo, YI, Lee, SS, 2020. Ornamental fish, *Cyprinus carpio*, fed with fishmeal replacement *Ptecticus tenebrifer* and *Tenebrio molitor*. *Aquaculture Research*, 00, 1-11. <https://doi.org/10.1111/are.14953>

Martínez, C.M., Soria, H.N., Villasante, F.V., Farnés, O.C., González, A.A., Cerecedo, R.C. 2018. Attractability and palatability of ingredients in longarm river prawn *Macrobrachium tenellum* feed. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 46, 615-620. doi:10.3856/vol46-issue3-fulltext-17

Mearns, K. J, 1986. Sensitivity of brown trout (*Salmo trutta L.*) and Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) fry to amino acids at the start of exogenous feeding. *Aquaculture*, 55, 191–200. doi:10.1016/0044-8486(86)90114-6

Morais, S. 2016. The Physiology of Taste in Fish: Potential Implications for Feeding Stimulation and Gut Chemical Sensing. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 25, 133–149. doi:10.1080/23308249.2016.1249279

Moorhead JA, Zeng C, 2015. Development of captive breeding techniques for marine ornamental fish: a review. *Reviews in Fisheries Science* 18: 315–343.

Murray JM, Watson GJ, 2014. A critical assessment of marine aquarist biodiversity data and commercial aquaculture: identifying gaps in culture initiatives to inform local fisheries managers. *PLoS One* 9, e105982.

Novák, J., Kalous, L., Patoka, J., 2020. Modern ornamental aquaculture in Europe: early history of freshwater fish imports. *Reviews in Aquaculture*, 12, 2042-2060. doi:10.1111/raq.12421

NRC (2011). Nutrient requirements of fish and shrimp. National Academies Press, Washington D. C., USA.

- Nunes, A.J., M.V. Sá, F.F. Andriola-Neto, D. Lemos. 2006. Behavioral response to selected feed attractants and stimulants in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 260, 244-254. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.06.027>
- Ogawa, K. & J. Caprio, 2010. Principais diferenças na proporção dos tipos de fibra de aminoácidos que transmitem informações de sabor das regiões oral e extra-oral no peixe-gato do canal. *Journal Neurophysio*, 103, 2062 - 2073.
- Ogello, E.O., Munguti, J.M.M., Sakakura, Y., Hagiwara, A., 2014. Complete replacement of fish meal in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) grow-out with alternative protein sources. A review. *International Journal of Advanced Research*, 2, 962-978.
- Prathvi R, Sheela I, Aananthan PS, Ojha SN, Kumar NR, Krishnam M, 2013. Export performance of Indian ornamental fish – an analysis of growth, destination and diversity. *Indian Journal of Fishery* 60, 81–86.
- R Core Team, 2019. R: A Language and environment for statistical computing R Foundation for statistical computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>
- Scheiner, S.M., Gurevitch, J, 2001. Design and analysis of ecological experiments. Second ed. Oxford University Press
- Sicuro, B, 2017. Nutrition in ornamental aquaculture: the raise of anthropocentrism in aquaculture?. *Reviews in Aquaculture*, 0, 1-9. doi:10.1111/raq.12196
- Siikavuopio, S.I.; James, P.; Stenberg, E.; Evensen, T.; Sæther, B. S, 2017. Evaluation of protein hydrolysate of by-product from the fish industry for inclusion in bait for longline and pot fisheries of Atlantic cod. *Fisheries Research*, 188, 121-124. doi:10.1016/j.fishres.2016.11.024
- Silva, T. C. da, Rocha, J. D. M., Moreira, P., Signor, A., & Boscolo, W. R, 2017. Fish protein hydrolysate in diets for Nile tilapia post-larvae. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 52, 485–492. doi:10.1590/s0100-204x2017000700002
- Smith, D.M., S.J. Tabrett, M.C. Barclay & S.J. Irvin. 2005. The efficacy of ingredients included in shrimp feeds to stimulate intake. *Aquaculture Nutrition*, 11, 263-272. doi:10.1111/j.1365-2095.2005.00349.x

Sneddon, L & Wolfenden, D, 2018. Ornamental fish (*Actinopterygii*). Companion Animal Care and Welfare: The UFAW Companion Animal Handbook. cap.22. doi.:10.1002/9781119333708.ch22

Suman , G., Nupur, M., Anuradha, S., & Pradeep, B. 2015. Single cell protein production: a review. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 4,251-262.

Suresh, AV, Vasagam, KPK, Nates, S, 2011. Attractability and palatability of protein ingredients of aquatic and terrestrial animal origin, and their practical value for blue shrimp, *Litopenaeus stylirostris* fed diets formulated with high levels of poultry by product meal. Aquaculture, Amsterdam, 319, 132–140. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.06.039>

Thongprajukaew, K., Kovitvadhi, S., Kovitvadhi, U., & Rungruangsak-Torrissen, K, 2014. Pigment deposition and *in vitro* screening of natural pigment sources for enhancing pigmentation in male Siamese fighting fish (*Betta splendens* Regan, 1910). Aquaculture Research, 45, 709– 719.

Thongprajukaew, K. Pettawee, S. Muangthong, S. Saekhow, S. Phromkunthong, W. 2018. Freeze-dried forms of mosquito larvae for feeding of Siamese fighting fish (*Betta splendens* Regan, 1910). Aquaculture Research, 50, 296-303. doi:10.1111/are.13897

Velasco-Santamaría Y, Corredor-Santamaría W. 2011. Nutritional requirements of freshwater ornamental fish: a review. Revista MVZ Cordoba 16: 2458–2469.

Yamamoto, O, K. C.; Rodrigues, H. P.; Amazonas, M. G. F. M.; Santos, E. L. Q. V.; Loebens, S. C. 2021. A cadeia produtiva de peixes ornamentais no estado do Amazonas. Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais, 12, 186-202. Doi:10.6008/CBPC2179-6858.2021.002.0019

Yuan, Y. Lawrence, A.L. Chehade, B.S. Jensen, K.E.; Barry, R.J. Fowler, L.A. Makowsky, R. Powell, M.L. Watts, S.A. 2021. Feed intake as estimation of attractability in Pacific White shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture, 15, 736041, doi:10.1016/j.aquaculture.2020.736041

Zapata, D.B., Musin, G.E., Cancino, D.J.P., Galván, S.R.G., Carrillo, O.C., Villasante, F.V. 2021. Total or partial replacement of fishmeal with soybean meal in the diet of the Pacific fat sleeper *Dormitator latifrons* juveniles. *Latin American Journal Aquatic Research*. 49,40-47. doi:10.3856/vol49-issue1-fulltext-2564

Zhao, L.; Wang, W.; Huang, X.; Guo, T.; Wen, W.; Feng, L.; Wei, L. (2015). The effect of replacement of fish meal by yeast extract on the digestibility, growth and muscle composition of the shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research*, 48, 311-320. doi:10.1111/are.12883

Zuanon, JAS, Salaro, AL, Veras, GC, Tavares, MMT, Chaves, W. 2009. Tolerância aguda e crônica de adultos de beta, *Betta splendens*, à salinidade da água. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38, 2.106 - 2110.

Zuanon, JAS, Morais, JA, Carneiro, APS, Campelo, DV, Pontes, MD, Salaro, AL. 2016. Dietary crude protein levels for juvenile beta. *Boletim do Instituto de Pesca*, 42,3. 590-597. Doi 10.20950/1678-2305.2016v42n3p590

Zhou, S., Song, D, Zhou, X, Mao, X, Zhou, X, Wang, S, Qin, Q, 2019. Characterization of *Bacillus subtilis* from the gastrointestinal tract of hybrid Hulong grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* × *E. lanceolatus*) and its effects as probiotic additives. *Fish & Shellfish Immunology*, 84,1115–1124. doi.org/10.1016/j.fsi.2018.10.058

Considerações Finais

Considerando o tema de suma importância abordado no presente estudo, referente a inclusão de novos ingredientes de teor proteico com a mesma qualidade da farinha de peixe, bem como a demanda crescente do setor aquícola por uma proteína de qualidade, produção constante, baixo custo e fácil acesso, os autores recomendam, baseado nos resultados obtidos e observações durante o período experimental que sejam realizadas as seguintes situações:

- I. A necessidade de estudos futuros relacionados aos efeitos do uso de SCP sobre os parâmetros de desempenho zootécnico dos peixes ainda são

necessários para a consolidação deste ingrediente nas formulações de rações. Portanto, mais estudos são necessários.

- II. Desenvolvimento de estudos com diferentes espécies de interesse comercial, com a finalidade de aumentar a gama de respostas quanto ao ingrediente teste.
- III. Maior diversidade quanto ao manejo empregado durante a execução do estudo, pois, a escolha do manejo no experimento desenvolvido pelos autores, aparentemente não afetou a capacidade de consumo dos peixes e a substituição da farinha de peixe por *single cell protein* (SCP) apresentou resultados satisfatórios.

Anexo

Certificados do Comitê de ética de uso em animais



Certificado Experimental no Uso de Animais em Pesquisa
Nº 11/20 - CEUA

Certificamos que a proposta intitulada “Respostas de tilapia do Nilo à atratividade e palatabilidade de proteína do metano.”, registrada com o número “71-19”, sob a responsabilidade de “Wilson Rogério Boscolo”, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pelo COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ (UNIOESTE), em reunião de 13/03/2020.

Finalidade	Pesquisa Científica
Vigência da autorização	10/12/2019 a 10/01/2020
Espécie/linhagem/raça	Peixe – Tilápia - <i>Oreochromis niloticus</i>
Nº de animais	10
Peso/Idade	2,0g 30 dias
Sexo	Masculino
Origem	GEMAg - Toled

Profa. Dra. Luciana Oliveira de Fariña
 Coordenadora do CEUA
 Portaria nº 3126/2018-GRE

Certificado Experimental no Uso de Animais em Pesquisa

Nº 40/20 - CEUA

Certificamos que a proposta intitulada “Respostas de betta à atratividade e palatabilidade de proteína extraída do metano”, registrada com o número “73-19”, sob a responsabilidade de “Wilson Rogerio Boscolo”, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pelo COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ (UNIOESTE), em reunião de 02/10/2020.

Finalidade	Pesquisa Científica
Vigência da autorização	10/12/2019 a 10/01/2020
Espécie/linhagem/raça	Peixe – Betta - Betta splendens
Nº de animais	10
Peso/Idade	120 dias – 20g
Sexo	Machos
Origem	GEMAg - Toledo



Prof. Dra. Luciana Oliveira de Fariña
 Coordenadora do CEUA
 Portaria nº 3126/2018-GRE