

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS - FCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS PESQUEIRAS NOS TRÓPICOS –
PPGCIPET

IURYCH NICOLAU BARROS BUSSONS

DESEMPENHO EM CRESCIMENTO, RESPOSTAS BIOQUÍMICAS E
HEMATOLÓGICAS DE TAMBAQUI *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818)
ALIMENTADO COM DIFERENTES NÍVEIS DE GLICEROL

MANAUS-AM

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS - FCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS PESQUEIRAS NOS TRÓPICOS –
PPGCIPET

IURYCH NICOLAU BARROS BUSSONS

DESEMPENHO EM CRESCIMENTO, RESPOSTAS BIOQUÍMICAS E
HEMATOLÓGICAS DE TAMBAQUI *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818)
ALIMENTADO COM DIFERENTES NÍVEIS DE GLICEROL

Orientadora: Dra. Márcia Regina Fragoso Machado

Co-Orientador: Dr. Adriano Teixeira de Oliveira

Co-Orientador: Dr. Wallice Luiz Paxiúba Duncan

Dissertação apresentado ao Programa de Pós-graduação em Ciências Pesqueiras nos Trópicos da Universidade Federal do Amazonas, como parte das exigências para obtenção de título de Mestre em Ciências Pesqueiras nos Trópicos.

MANAUS-AM

2017

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo autor.

Bussons, Iurych Nicolau Barros

B981d Desempenho em crescimento, respostas bioquímicas e hematológicas de tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) alimentado com diferentes níveis de glicerol / Iurych Nicolau Barros Bussons. 2017

35 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Márcia Regina Fragoso Machado

Coorientador: Adriano Teixeira de Oliveira

Coorientador: Wallice Luiz Paxiúba Duncan

Dissertação (Mestrado em Ciências Pesqueiras nos Trópicos) -
Universidade Federal do Amazonas.

1. 1. Piscicultura. 2. Fonte energética alternativa. 3. Desempenho zootécnico. 4. Hematologia. 5. Indicadores econômicos. I. Machado, Márcia Regina Fragoso II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

Sinopse:

Estudou-se o efeito da substituição parcial do milho pelo glicerol em rações para juvenis de tambaqui sobre as condições fisiológicas, o desempenho zootécnico e indicadores econômicos em condições laboratoriais por um período de 90 dias.

Aos meus pais, filhos e esposa, aos quais dedico minha vida todos os dias para retribuir o amor, carinho, incentivo e apoio que sempre recebi.

Dedico.

Agradecimentos

Primeiramente a Deus que me deu a vida, saúde e me fez forte na fé a cada dia. Sem Ele nada faria sentido.

Em especial, minha família, meus filhos e esposa pelo amor incondicional e convívio de todos os dias, sobretudo, pela paciência comigo. A minha sogra Sra. Ana Fragoso que fez um esforço enorme para dar apoio com os cuidados dos meus filhos, sem isso seria mais difícil a realização deste trabalho. Meus pais, o Sr. Roberto Dany Ferreira Bussons (*in memoriam*) e a Sra. Rosemeire Barros Bussons. Amo muito vocês.

À Universidade Federal do Amazonas e o Programa de Pós-graduação em Ciências Pesqueiras nos Trópicos – CIPET pela oportunidade de fazer esse curso de mestrado. Agradeço também todos os Docentes e Técnicos que contribuíram em minha formação profissional.

À Universidade Nilton Lins e o Programa de Pós-graduação em Aquicultura por ter me recebido para o desenvolvimento deste trabalho em nome das Dra. Cleuceliz Santana e Elizabeth Afonso Gusmão.

Aos meus orientadores, Dra. Márcia Regina Fragoso Machado, Dr. Adriano Teixeira de Oliveira e Dr. Wallice Luiz Paxiúba Duncan, pela confiança, direcionamento e ensinamentos no decorrer deste trabalho e seus respectivos orientandos que muito ajudaram na coleta dos dados.

Aos amigos, Rodrigo Almeida, Fabiana Rocha, por pequenos gestos, ensinamentos, palavras de apoio e encorajamento em meio às dificuldades dessa trajetória.

Aos colegas do Grupo de Pesquisas aplicadas à Aquicultura da Amazônia – GPAqua, pela ajuda na realização do trabalho, Jessica Silva, Elcimar Sousa, Ariany Rabelo, Paula e Rodolfo.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) pela concessão da bolsa de estudo.

A todos que colaboraram de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

Aos membros da banca examinadora pela avaliação e contribuições.

Muito obrigado a todos!

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the performance and the hematological responses of juvenile tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) fed different levels of partial replacement of corn by glycerol (0 %, 25 %, 50 %, 75 %, and 100%). The experiment was conducted for 90 days in the lab for the production of aquatic organisms at the University Nilton Lins, in a completely randomized design, consisting of four treatments, because 0% is control, four repetitions and two sampling times. 240 juveniles were used with initial average weight and standard length of $15.32 \pm 1,61$ g and 8.03 ± 0.22 cm packed in 20 L 310 water tanks, closed system no reuse, continuous aeration, siphoning and replacement of water *every 48 hours, ad libitum* fed twice a day with experimental diets formulated given $13.807 \text{ MJ.kg}^{-1}$, 28% crude protein. Considering the parameters: zootechnical checks (GP + S%), welfare (health) (IHS + FC + IVS), economic (TEE + ILE) and haematology (haematology + metabolites + ions) diets for juvenile tambaqui can receive up to 50% replacement of corn by glycerol without compromising your development under the conditions studied.

Key words: Hematology, nutrition, fish, growth, biofuel residue, PCA.

SUMÁRIO

JUSTIFICATIVA	11
OBJETIVOS	11
Objetivo Geral	11
Objetivos Específicos	11
Hipóteses	11
1 Introdução	2
2 Material e métodos	4
2.1 Animais, instalações e dietas experimentais.....	4
2.2 Desempenho zootécnico e delineamento experimental.....	7
2.3 Parâmetros hematológicos.....	8
2.4 Indicadores econômicos	8
2.5 Monitoramento dos parâmetros físicos e químicos da água.....	9
2.6 Análises estatísticas	10
3 Resultados	10
3.1 Desempenho zootécnico, índices corporais e indicadores econômicos	10
3.2 Hematologia.....	13
4 Discussão	15
4.1 Desempenho zootécnico	15
4.2 Hematologia.....	16
4.3 Indicadores econômicos	18
5 Conclusão	19
6 Agradecimentos	19
7 Referências	19

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Composição das rações experimentais com diferentes níveis de substituição parcial do milho pelo glicerol para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*).6
- Tabela 2.** Valores médios do desempenho zootécnico de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) com diferentes níveis de substituição parcial do milho de glicerol no período de 90 dias..... 10
- Tabela 3.** Valores médios dos parâmetros hematológicos dos juvenis de tambaquis (*Colossoma macropomum*) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de substituição parcial do milho pelo glicerol no período de 90 dias.23

LISTA DE TABELAS

Figura 3. Análise de componentes principais (PCA) eritrograma do tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de substituição parcial do milho pelo glicerol. (A) T1 Basal cor (preto) = nível de 0%; T2 Basal cor (verde claro) = nível de 25%; T3 Basal cor (azul celeste) = nível de 50%; T4 Basal cor (cinza) = nível de 75%; T5 Basal cor (verde escuro) = nível de 100%; T1 Final cor (vermelho) = nível de 0%; T2 Final cor (azul escuro) = nível de 25%; T3 Final cor (rosa escuro) = nível de 50%; T4 Basal cor (ocre) = nível de 75%; T5 Basal cor (rose claro) = nível de 100%. (B) peso (g) e comp = comprimento (cm) ambos na cor (preta) e em (azul) Hb (g/dL) = hemoglobina; Ht (%) = hematócrito; RBC (milhões/ μ L) = contagem de células vermelhas; VCM (fL) = volume corpuscular médio; HCM (g/dL) = hemoglobina corpuscular média e CHCM (%) concentração de hemoglobina corpuscular média..... 13

Figura 4. Análise de componentes principais (PCA) metabólitos plasmáticos do tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de substituição parcial do milho pelo glicerol. (A) T1 Basal cor (preto) = nível de 0%; T2 Basal cor (verde claro) = nível de 25%; T3 Basal cor (azul celeste) = nível de 50%; T4 Basal cor (cinza) = nível de 75%; T5 Basal cor (verde escuro) = nível de 100%; T1 Final cor (vermelho) = nível de 0%; T2 Final cor (azul escuro) = nível de 25%; T3 Final cor (rosa escuro) = nível de 50%; T4 Basal cor (ocre) = nível de 75%; T5 Basal cor (rose claro) = nível de 100%. (B) peso (g^{-1}) e comp = comprimento (cm) ambos na cor (preta) e em (azul) glu (mg/dL) = glicose; tgc (mM/L) = triglicerídeos; col (mg/dL) = colesterol; ure (mg/dL) = ureia; fos (mg/dL) = fósforo; pt (g/dL) = proteínas totais e alb (g/dL) = albumina..... 14

JUSTIFICATIVA

A nutrição de peixes visa equilibrar produtividade, resistência, menor impacto ambiental e retorno econômico, para isso a utilização de ingredientes que substituam bem os convencionais sem comprometer os animais tornou-se uma prática comum. Os insumos convencionais para produção de rações sofrem alterações de valores conforme a variação na bolsa de valores para os commodities. Portanto os fabricantes oscilam também os valores das rações fabricadas.

Nacionalmente a produção de biocombustíveis aumentou devido o mesmo ter sido incluído na matriz energética de forma obrigatória, portanto elevou-se concomitantemente os resíduos de biocombustíveis. Esse resíduo também é conhecido como “glicerol bruto” altamente disponível, de baixo custo, além de possuir níveis energéticos similares ao milho e óleo de soja, podendo ser uma alternativa viável aos fabricantes de rações.

No contexto amazônico o tambaqui constitui-se na principal espécie empregada na piscicultura, desta forma qualquer esforço com o emprego de produtos alternativos na ração constitui-se em uma perspectiva de alavancar a produção local, bem como de reduzir os custos produtivos dessa espécie tão importante na alimentação da população regional.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Avaliar o desempenho zootécnico e as respostas hematológicas de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com diferentes níveis de substituição parcial do milho pelo glicerol.

Objetivos Específicos

Avaliar a substituição parcial do milho pelo glicerol (0%, 25%, 50%, 75% e 100%) sobre o desempenho zootécnico de juvenis de tambaqui.

Avaliar as respostas hematológicas (eritrograma, metabólitos e íons) de juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo glicerol em substituição ao milho.

Comparar a eficiência econômica entre as dietas experimentais em relação aos níveis de substituição.

Hipóteses

H₀ - O glicerol não afeta as variáveis fisiológicas do tambaqui;

H₀ - O glicerol não afeta o desempenho produtivo do tambaqui;

H₀ - O glicerol não afeta as variáveis de custos da dieta do tambaqui.

1 **Growth performance, biochemical and haematological responses of**
2 **tambaqui *Collossoma macropomum* (Cuvier, 1818) fed graded levels of**
3 **glycerol ***

4 Iurych Nicolau B. Bussons^{a,**}; Elcimar da Silva Sousa^b; Jessica Soares da Silva^b; Wallice

5 Paxiúba Duncan^{a,c}; Adriano T. Oliveira^{a,d}; Wilson Massamitu Furuya^e; Márcia R. F. Machado

6 Bussons^{a,e} *a Programa de Pós-graduação em Ciências Pesqueiras*

7 *a Programa de Pós-graduação em Ciências Pesqueiras no Trópicos – Universidade Federal*
8 *do Amazonas – Manaus, Amazonas, Brasil;*

9 *b Apoio Técnico do Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Nilton Lins – Manaus*
10 *Amazonas, Brasil;*

11 *c Universidade Federal do Amazonas (UFAM) Campus Setor Sul, Manaus, Amazonas, Brasil*

12 *d Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia (IFAM) Campus Manaus Centro (CMC),*
13 *Amazonas, Brasil*

14 *e Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG). Departamento de Zootecnia, Ponta Grossa,*
15 *Paraná, Brasil*

16 *f Programa de Pós-graduação em Aquicultura - Universidade Nilton Lins – Manaus,*
17 *Amazonas, Brasil*

18 * artigo formatado segundo as normas da revista Aquaculture.

19 ** Autor correspondente.

20 Endereço de e-mail: bussonsinb@gmail.com (I.N.B. Bussons).

21 Fone: + 55 092 984441818

22 **Resumo**

23 O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é a principal espécie nativa da piscicultura
24 brasileira devido suas respostas produtivas e a qualidade do filé. O objetivo desse estudo foi
25 avaliar o desempenho zootécnico e as respostas hematológicas de juvenis de tambaqui
26 *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) alimentados com diferentes níveis de substituição
27 parcial do milho pelo glicerol (0 %, 25 %, 50 %, 75%, e 100%). O experimento foi conduzido
28 por 90 dias no Laboratório de Produção de Organismos Aquáticos da Universidade Nilton Lins,
29 em um delineamento inteiramente casualizado, constituído por quatro tratamentos e 1 controle
30 (0 %), quatro repetições e dois tempos amostrais. Foram utilizados 240 juvenis com peso médio
31 inicial e comprimento padrão de $15,32 \pm 1,61$ g e $8,03 \pm 0,22$ cm acondicionados em 20 caixas
32 d'águas de 310 L, sistema fechado sem reaproveitamento, aeração contínua, sinfonamento e
33 reposição de água a cada 48 horas, alimentados *ad libitum* duas vezes por dia com dietas
34 experimentais formuladas atendendo $13,807 \text{ MJ.kg}^{-1}$, 28% Proteína Bruta. Considerando os
35 parâmetros: zootécnicos (GP + S%), bem estar (higidez) (IVS + IHS + FC), econômicos (TEE
36 + ILE) e hematológicos (eritrograma + metabólitos + íons) as dietas para juvenis de tambaqui
37 podem receber até 50% de substituição do milho pelo glicerol sem comprometer o seu
38 desenvolvimento nas condições estudadas.

39 **Palavras-chave:** hematologia, nutrição, peixe, crescimento, resíduo do biocombustível, PCA.

40 **1 Introdução**

41 O tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) é um peixe de água doce
42 Neotropical com grande potencial para a piscicultura continental da América Latina. No Brasil,
43 é a segunda espécie mais explorada na piscicultura devido às altas taxas de crescimento,
44 adaptação a sistemas de cultivo intensivo e a qualidade do seu filé (Rodrigues, 2014). Apesar
45 de sua importância para os países da América, são escassos os trabalhos na área de nutrição,

46 principalmente em relação a substituição de ingredientes convencionais por alternativos
47 (Oliveira et al. 2006; Aride et. al. 2007; Santos et al. 2010; Guimarães et al. 2015).

48 Entre os ingredientes alternativos pode-se citar o glicerol que é um subproduto da
49 produção do biodiesel, o qual pode ser refinado e destinado a outros fins, como por exemplo, a
50 inclusão na ração animal por se tratar de uma excelente fonte energética de baixo custo, além
51 do apelo ambiental. Estudos recentes com sua aplicação na alimentação animal obtiveram
52 resultados zootécnicos e fisiológicos satisfatórios em aves, suínos, ruminantes e peixes,
53 possibilitando substituir o milho e o óleo de soja em níveis ideais indicados pelos autores
54 (Cerrate et al. 2006; Balen et al. 2014; Lall et al. 2015; Moesch et al. 2016).

55 Li et al. (2010) citaram que dietas de até 10% de glicerol para o bagre de canal (*Ictalurus*
56 *punctatus*) não afetou o crescimento e até 20% não afetou os parâmetros hematológicos. Neu,
57 et al. (2013) observaram em alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) que o nível de
58 até 100%, foi satisfatório para o desempenho zootécnico e parâmetros hematológicos.
59 Gonçalves et. al. (2015) sugeriram para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) um
60 percentual de até 12% como sendo o ideal. Matos et al. (2016) avaliaram o desempenho
61 zootécnico de juvenis de tambaqui com dietas substituindo o milho e o óleo de soja por glicerina
62 bruta e sugerem que o nível de até 15% não afeta o crescimento. Entretanto, ainda não foram
63 realizados estudos com o glicerol em dietas para tambaqui relacionando o crescimento e as
64 condições fisiológicas.

65 Contudo, para realizar estudos na área de nutrição de peixes incluindo ingredientes
66 alternativos nas rações há a necessidade também de estudar a hematologia dos peixes, pois, o
67 mesmo atua como mecanismo avaliador das variações dos elementos sanguíneos de forma
68 qualitativa e quantitativa, frente as condições endógenas e exógenas de defesa orgânica, tais
69 como: peso, comprimento, estado nutricional, atividade muscular intensa, temperatura, pH,
70 concentração de O₂ e CO₂ na água, estresse, patógenos e poluentes, possibilitando determinar

71 a gravidade através dos exames que auxiliam diagnósticos relacionados ao bem estar animal
72 (Eckmann, 1987; Tavares-Dias et al. 1998; Tavares-Dias et al. 1999; Affonso et al. 2002; Aride
73 et al. 2006; Aride et al. 2006; De Almeida et al. 2011; Ranzani-Paiva et al. 2013; Moraes et al.
74 2014; Fiúza et al. 2015; Araújo et al.2016; Chagas et al. 2016).

75 Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o desempenho zootécnico,
76 as respostas hematológicas e os indicadores econômicos de juvenis de *C. macropomum*
77 alimentados com dietas contendo diferentes níveis de substituição parcial do milho pelo
78 glicerol.

79 **2 Material e métodos**

80 **2.1 Animais, instalações e dietas experimentais**

81 O trabalho foi conduzido no Laboratório de Produção de Organismos Aquáticos
82 (LaPOAq) da Universidade Nilton Lins Manaus/AM durante 100 dias (sendo: 10 dias de
83 aclimatação, 90 dias de experimento) e aprovado na Comissão de Ética no Uso de Animais
84 (CEUA/Nilton Lins), sob protocolo nº 015/2015.

85 Foram utilizados 240 juvenis de tambaqui, com peso médio inicial e comprimento
86 padrão, $15,32 \pm 1,61$ g e $8,03 \pm 0,22$ cm, respectivamente, provenientes do Centro de
87 Treinamento Tecnologia e Produção em Aquicultura (CTTPA), localizado no distrito de
88 Balbina no Município de Presidente Figueiredo, Amazonas (AM), transportados em sacos
89 plásticos com oxigênio até o LaPOAq, sendo distribuídos aleatoriamente, 12 peixes em vinte
90 caixas d'água circulares de polietileno com volume útil de 310 L em sistema fechado sem
91 reaproveitamento, aeração contínua, reposição de água após sifonamento que ocorreu a cada 48
92 horas durante todo o período experimental. Os peixes foram alimentados *ad libitum* duas vezes
93 por dia (manhã 9 e 17h) com rações experimentais balanceadas de forma isoenergética/
94 isoprotéica e granulometria de 4 mm, elaboradas com ingredientes semi-purificados contendo

95 diferentes níveis de substituição parcial do milho pelo glicerol (Controle (0 %) , 25 % , 50 % ,
96 75 % , e 100%) por um período de 90 dias (Tabela 1).

97 **Tabela 1.** Composição das rações experimentais com diferentes níveis de substituição parcial
 98 do milho pelo glicerol para juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818).

Ingredientes (g/kg)	Glicerol (% na dieta)				
	0	25	50	75	100
Farelo de Soja ^a	450.00	450.00	450.00	450.00	450.00
Farelo de Milho ^{a, b}	300.00	225.00	150.00	75.00	0.00
Farelo de Trigo ^b	135.70	135.50	135.00	137.60	147.00
Farinha de Peixe	58.30	56.50	54.80	52.30	47.70
Glicerol ^c	0.00	75.00	150.00	225.00	300.00
L-Lisina ^a	2.20	2.30	2.50	2.70	2.90
DL-Metionina ^a	0.10	0.20	0.30	0.30	0.50
Óleo de Soja ^b	25.80	23.20	20.40	17.20	12.00
Sal comum	3.50	8.00	9.00	11.60	11.70
Fosfato bi cálcico	20.40	20.30	24.00	24.30	24.20
Premix mineral e vitamínico ^d	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Atendimento^e					
Proteína Bruta (g/kg) ^a	280.00	280.00	280.00	280.00	280.00
Energia Digestível (MJ/kg) ^{a, c}	13.807	13.807	13.799	13.807	13.807
Cálcio (g/kg)	10.50	10.50	10.50	10.50	10.50
Fósforo (g/kg)	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00
Custo da Dieta (R\$/kg) ^f	1.31	1.27	1.22	1.17	1.13

99 ^aDe acordo com Rodrigues (2014)

100 ^bTaxa de digestibilidade de acordo com (Guimarães et al. 2014)

101 ^cTaxa de digestibilidade de acordo com (Balen et al. 2014)

102 ^d Níveis de micronutrientes mineral e vitamínico (Premix Nutrifish Guabi®, Campinas, SP,
 103 Brazil) por kg⁻¹ do produto: Fe 15 000 mg; Cu 2500 mg; Zn 12 500 mg; I 375 mg; Mn 12 500
 104 mg; Se 87.5 mg; Co 125 mg; vitamin A 2 500 000 IU; vitamin D3 600 000 IU; vitamin E 37
 105 500 IU; vitamin K 3750 mg; vitamin C 50 000; vitamin B1 4000mg; vitamin B2 4000mg;
 106 vitamin B6 4000mg; vitamin B12 4000 µg; pantothenic acid 12 000 mg; biotin 15 mg; folic
 107 acid 1250 mg; niacin 22 500 mg; BHT 15 000 mg

108 ^eOs níveis de nutrientes foram calculados usando software (Super Crac Premium®)

109 ^fConsiderando taxa de câmbio em 08/08/2017 de US \$ 1,00 = R \$ 3,13.

110 2.2 *Desempenho zootécnico e delineamento experimental*

111 Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado (DIC), constituído por quatro
 112 tratamentos e um controle, quatro repetições. Foram coletados doze peixes por tratamento em
 113 dois tempos amostrais (sendo basal = 6 peixes e 90 dias = 6 peixes = 12 peixes por tratamento).
 114 Antes das biometrias suspendeu-se por 48 horas o fornecimento das rações e durante a biometria
 115 os animais foram sedados por 3 minutos com Eugenol[®] dose de 35 mg L⁻¹ (Roubach et al.
 116 2005), posteriormente os animais foram pesados e medidos para estimativa dos parâmetros de
 117 crescimento. Em cada tempo amostral oito peixes por tratamento foram submetidos a eutanásia,
 118 dissecados, retirando-se fígados e vísceras, para determinação dos índices hepatossomático
 119 (Bombardelli et al. 2010) e viscerossomático (Ng e Wang, 2011). As carcaças, músculos e tratos
 120 digestórios foram imediatamente congelados em freezer (-80 °C) para análises subsequentes.
 121 Os parâmetros analisados foram:

122 **Ganho de peso (GP; g, peso úmido)** = $(P_f - P_i) \div N^\circ$ de peixes por repetição;

123 **Ração Consumida (RC (g, peso seco)** = ração ofertada (g, peso seco) \div N^o de peixes final por

124 tratamento; **Conversão alimentar aparente (CAA)** = $(RC \text{ (g, peso seco)} \div GP \text{ (g, peso$

125 úmido)); **Taxa de crescimento específico (TCE, %)** = $100 * (LN (P_f) - LN (P_i)) \div \text{dias do}$

126 experimento ; **Taxa de eficiência proteica (TEP, %)** = $GP \div \text{quantidade de proteína ofertada}$

127 * 100; **Fator de condição (FC)** = $100 * P_c \text{ (g, peso úmido)} \div CP_f \text{ (cm)}^3$; **Sobrevivência (S, %)**

128 = $100 * N^\circ \text{ de peixes final por tratamento} \div N^\circ \text{ de peixes inicial por tratamento}$;

129 **Índice hepatossomático (IHS; %)** = $100 * (P_1 \div P_c)$; **Índice viscerossomático (IVS; %)** =

130 $100 * (P_v \div P_c)$.

131 **Onde:** LN= Logaritmo natural; **RC** = Consumo de ração (g, peso seco); **CPf** = Comprimento

132 padrão final (cm) da amostra; **Pf** = Peso médio final (g, peso úmido); **Pi** = Peso médio inicial

133 (g, peso úmido); **P1** = Peso do fígado por amostra (g, peso úmido); **Pv** = Peso da víscera por

134 amostra (g, peso úmido); **Pc** = Peso do corpo por amostra (g, peso úmido).

135 **2.3 Parâmetros hematológicos**

136 Foi utilizado um DIC Fatorial, constituído por quatro tratamentos e um controle, quatro
137 repetições, sendo quatro peixes por tratamento em dois tempos de coleta (basal e 90 dias). Onde
138 foram retirados cerca de 1,0 mL de sangue pela punção caudal para avaliação dos parâmetros
139 hematológicos, metabólicos e íons plasmáticos. Para as análises hematológicas foi realizado a
140 contagem de eritrócitos circulantes (RBC) utilizando-se a câmara de Neubauer após diluição
141 do sangue total em formol-citrato, visualizados em microscópio (Leica, DM3000) na objetiva
142 de 40x; A concentração de hemoglobina (Hb) foi determinada pelo método de
143 cianometahemoglobina e o hematócrito pelo método de microhematócrito. Após isso, foram
144 calculados os índices hematimétricos: volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina
145 corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). O
146 plasma foi obtido após centrifugação a 750 rpm durante 10 minutos e imediatamente congelado
147 em freezer (-20 °C) até ao momento das análises bioquímicas. As variáveis bioquímicas do
148 sangue incluíram a quantificação dos níveis de glicose, triglicerídeos, colesterol, proteínas
149 totais, albumina, cálcio, ureia e fósforo com auxílio de Kits laboratoriais comerciais (Labtest
150 Diagnóstica S.A., Belo Horizonte, Brasil) específicos para cada parâmetro, com posterior
151 leitura em espectrofotômetro (Thermo Fisher Scientific Multiskan™ GO). Os íons plasmáticos:
152 sódio e potássio, (Na^+ e K^+) foram analisados em fotometria de chama (Digimed DM-62,
153 Campo Grande, Brasil), os níveis de cloreto e amônia (Cl^- e NH_4^+) com auxílio dos Kits
154 laboratoriais (Labtest Diagnóstica S.A., Belo Horizonte, Brasil) e leitura em espectrofotômetro
155 em comprimento de onda específico para cada ensaio, segundo o fabricante.

156 **2.4 Indicadores econômicos**

157 Os preços dos ingredientes utilizados nos cálculos de custos das dietas foram obtidos
158 em Biomercado© (Viçosa, Minas Gerais, Brasil) com base no preço de cotação médio nacional,
159 usando a taxa de câmbio (US \$ 1 = R\$ 3,13 em 08 de agosto de 2017): **farelo de soja**: R\$ 0,80

160 kg; **milho**: R\$ 1,28 kg; **farelo de trigo**: R\$ 1,15 kg; **farinha de peixes**: R\$ 1,65 kg; **glicerol**:
 161 R\$ 0,70 kg; **óleo de soja**: R\$ 1,28 kg; **sal comum**: R\$ 0,15 kg; **Premix vitamínico e mineral**:
 162 R\$ 1,28 kg; **fosfato bi cálcico**: R\$ 1,02 kg; **L-Lisina**: R\$ 2,56 kg, **DL-Metionina**: R\$ 2,24 kg.
 163 O custo de processamento (RS \$ 0,20 kg), ensacamento (R\$ 0,20 saco) e logística foram
 164 incluídos no preço das dietas. A logística utilizada foi a cabotagem (trecho: Ribeirão Preto - SP
 165 à Manaus – AM) no valor de R\$ 400,00 por tonelada.

166 **Preço de venda do tambaqui (PVE, kg) =** Custo alevino (R\$ indivíduo) ÷ Peso médio final
 167 (Pf, g) x 1000. Considerou-se o custo de R\$ 0,47 por juvenil de tambaqui, dividido pelo peso
 168 médio final experimental de 58,28 g multiplicado por 1000 (converter para Kg) sendo $(0,47 \div$
 169 $58,28 \times 1000) = 8,06$. Portanto estimou-se o PVE em **R\$ 8,0 kg**. Os indicadores avaliados de
 170 acordo com Martínez-Llorens et. al. (2007):

171 **Taxa de eficiência econômica (TEE, R\$ kg) (Modificado) =** Dieta ofertada ÷ N° de peixes
 172 final por tratamento (kg) x custo da dieta (kg) ÷ **GP (kg)**;

173 **Índice de lucratividade Econômica (ILE, R\$ peixe) =** TEE (kg de peixe) x **GP (kg) - Pf (kg**
 174 **de peixe) x PVE.**

175 **2.5 Monitoramento dos parâmetros físicos e químicos da água**

176 Durante todo o período experimental aferiu-se pela manhã (9:00h) e tarde (17:00h):
 177 Temperatura (° C), pH, oxigênio dissolvido (mg L^{-1}) obtendo um total de 180 amostras (90 pela
 178 manhã e 90 à tarde). Semanalmente os níveis amônia total (mg L^{-1}) e nitrito (mg L^{-1}) foram
 179 determinados com auxílio de frascos de 100 mL, analisados imediatamente após as coletas.
 180 Todas as análises foram realizadas com auxílio do kit Acquacombo/Técnico – TD 1555
 181 (Alfakit, Florianópolis, Brasil) seguindo as orientações do fabricante. Os parâmetros de
 182 qualidade de água analisados, apresentaram valores para temperatura de $26,80 \pm 0,08$ °C;
 183 oxigênio dissolvido, $6,27 \pm 0,03$ mg L^{-1} ; pH, $6,94 \pm 0,02$, amônia total, $0,08 \pm 0,01$ mg L^{-1} e
 184 nitrito $0,01 \pm 0,00$ mg L^{-1} .

185 2.6 Análises estatísticas

186 Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão. O Teste de Shapiro-Wilker
 187 foi utilizado para avaliar a normalidade e o Teste Bartlett para avaliar a homocedasticidade dos
 188 dados. Quando a distribuição foi normal aplicou-se a análise de variância (ANOVA). Para os
 189 dados cuja distribuição apresentava curva Gaussiana. Os dados não-paramétricos foram
 190 avaliados pelo Teste de Kruskal-Wallis. Para ANOVA paramétrica foi aplicado o Teste de
 191 Tukey quando houve diferença entre os tratamentos e representou-se graficamente por
 192 regressão quadrática. O nível de (5%) significância foi considerado para todas as análises (Zar,
 193 2010; Volpato et al. 2016). Os dados foram analisados utilizando os Software R (versão – 3.4)
 194 pacote (Rcmdr) plug-in (FactoMineR). Foi aplicado a Análise de Componentes Principais
 195 (PCA) para melhor representação das interações entre as variáveis estudadas considerando os
 196 seguintes fatores: tratamentos (níveis de substituição), tempo (basal e final), peso e
 197 comprimento. Apenas os dois primeiros componentes da PCA foram usados para interpretação.

198 3 Resultados

199 3.1 Desempenho zootécnico, índices corporais e indicadores econômicos

200 **Tabela 2.** Valores médios do desempenho zootécnico de juvenis de tambaqui *Colossoma*
 201 *macropomum* com diferentes níveis de substituição parcial do milho de glicerol no período de
 202 90 dias.

Parâmetros ^a	Nível de Glicerol (% na dieta)					<i>p</i> ^b	<i>p</i> ^c	CV ^d
	0	25	50	75	100			
Pf (g)	56,82 $\pm 0,41b$	64,00 $\pm 0,38a$	64,44 $\pm 0,35a$	53,44 $\pm 0,55c$	52,73 $\pm 0,41d$	0,41	0,95	0,73
CPf (cm)	12,18 $\pm 0,17c$	12,54 $\pm 0,27b$	12,88 $\pm 0,24a$	11,85 $\pm 0,12d$	11,85 $\pm 0,09d$	0,39	0,43	1,55
GP (g) ^e	41,25 $\pm 0,75c$	46,91 $\pm 0,70b$	47,99 $\pm 0,62a$	37,74 $\pm 0,58d$	37,27 $\pm 0,75d$	0,35	0,99	1,62
TCE (% , dia) ^e	1,44 $\pm 0,04b$	1,47 $\pm 0,03b$	1,52 $\pm 0,03a$	1,36 $\pm 0,02c$	1,36 $\pm 0,04c$	0,07	0,90	2,11
TEP (%) ^e	147,31	167,55	171,38	134,78	133,12	0,35	0,99	1,63

	±2,67c	±2,50b	±2,20a	±2,09d	±2,69d			
CCA	0,51	0,50	0,48	0,61	0,62	-	-	-
S (%)	93,75	91,67	95,83	87,50	85,42	-	-	-
Índices corporais								
IHS (%) ^e	1,58 ±0,25c	1,67 ±0,22bc	1,66 ±0,15bc	2,18 ±0,11a	1,95 ±0,24ab	0,46	0,68	11,08
IVS (%) ^e	11,57 ±0,86bc	11,13 ±0,14c	11,33 ±0,39c	12,90 ±1,01a	12,52 ±0,86ab	0,99	0,06	6,17
FC	3,15 ±0,11	3,25 ±0,22	3,02 ±0,16	3,21 ±0,09	3,17 ±0,06	0,57	0,32	4,45
Indicadores econômicos								
TEE (R\$ kg)	0,67	0,63	0,59	0,72	0,69	-	-	-
ILE (R\$ peixe ⁻¹)	0,43	0,48	0,49	0,40	0,40	-	-	-

203 ^a Dados expressos em Médias e ± Desvio-padrão (N = 12). Os valores na mesma linha com
204 letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey (p>0,05).

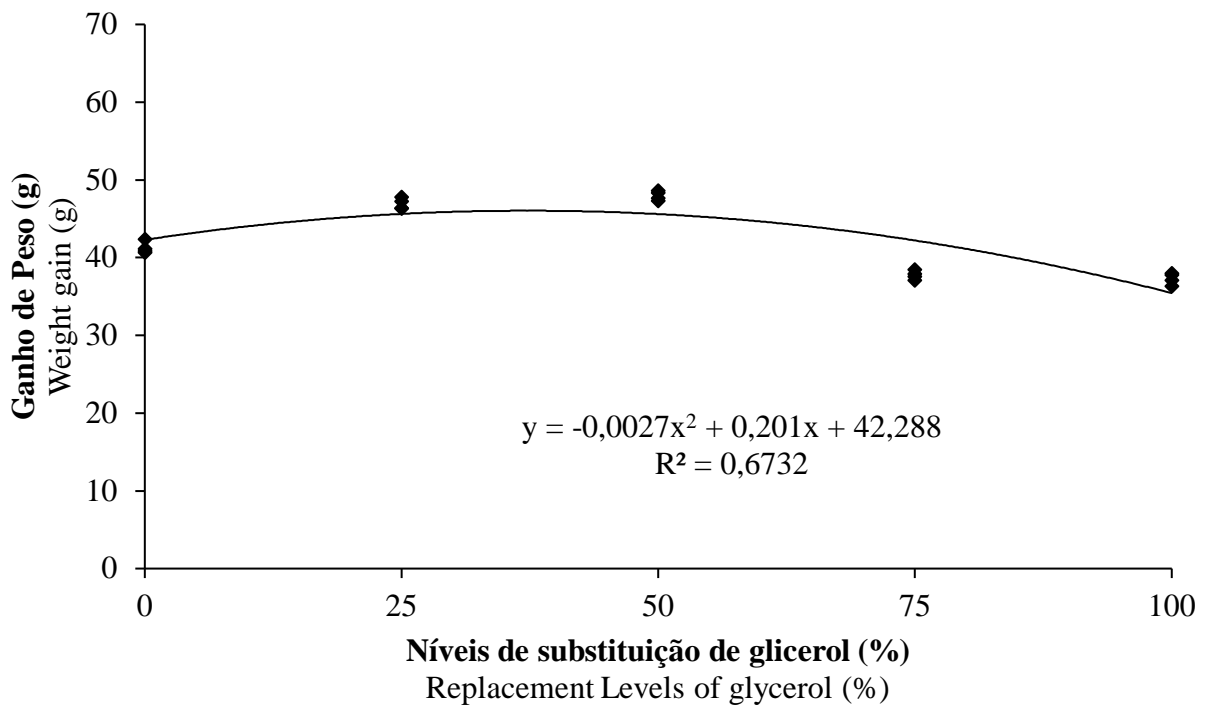
205 ^b De acordo com o teste de Shapiro-Wilk (p<0,05) os dados são considerados normais.

206 ^c De acordo com o teste de Bartlett (p<0,05) os dados são considerados homogêneos.

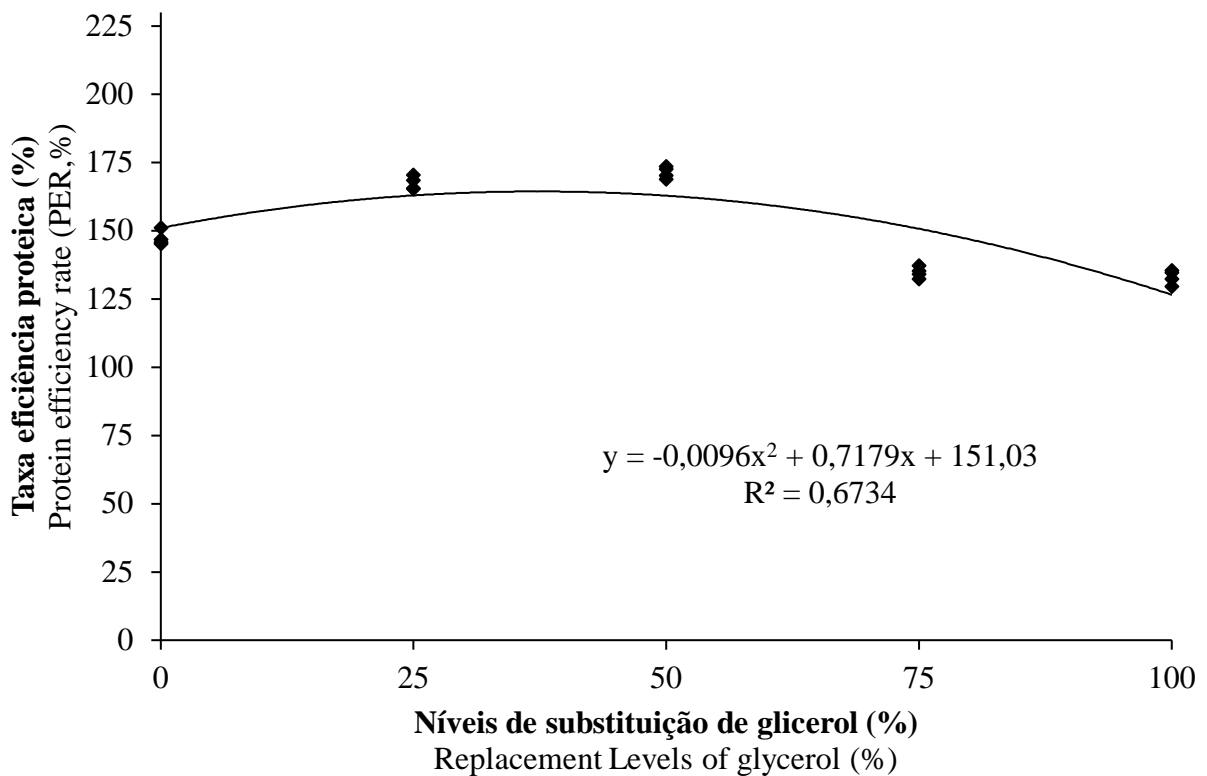
207 ^d Coeficiente de variação (%).

208 ^e Dados foram representado graficamente por regressões quadráticas.

209 * Pf = peso final, CPf = comprimento padrão final, GP = ganho de peso, TCE = taxa de
210 crescimento específico, TEP = taxa de eficiência proteica, CAA = conversão alimentar
211 aparente; S = sobrevivência, IHS = índice hepatossomático, IVS = índice viscerossomático, FC
212 = fator de condição, TEE = taxa de eficiência econômica e ILE = índice de lucratividade
213 econômica.

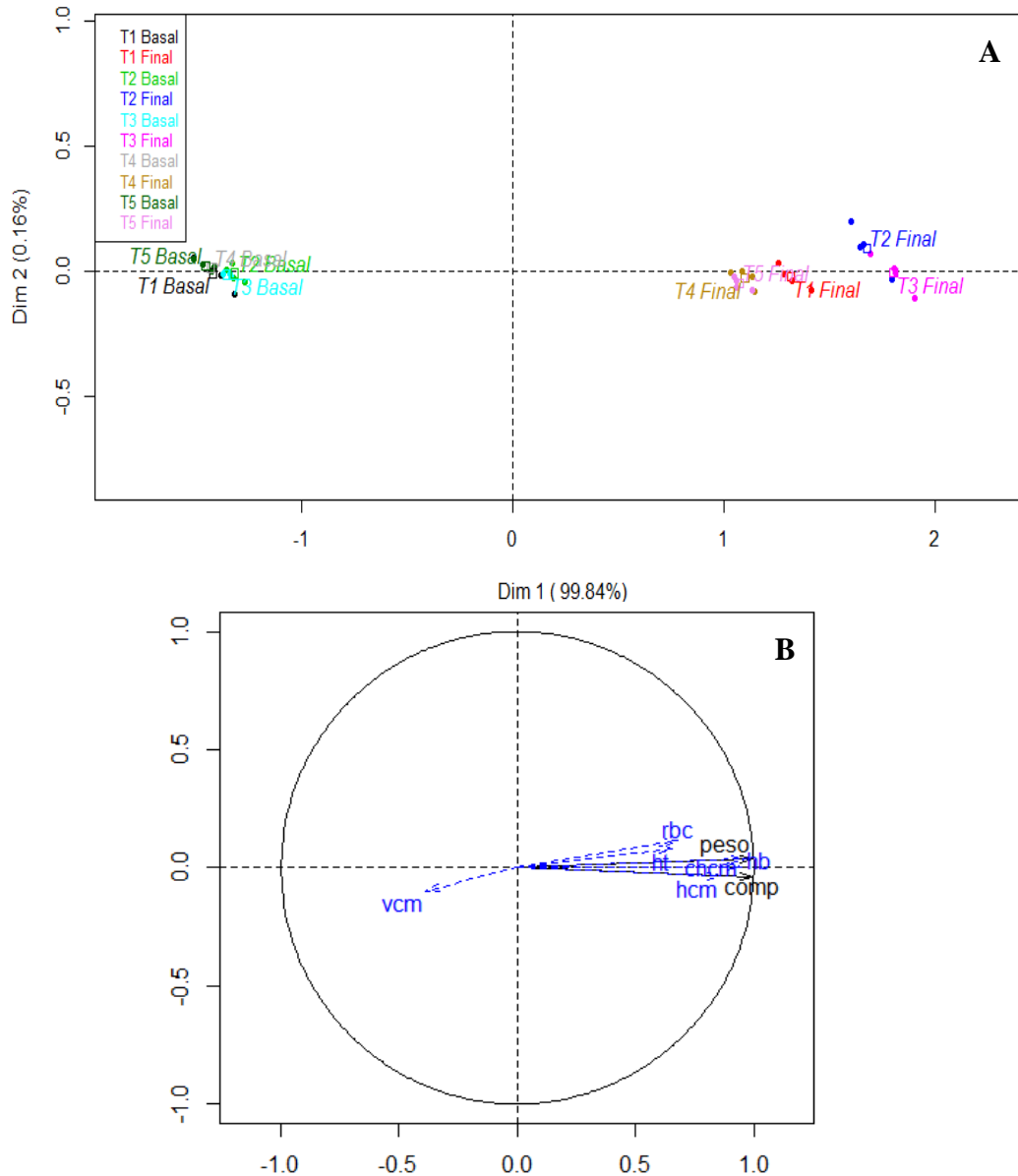


214 **Figura 1.** Ganho de Peso (g) de juvenis de tambaqui alimentados com diferentes níveis de
 215 substituição do milho pelo glicerol.

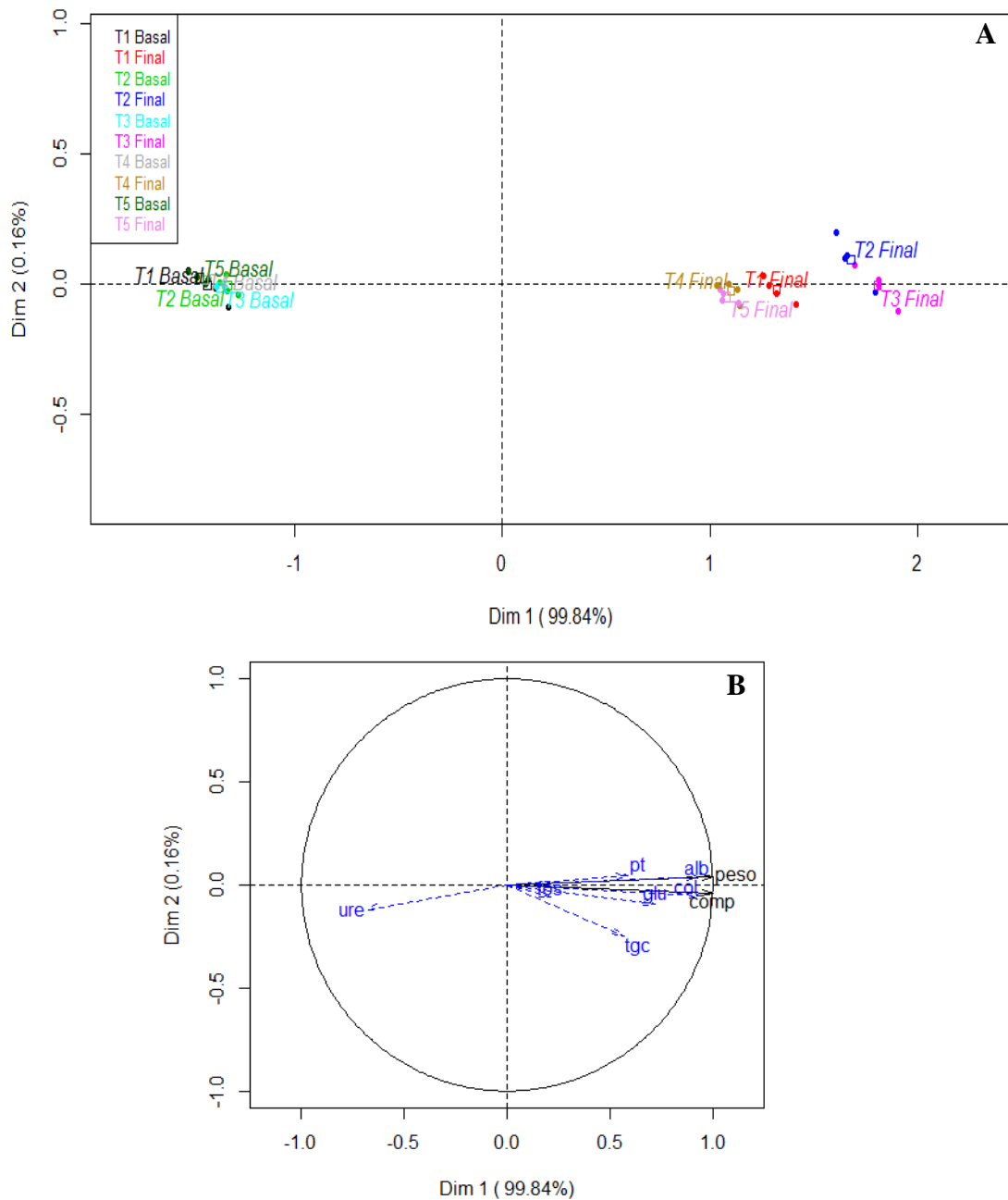


216 **Figura 2.** Taxa de eficiência proteica (%) de juvenis de tambaqui alimentados com diferentes
 217 níveis de substituição do milho pelo glicerol.

218 3.2 Hematologia



219 **Figura 3.** Análise de componentes principais (PCA) eritrograma do tambaqui (*Colossoma*
 220 *macropomum*) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de substituição parcial do
 221 milho pelo glicerol. (A) T1 Basal cor (preto) = nível de 0%; T2 Basal cor (verde claro) = nível
 222 de 25%; T3 Basal cor (azul celeste) = nível de 50%; T4 Basal cor (cinza) = nível de 75%; T5
 223 Basal cor (verde escuro) = nível de 100%; T1 Final cor (vermelho) = nível de 0%; T2 Final cor
 224 (azul escuro) = nível de 25%; T3 Final cor (rosa escuro) = nível de 50%; T4 Basal cor (ocre) =
 225 nível de 75%; T5 Basal cor (rose claro) = nível de 100%. (B) peso (g) e comp = comprimento
 226 (cm) ambos na cor (preta) e em (azul) Hb (g/dL) = hemoglobina; Ht (%) = hematócrito; RBC
 227 (milhões/ μ L) = contagem de células vermelhas; VCM (fL) = volume corpuscular médio; HCM
 228 (g/dL) = hemoglobina corpuscular média e CHCM (%) concentração de hemoglobina
 229 corpuscular média.



230 **Figura 4.** Análise de componentes principais (PCA) metabólitos plasmáticos do tambaqui
 231 (*Colossoma macropomum*) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de substituição
 232 parcial do milho pelo glicerol. **(A)** T1 Basal cor (preto) = nível de 0%; T2 Basal cor (verde
 233 claro) = nível de 25%; T3 Basal cor (azul celeste) = nível de 50%; T4 Basal cor (cinza) = nível
 234 de 75%; T5 Basal cor (verde escuro) = nível de 100%; T1 Final cor (vermelho) = nível de 0%;
 235 T2 Final cor (azul escuro) = nível de 25%; T3 Final cor (rosa escuro) = nível de 50%; T4 Basal
 236 cor (ocre) = nível de 75%; T5 Basal cor (rose claro) = nível de 100%. **(B)** peso (g^{-1}) e comp =
 237 comprimento (cm) ambos na cor (preta) e em (azul) glu (mg/dL) = glicose; tgc (mM/L) =
 238 triglicerídeos; col (mg/dL) = colesterol; ure (mg/dL) = ureia; fos (mg/dL) = fósforo; pt (g/dL)
 239 = proteínas totais e alb (g/dL) = albumina.

240 4 Discussão

241 4.1 Desempenho zootécnico

242 Observou-se um efeito quadrático ($P < 0,05$) sobre o ganho de peso e taxa de eficiência
243 proteica (Figuras 1 e 2). Com a derivação das equações do ganho de peso $y = -0,0027x^2 +$
244 $0,201x + 42,288$ e taxa de eficiência proteica $y = -0,0096x^2 + 0,7179x + 151,03$, verifica-se que
245 50% de substituição do milho pelo glicerol, oferecem melhores resultados para ganho de peso
246 (47,99g) e taxa de eficiência proteica (171,38%) para juvenis de tambaqui (Tabela 2). O uso do
247 glicerol como ingrediente energético na alimentação de peixes como tilápia do Nilo
248 (*Oreochromis niloticus*), carpa comum (*Cyprinus carpio*), bagre de canal (*Ictalurus punctatus*)
249 e tambaqui (*Colossoma macropomum*) vem apresentando resultados satisfatórios para o
250 crescimento comprovando ser uma opção de substituição do milho e óleo de soja na nutrição
251 desses peixes (Graeff e Tomazelli, 2007; Li et al. 2010; Meurer et al. 2012; Neu et al. 2012;
252 Neu et al. 2013; Matos et al. 2016; Moesch et al. 2016).

253 Os valores obtidos no presente estudo indicam que existe uma tendência de redução do
254 crescimento após o nível de 50% de substituição do glicerol, portanto diferem dos resultados
255 apresentados por Matos et al. (2016) que observaram até o nível de 15% de substituição em
256 dietas para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) não houve diferença nas condições
257 estudadas para os parâmetros de crescimento. Diferindo também dos estudos de Neu et al.
258 (2012), Neu et al. (2013) e Graeff e Tomazelli (2007) que citam que não houve diferença
259 significativa sobre o desempenho zootécnico, sugerindo a substituição em até 100% de milho
260 pelo glicerol bruto para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e juvenis de carpa
261 (*Cyprinus carpio*). Li et al. (2010) observaram em dietas para bagre de canal (*Ictalurus*
262 *punctatus*) que o uso de até 10% de glicerol bruto não influenciou o crescimento e as condições
263 fisiológicas.

264 No entanto, os indicadores de bem estar: o índice hepatossomático e viscerossomáticos
265 (Tabela 2), observou-se para ambos que os níveis crescentes de substituição do milho pelo
266 glicerol possuem tendência de aumento, sendo assim, podem interferir no metabolismo
267 energético, acelerando ou aumentando a deposição de gordura visceral e energia na forma de
268 glicogênio e/ou lipídios no fígado (Moesch et al. 2016). Os resultados do presente estudo não
269 estão de acordo com Matos et al. (2016) onde observaram que o índice hepatossomático não
270 alterou até o nível de 15% de substituição, no entanto os autores não testaram o nível máximo
271 de substituição. A conversão alimentar aparente apresentou resultados abaixo de 1 para todos
272 os tratamentos, indicando que o glicerol satisfaz as necessidades energéticas dos peixes nas
273 condições estudadas, substituindo o milho de forma satisfatória. Porém com tendência de
274 aumento na CCA após o nível de 50% de substituição.

275 **4.2 Hematologia**

276 Os resultados observados na análise univariada dos parâmetros hematológicos foram
277 expressos na (Tabela 3) e as interações entre as variáveis estudadas foram representadas
278 graficamente por meio da análise de componentes principais (PCA) (Figuras 3 e 4).

279 Foi observado interação significativa ($X=99,84$; $Y=0,16$; $X+Y=100$) nas propriedades
280 referente ao eritrograma (3A) onde houve forte interação no eixo X, demonstrando distinção
281 clara entre os grupos basal (lado esquerdo = negativo) e final (lado direito = positivo) e eixo Y
282 (superior = positivo; inferior = negativo) quando comparado as condições experimentais
283 envolvendo as rações com adição de glicerol (0%, 25%, 50%, 75%, 100%). Essas alterações
284 estão associadas ao crescimento dos animais em função do tempo utilizado no presente estudo,
285 haja vista, é descrito por Tavares-Dias et al. (1998) que o aumento das variáveis referentes ao
286 eritrograma são proporcionais ao aumento de massa corpórea e comprimento total para o
287 tambaqui. Porém o presente estudo difere desses resultados pois a (Figura 3B) demonstra no
288 (eixo X) que em relação ao tempo e os tratamentos existe forte interação positiva com peso nos

289 níveis de substituição 25 % e 50% para os parâmetros (RBC, Ht e Hb) e interação positiva com
290 comprimento (eixo X) com tendência negativa no (eixo Y) nas constantes corpusculares CHCM
291 e HCM em 75 % e 100% e similar ao que Li et. al. (2010) observaram para o bagre de canal
292 (*Ictalurus punctatus*) obtendo tendência positiva de até o nível de 10%, para a hemoglobina
293 relacionado ao peso e comprimento. O tempo basal apresentou claramente um agrupamento
294 entre os tratamentos para todas as variáveis indicando uma tendência de homeostase e
295 confirmando que todos os animais possuíam as mesmas condições iniciais.

296 As interações observadas em relação aos metabólitos plasmáticos estão representadas
297 na (Figura 4A), onde ocorre forte interação ($X= 99,84$; $Y= 0,16$; $X+Y = 100$) demonstrando
298 claramente os agrupamentos no (eixo X) entre os grupos experimentais (25 % e 50%) em
299 relação grupos experimentais (0 %, 75 % e 100 %) após 90 dias. Separando-os pelo (eixo Y)
300 (25 % houve interação com tendência positiva e 50 % com tendência negativa), ambos
301 apresentaram interações superiores aos tratamentos (0, 75 e 100%) (Figura 4B), observou-se
302 interação com tendência positiva com o peso nos (eixos X+Y) tempo final e tratamentos, para
303 (proteínas totais e albumina) e interação com tendência negativa em relação ao comprimento
304 nos respectivos parâmetros metabólicos: glicose, fósforo, triglicerídeos e colesterol entre os
305 diferentes níveis de substituição do milho pelo glicerol. Desses metabólitos destacou-se os
306 triglicerídeos (TGC) (Tabela 3) indicando que quanto maior o nível de substituição mais
307 elevados foram seus níveis no plasma. Os triglicerídeos e fosfolipídios compreendem a classe
308 dos lipídios estruturando as membranas celulares na bicamada lipídica, com proteínas imersas.
309 O glicerol no metabolismo de acordo com Min et al. (2008), desempenha um papel o estrutural
310 para os triglicerídeos e fosfolipídios fornecendo energia nas vias glicolíticas e dos ácidos
311 carboxílicos, portanto é osmorregulador, ou seja, tem como finalidade restabelecer e manter o
312 volume normal de pressão, e a atividade das células (Lin 1977).

313 4.3 Indicadores econômicos

314 A logística de insumos para fabricação de rações é um gasto elevado para as indústrias
315 de rações instaladas no estado do Amazonas em relação ao milho pode-se observar que o custo
316 de produção tende a reduzir a medida de que aumenta nível de substituição pelo glicerol na
317 dieta (Tabela 1). Em sistema de cultivo a alimentação pode corresponder a 70% dos custos de
318 produção Bicudo et. al. (2010), nesse contexto os conhecimentos sobre os indicadores
319 econômicos aplicados nos experimentos com dietas alternativas permitem estimar o sucesso
320 com a adoção de novos ingredientes.

321 Nesse estudo, a taxa de eficiência econômica (TEE) sofre alterações relacionadas com
322 a conversão alimentar aparente (CAA); o índice de lucratividade econômica (ILE) com o ganho
323 de peso (GP); taxa de crescimento específico (TCE) e taxa de eficiência proteica (TEP) (Tabela
324 2). Apesar do nível de 100 % de substituição apresentar o valor da ração inferior, não foi a
325 melhor resposta, pois a biomassa final é influenciada pela sobrevivência que por sua vez
326 influenciou na redução nos lucros. Entre os dois índices econômicos avaliados o que melhor
327 representou as respostas de desempenho zootécnico foi o ILE seguindo as variações entre os
328 níveis de substituição para esses dados zootécnicos e confirmando que os níveis de 25 % e 50%
329 responderam melhor economicamente. Sweilum et. al. (2005) avaliaram o retorno econômico
330 de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) relatando que houve relação inversamente
331 proporcional entre Proteína bruta (PB) a e Energia digestível (ED, quando elevou-se (PB) nas
332 dietas, aumentou-se o retorno econômico, porém o retorno econômico foi reduzido quando
333 elevou-se o nível de (ED) nas dietas, sugerindo o nível intermediário dessa relação entre PB e
334 ED. Bicudo et al. (2010) analisando os mesmos indicadores econômicos para juvenis de pacu
335 *Piaractus mesopotamicus*, utilizando dietas contendo diferentes níveis de proteína e energia
336 digestível constatou que a TEE foi proporcional ao nível de proteína e energia digestível na
337 dieta. O presente estudo difere desses pois demonstra o efeito dos indicadores econômicos em

338 dietas formuladas atendendo valores fixos de ED/PB (isoenergéticas e isoproteicas)
339 substituindo um ingrediente convencional por alternativos, destacando assim a participação do
340 ingrediente testado. Segundo Martinez-Llorenz et al. (2007), esses indicadores econômicos
341 consideram efeitos técnicos importantes e podem ser ferramentas comuns em estudos
342 nutricionais para peixes. É importante considerar que os resultados obtidos para o ILE foram
343 calculados para o peso de peixe inteiro com vísceras, não sendo considerados os rendimentos
344 de carcaça e filé que por sua vez aumenta a acurácia da avaliação, fundamental para a nutrição
345 de peixes e preço final do produto.

346 **5 Conclusão**

347 Os níveis de 25% e 50% de glicerol demonstram os melhores resultados na fase e nas
348 condições estudadas. Considerando os parâmetros: zootécnicos (GP + S%), bem estar (higidez)
349 (IVS + IHS + FC), econômicos (TEE + ILE) e hematológicos (eritrograma + metabólitos +
350 íons) as dietas para juvenis de tambaqui podem receber até 50% de substituição do milho pelo
351 glicerol sem comprometer a espécie.

352 **6 Agradecimentos**

353 Este trabalho foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do
354 Amazonas (FAPEAM), sob o edital 030/2013. O autor principal é grato a FAPEAM pela bolsa
355 de mestrado concedida.

356 **7 Referências**

357 Affonso, E., Polez, V. L., Corrêa, C., Mazon, A., Araújo, M. R., Moraes, G., & Rantin, F.
358 (2002). Blood parameters and metabolites in the teleost fish *Colossoma macropomum* exposed
359 to sulfide or hypoxia. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology &*
360 *Pharmacology*, 133(3), 375–382. [https://doi.org/10.1016/S1532-0456\(02\)00127-8](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(02)00127-8)

- 361 Araújo, J. G., Guimarães, I. G., Mota, C. S., de Paula, F. G., Café, M. B., & Pádua, D. M. C.
362 (2016). Dietary available phosphorus requirement for tambaqui, *Colossoma macropomum*,
363 juveniles based on growth, haematology and bone mineralization. *Aquaculture Nutrition*.
364 <https://doi.org/10.1111/anu.12449>
- 365 Aride, P. H. R., Roubach, R., Nozawa, S. R., & Val, A. L. (2006). Tambaqui growth and
366 survival when exposed to different photoperiods. *Acta Amazonica*, 36(3), 381–384.
367 <https://doi.org/10.1590/S0044-59672006000300015>
- 368 Aride, P. H. R., Roubach, R., & Val, A. L. (2007). Tolerance response of tambaqui *Colossoma*
369 *macropomum* (Cuvier) to water pH. *Aquaculture Research*, 38(6), 588–594.
370 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01693.x>
- 371 Balen, R. E., Tetu, P. N., Bombardelli, R. A., Pozza, P. C., & Meurer, F. (2014). Digestible
372 energy of crude glycerol for pacu and silver catfish. *Ciência Rural*, 44(8), 1448–1451.
373 <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20131426>
- 374 Bombardelli, R. A., Hayashi, C., Natali, M. R. M., Sanches, E. A., & Piana, P. A. (2010). Níveis
375 de energia digestível sobre os desempenhos reprodutivo e zootécnico e a deposição de lipídios
376 nos hepatócitos de machos de tilápia do Nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(5), 941–949.
377 <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010000500001>
- 378 Centro de referência da Cadeia de Produção de Biocombustíveis para a Agricultura Familiar.
379 (2017). BIOMERCADO © - 2013. Recuperado de <http://www.biomercado.com.br/>
- 380 Cerrate S, Yan F, Wang Z, Coto C, Sacakli P, Waldroup PW. (2006). Evaluation of glycerine
381 from biodiesel production as a feed ingredient for broilers. *International Journal of Poultry*
382 *Science* 2006; 5:1001-1007. <https://doi.org/10.3923/ijps.2006.1001.1007>
- 383 Chagas, E. C., de Araújo, L. D., Martins, M. L., Carvalho Gomes, L., de Oliveira Malta, J. C.,
384 Varella, A. B., & Jerônimo, G. T. (2016). Mebendazole dietary supplementation controls
385 Monogenoidea (Platyhelminthes: Dactylogyridae) and does not alter the physiology of the
386 freshwater fish *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). *Aquaculture*, 464, 185–189.
387 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.06.022>
- 388 De Almeida, L. C., Avilez, I. M., Honorato, C. A., Hori, T. S. F., & Moraes, G. (2011). Growth
389 and metabolic responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed different levels of protein
390 and lipid: Growth and metabolism of tambaqui. *Aquaculture Nutrition*, 17(2), e253–e262.
391 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2010.00759.x>

- 392 Eckmann, R. (1987). Growth and body composition of juvenile *Colossoma macropomum*
393 Cuvier 1818 (Characoidei) feeding on artificial diets. *Aquaculture*, 64(4), 293–303.
394 [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(87\)90192-X](https://doi.org/10.1016/0044-8486(87)90192-X)
- 395 Fiúza, L. S., Aragão, N. M., Ribeiro Junior, H. P., de Moraes, M. G., Rocha, Í. R. C. B., Lustosa
396 Neto, A. D., Costa, F. H. F. (2015). Effects of salinity on the growth, survival, haematological
397 parameters and osmoregulation of tambaqui *Colossoma macropomum* juveniles. *Aquaculture*
398 *Research*, 46, 1–9. <https://doi.org/10.1111/are.12224>.
- 399 Graeff, A.; Tomazelli, A. (2007). Sources and levels of oils in the feeding of common carp
400 (*Cyprinus carpio* L.) in the phase of growth. *Ciênc. agrotec.* [online], vol.31, n.5, pp.1545-
401 1551. ISSN 1413-7054. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542007000500041>.
- 402 Gonçalves, L. U., Cerozi, B. da S., Silva, T. S. C., Zanon, R. B., & Cyrino, J. E. P. (2015).
403 Crude glycerin as dietary energy source for Nile tilapia. *Aquaculture*, 437, 230–234.
404 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.12.004>
- 405 Guimarães, I. G., Miranda, E. C., & Araújo, J. G. (2014). Coefficients of total tract apparent
406 digestibility of some feedstuffs for Tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Animal Feed Science*
407 *and Technology*, 188, 150–155. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.11.007>
- 408 Guimarães, I. G., & Martins, G. P. (2015). Nutritional requirement of two Amazonian
409 aquacultured fish species, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816) and *Piaractus brachypomus*
410 (Cuvier, 1818): a mini review. *Journal of Applied Ichthyology*, 31, 57–66.
411 <https://doi.org/10.1111/jai.12976>
- 412 Lall, S. P., & Dumas, A. (2015). Nutritional requirements of cultured fish. In *Feed and Feeding*
413 *Practices in Aquaculture* (p. 53–109). Elsevier. Recuperado de
414 <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780081005064000039>
- 415 Li, M. H., Minchew, C. D., Oberle, D. F., & Robinson, E. H. (2010). Evaluation of Glycerol
416 from Biodiesel Production as a Feed Ingredient for Channel Catfish, *Ictalurus punctatus*.
417 *Journal of the World Aquaculture Society*, 41(1), 130–136. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2009.00320.x>
- 419 Lin, E. C. C. (1977). Glycerol Utilization and its Regulation in Mammals. *Annual Review of*
420 *Biochemistry*, 46(1), 765–795. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.46.070177.004001>
- 421 Martínez-Llorens, S., Moñino, A. V., Tomás Vidal, A., Salvador, V. J. M., Pla Torres, M., &
422 Jover Cerdá, M. (2007). Soybean meal as a protein source in gilthead sea bream (*Sparus aurata*

- 423 L.) diets: effects on growth and nutrient utilization. *Aquaculture Research*, 38(1), 82–90.
424 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2006.01637.x>
- 425 Matos, P. R., Ramos, A. T., & Moron, S. E. (2016). Glicerina bruta em dietas de juvenis de
426 tambaqui. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 68(6), 1705–1712.
427 <https://doi.org/10.1590/1678-4162-8473>
- 428 Meurer, F., Franzen, A., Piovesan, P., Rossato, K.A, & SANTOS, L.D. dos. (2012) Apparent
429 energy digestibility of glycerol from biodiesel production for Nile tilapia (*Oreochromis*
430 *niloticus*, Linnaeus 1758). *Aquaculture Research*, 43, 1734-1737.
- 431 Min, Y. N., Liu, F. Z., Wang, Z., Coto, C., Cerrate, S., Costa, F. P., ... Waldroup, P. W. (2008).
432 Evaluation of Distillers Dried Grains with Solubles in Combination with Glycerin in Broiler
433 Diets. *International Journal of Poultry Science*, 7(7), 646–654.
434 <https://doi.org/10.3923/ijps.2008.646.654>
- 435 Moesch, A., Meurer, F., Zadinelo, I. V., Carneiro, W. F., da Silva, L. C. R., & dos Santos, L.
436 D. (2016). Growth, body composition and hepatopancreas morphology of Nile tilapia
437 fingerlings fed crude glycerol as a replacement for maize in diets. *Animal Feed Science and*
438 *Technology*, 219, 122–131. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.05.009>
- 439 Moraes, G. & De Almeida, L. C. (Nutrição e Aspectos Funcionais da Digestão de Peixes) In
440 Baldisserotto, B.; Cyrino, J. E. P.; Urbinati, E. C. *Biologia e Fisiologia de Peixes Neotropicais*
441 *de Água Doce*. Editora: Funep, 2014, 232-252 p. ISBN: 978-85-7805-135-8
- 442 Neu, D.H., Furuya, W.M., Yamashiro, D., Bittencourt, F., Moro, E.B., Fernandes, D.R.A.,
443 Boscolo, W.R & Feiden, A. (2012) Glicerol na dieta de alevinos de Tilápia do Nilo
444 (*Oreochromis niloticus*). *Agrarian*, Dourados, 5, 288-294.
- 445 Neu, D. H., Furuya, W. M., Boscolo, W. R., Potrich, F. R., Lui, T. A., & Feiden, A. (2013).
446 Glycerol inclusion in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles. *Aquaculture*
447 *Nutrition*, 19(2), 211–217. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2012.00968.x>
- 448 Ng, W.-K., & Wang, Y. (2011). Inclusion of crude palm oil in the broodstock diets of female
449 Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, resulted in enhanced reproductive performance compared
450 to broodfish fed diets with added fish oil or linseed oil. *Aquaculture*, 314(1–4), 122–131.
451 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.01.034>
- 452 Oliveira, A. C. B., Martinelli, L. A., Moreira, M. Z., Soares, M. G. M., & Cyrino, J. E. P. (2006).
453 Seasonality of energy sources of *Colossoma macropomum* in a floodplain lake in the Amazon

- 454 - lake Camaleao, Amazonas, Brazil. *Fisheries Management and Ecology*, 13(3), 135–142.
455 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2400.2006.00481.x>
- 456 Ranzani-Paiva, M. J. T.; de Pádua, S. B.; Tavares-Dias, M.; Egami, A. I. Métodos para análise
457 hematológica em peixes. Maringá: Eduem, 2013. 14-34 p. ISBN: 978-85-7628-530-4
- 458 Roubach, R., Gomes, L. C., Leao Fonseca, F. A., & Val, A. L. (2005). Eugenol as an efficacious
459 anaesthetic for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier). *Aquaculture Research*, 36(11),
460 1056–1061. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01319.x>
- 461 Rodrigues, A. P. O. Nutrição e alimentação do tambaqui (*Colossoma macropomum*). Boletim
462 do Instituto de Pesca, São Paulo, v. 40, n. 1, p. 135 – 145, 2014. Recuperado de:
463 ftp://ftp.sp.gov.br/ftppesca/40_1_135-145.pdf
- 464 Santos, M. Q. de C., Oishi, C. A., Pereira Filho, M., Lima, M. do A. C., Ono, E. A., & Affonso,
465 E. G. (2010). Physiological response and performance of tambaqui fed with diets supplemented
466 with Amazonian nut. *Ciência Rural*, 40(10), 2181–2185. [https://doi.org/10.1590/S0103-](https://doi.org/10.1590/S0103-84782010001000021)
467 [84782010001000021](https://doi.org/10.1590/S0103-84782010001000021)
- 468 Tavares-Dias, M., & Sandrim, E. F. S. (1998). Características hematológicas de teleósteos
469 brasileiros. I. Série vermelha e dosagens de cortisol e glicose do plasma sanguíneo de espécimes
470 de *Colossoma macropomum* em condições de cultivo. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*,
471 20(0). <https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v20i0.4466>
- 472 Tavares-Dias, M., Sandrim, E. F. S., & Campos-Filho, E. de. (1999). Características
473 hematológicas do tambaqui *Colossoma macropomum* Cuvier (Osteichthyes, Characidae) em
474 sistema de monocultivo intensivo: II. Leucócitos. *Revista Brasileira de Zoologia*, 16(1), 175–
475 184. <https://doi.org/10.1590/S0101-81751999000100012>
- 476 Volpato, G. L.; Barreto, R. E. Estatística sem dor!!!. 2. ed. Botucatu: Best Writing Editora,
477 2016. p.40. ISBN: 978-85-64201-10-1
- 478 Zar, J. H. (2010). Biostatistical analysis: books a la carte edition. Place of publication not
479 identified: Prentice Hall. ISBN: 978-03-2165-686-5

Tabela 3. Valores médios dos parâmetros hematológicos dos juvenis de tambaquis (*Colossoma macropomum*) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de substituição parcial do milho pelo glicerol no período de 90 dias.

Parâmetros	Níveis de glicerol bruto (%)													
	0		25		50		75		100		p^{bc}		CV (%) ^d	
	0	90	0	90	0	90	0	90	0	90	0	90	0	90
Eritrograma														
Ht (%)	27,5 ±2,08	26,5 ±1,29c	24 ±1,41	29,25 ±0,92a	24,75 ±0,96	28 ±0,82ab	25 ±1,15	28,5 ±0,55ab	25,5 ±1,73	27,5 ±0,58bc	-	-	6	3,17
Hb (g/dL)	1,39 ±0,08	3,06 ±0,14 ^a	1,33 ±0,15	3,06 ±0,06a	1,40 ±0,15	3,05 ±0,09 ^a	1,42 ±0,09	3,07 ±0,02a	1,53 ±0,12	2,32 ±0,09b	-	-	8,36	3,01
RBC (milhões/ μ L)	1,95 ±0,15b	2,32 ±0,11b	1,83 ±0,03b	2,6 ±0,18a	2,21 ±0,01a	2,62 ±0,16 ^a	1,94 ±0,1b	2,12 ±b0,1	2,37 ±0,1a	2,61 ±0,16a	A*	-	5,26	5,4
VCM (fL)	140,85 ±2,85a	114,1 ±1,96b	130,64 ±6,3b	112,63 ±5,34bc	111,5 ±4,32c	107,38 ±4,42cd	129,61 ±2,78b	134,1 ±4,57a	107,35 ±4,94c	104,5 ±0,5d	-	-	3,58	3,38
CHCM (%)	5,08 ±0,6	11,59 ±0,63 ^a	5,59 ±0,89	10,49 ±0,5b	5,67 ±0,44	10,89 ±0,31b	5,69 ±0,45	10,77 ±0,17b	6 ±0,09	8,46 ±0,2c	-	-	9,96	3,86
HCM (g/dL)	7,16 ±0,82	13,23 ±0,85 ^a	7,26 ±0,84	11,85 ±0,91a	6,34 ±0,67	11,7 ±0,55a	7,31 ±0,47	14,45 ±0,58a	6,45 ±0,25	4,36 ±4,94b	-	A*	9,42	20,75
Metabólitos														
Glu (mg/dL)	37,98 ±5,14c	72,57 ±0,16c	53,14 ±3,12b	73,25 ±0,28ab	62,54 ±1,8a	73 ±0,21b	64,7 ±3,65a	73,42 ±0,21a	17,87 ±3,55d	71,85 ±0,28d	-	-	7,65	0,32
Col (mg/dL)	86,48 ±1,33a	110,28 ±0,49c	60,99 ±1,83b	112,58 ±0,18ab	59,18 ±0,39bc	112,72 ±0,26a	58,92 ±0,43c	112,16 ±0,23b	58 ±1,61c	112,46 ±2,29ab	-	-	1,96	0,28
TGC (mM/L)	81,77 ±4,95c	125,82 ±1,43c	98,49 ±4,89b	110,85 ±2,46d	120,74 ±1,68a	110,94 ±5,26d	116,96 ±6,60a	136,10 ±4,77b	75,92 ±5,73c	145,87 ±3,48a	-	-	5,11	2,98

PT (g/dL)	2,91 ±0,07a	2,98 ±0,02	2,42 ±0,05c	2,99 ±0,01	2,57 ±0,08b	2,96 ±0,01	2,92 ±0,02a	2,99 ±0,02	2,91 ±0,05a	2,97 ±0,01	a*	-	2,14	0,48
Alb (g/dL)	0,80 ±0,02c	1,12 ±0,06	0,67 ±0,01b	1,34 ±0,01a	0,84 ±0,01b	1,36 ±0,01a	0,92 ±0,01a	1,21 ±0,04b	0,9 ±0,02a	1,33 ±0,05a	-	aA*	2,02	3,21
P (mg/dL)	8,87 ±0,12c	13,57 ±0,23 ^a	9,13 ±0,17c	11,43 ±0,07b	12,26 ±0,44b	10,79 ±0,14c	12,66 ±0,34ab	10,81 ±0,17c	13 ±0,48a	13,62 ±0,37a	-	-	3,06	1,83
Ureia (mg/dL)	181,95 ±1,99b	157,50 ±3,67b	201,94 ±6,96a	157,25 ±2,83b	201,53 ±6,16a	157,52 ±0,7b	183,92 ±4,32b	157,64 ±1,99b	154,33 ±3,13c	168,05 ±3,07a	-	-	2,93	1,66
Íons														
Na ⁺	191,25 ±2,87a	162 ±0,82	181 ±6,98b	162,75 ±1,26	160 ±6,16d	163 ±1,83	153 ±2,16d	164,25 ±0,96	170,50 ±5,20c	163,50 ±1,29	-	-	2,94	0,78
K ⁺	6,15 ±0,19b	3,75 ±0,17	6,40 ±0,15b	3,45 ±0,21	6,60 ±0,25ab	3,65 ±0,25	6,65 ±0,10ab	3,82 ±0,10	7,15 ±0,45a	3,75 ±0,17	A	aA*	5,5	5,09
Ca ²⁺	4,97 ±0,17a	6,67 ±0,25	4,97 ±0,29a	6,60 ±0,42	3,35 ±0,54c	5,55 ±0,41	3,82 ±0,50b	6,90 ±0,32	4,15 ±0,06b	7,17 ±0,05	-	-	6,08	4,73
NH ⁴⁺	0,06 ±0,00a	0,14 ±0,00a	0,06 ±0,00a	0,08 ±0,01c	0,05 ±0,00b	0,07d ±0,00	0,05 ±0,00b	0,09 ±0,01b	0,03 ±0,01c	0,08 ±0,01c	aA*	aA*	7,85	5,24
Cl ⁻¹	107,94 ±2,1d	107,95 ±0,19b	131,91 ±1,73a	107,56 ±0,23c	127,91 ±0,58b	107,62 ±0,13c	123,07 ±1,15c	108,33 ±0,13a	94,98 ±3,44c	108,55 ±0,18a	-	-	1,75	0,16

^a Dados expressos em Médias e ± Desvio-padrão, (N = 4).

^b De acordo com o teste de Shapiro-Wilk (p<0,05) os resíduos com letras minúsculas (a), não podem ser considerados normais.

^c De acordo com o teste de Bartlett (p<0,05) os resíduos com letras maiúsculas (A), não podem ser considerados homogêneos.

^d Coeficiente de variação

^e Valores na mesma linha com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey (p>0,05)

* De acordo com o teste de Kruskal-Wallis (p<0,05) os dados são considerados não paramétricos.