

Universidade Estadual Paulista – UNESP
Centro de Aquicultura da Unesp – CAUNESP

**UTILIZAÇÃO METABÓLICA DE CARBOIDRATOS E
AVALIAÇÃO DO SEU POTENCIAL COMO FONTE
DE ENERGIA NÃO PROTEICA EM DIETAS PARA O
TAMBAQUI (*COLOSSOMA MACROPOMUM*
CURVIER 1818)**

Jeisson Emerson Casimiro Ferrari

**Jaboticabal – SP
2022**

Universidade Estadual Paulista – UNESP
Centro de Aquicultura da Unesp – CAUNESP

**UTILIZAÇÃO METABÓLICA DE CARBOIDRATOS E
AVALIAÇÃO DO SEU POTENCIAL COMO FONTE
DE ENERGIA NÃO PROTEICA EM DIETAS PARA O
TAMBAQUI (*COLOSSOMA MACROPOMUM*
CURVIER 1818)**

Jeisson Emerson Casimiro Ferrari

Orientador: Dr. Leonardo Susumu Takahashi

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP - CAUNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor.

**Jaboticabal – SP
2022**

F375u Ferrari, Jeisson Emerson Casimiro
Utilização metabólica de carboidratos e avaliação do seu potencial como fonte de energia não proteica em dietas para o tambaqui (*Colossoma macropomum* Curvier 1818) / Jeisson Emerson Casimiro Ferrari. -- Jaboticabal, 2022
x, 97 p. : il. ; tabs

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2022

Orientador: Leonardo Susumu Takahashi

Banca examinadora: Eduardo Pahor Filho, Rodrigo Yukihiro Gimbo, João Batista Kochenborger Fernandes, Ricardo Borghesi

Bibliografia

1. Carboidratos na nutrição animal. 2. Nutrição de peixes. 3. Glicose. 4. Frutose. 5. Digestibilidade. I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.3.043

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Centro de Aqüicultura da Unesp - CAUNESP



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Utilização metabólica de carboidratos e avaliação do seu potencial como fonte de energia não proteica em dietas para o tambaqui (*Colossoma macropomum* - Curvier, 1818)

AUTOR: JEISSON EMERSON CASIMIRO FERRARI

ORIENTADOR: LEONARDO SUSUMU TAKAHASHI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AQUICULTURA, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. LEONARDO SUSUMU TAKAHASHI (Participação Virtual)
Departamento de Produção Animal / FCAT/Unesp, Dracena-SP


Prof. Dr. EDUARDO PAHOR FILHO (Participação Virtual)
Instituto Municipal de Ensino Superior de Bebedouro


Prof. Dr. RODRIGO YUKIHIRO GIMBO (Participação Virtual)
Universidade Nilton Lins, Manaus-AM


Prof. Dr. JOÃO BATISTA KOCHENBERGER FERNANDES (Participação Virtual)
Laboratório de Peixes Ornamentais / Centro de Aqüicultura da UNESP, CAUNESP, Jaboticabal-SP


Prof. Dr. RICARDO BORGHESI (Participação Virtual)
Embrapa Agropecuária Oeste / EMBRAPA, Dourados-MS

Jaboticabal, 11 de abril de 2022

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DA CEUA – CAPÍTULO 02



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "Análise metabólica da utilização de glicose e frutose como fontes energéticas para tambaqui (*Colossoma macropomum* – Curvier, 1818) a partir da técnica da metabolômica", protocolo nº 016429/19, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Leonardo Susumu Takahashi, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 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 pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 13 de fevereiro de 2020.

Vigência do Projeto	25/12/2019 a 27/11/2022
Espécie / Linhagem	Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)
Nº de animais	90
Peso / Idade	120 g / 6 meses
Sexo	Indeterminado
Origem	Centro de Aquicultura da Unesp – Caunesp CNPJ 48.031.918/0001-24

Jaboticabal, 13 de fevereiro de 2020.


Profª Drª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DA CEUA – CAPÍTULO 03



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Dracena



Comissão de Ética no Uso de Animais

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada "VALOR NUTRICIONAL DE INGREDIENTES CONVENCIONAIS PARA O TAMBAQUI (*Colossoma macropomum* Curvier, 1818) (Nutritional value of conventional ingredients for the tambaqui (*Colossoma macropomum* Curvier, 1818)), registrada com o nº 09/2021 – CEUA, sob a responsabilidade do(a) Prof(a). Dr(a). **Leonardo Susumu Takahashi** – que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de **pesquisa científica** – 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 aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas da UNESP - Câmpus de Dracena, em **18/02/2022**.

Dracena, 18 de fevereiro de 2022.

Profa. Dra. Jaqueline Dalbello Biller

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais

SUMÁRIO

Lista de figuras	i
Lista de tabelas	ii
Dedicatória	iii
Agradecimentos	iv
Epígrafe	vi
Apoio financeiro	vii

Capítulo 01

Resumo	viii
Abstract	ix
1. Introdução	18
2. A espécie tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)	19
3. Carboidratos na nutrição de peixes	22
4. Digestibilidade dos alimentos	24
5. Metabolômica	26
6. Objetivos	26
6.1. Objetivo Geral	26
6.2. Objetivos específicos	26
Referências	28

Capítulo 02

Carbohydrate tolerance in Amazon tambaqui (*Colossoma macropomum*) revealed by NMR-metabolomics - Are glucose and fructose different sugars for fruit-eating fish?

Abstract	32
1. Introduction	33
2. Materials and methods	35
2.1. Fish handling and sampling	35
2.2. Blood samples processing	36
2.3. Statistical analysis for GTT and FTT	37
2.4. Tissue samples processing	37
2.5. NMR spectra acquisition	37
2.6. NMR spectra analysis	38
2.7. Metabolite identification and quantification	38
2.8. Multivariate analysis	39
2.9. Univariate analysis	39
3. Results	39
3.1. Fish weight	39
3.2. Glucose and fructose tolerance test	40
3.3. NMR-metabolomics	41
3.4. Differences between sugars (GLU vs. FRU) under different feeding regimes	41
3.5. Overall differences between feeding regimes (FED vs. FAST)	44
4. Discussion	47
4.1. Glucose metabolism	47
4.2. Fructose metabolism	49
4.3. NMR-metabolomics	53

5. Conclusion	56
References	57

Capítulo 03

Valor nutricional de ingredientes convencionais para o tambaqui (*Colossoma macropomum* Curvier, 1818)

Resumo	65
Abstract	65
1. Introdução	67
2. Material e métodos	68
2.1. Instalações	68
2.2. Dietas experimentais	69
2.3. Manejo dos peixes e das fezes coletadas	70
2.4. Análises bromatológicas e coeficientes de digestibilidade	71
2.5. Biometrias, coleta de material biológico e variáveis	72
2.6. Composição da carcaça	73
2.7. Análise Estatística	73
3. Resultados	73
3.1. Digestibilidade aparente.....	73
3.2. Desempenho produtivo	74
3.3. Parâmetros sanguíneos, relações comáticas e de carcaça	75
4. Discussão	79
4.1. Digestibilidade aparente	79
4.2. Parâmetros de desempenho	84
4.3. Parâmetros sanguíneos, índices somáticos e de carcaça	84
5. Conclusão	86
Referências	87

Capítulo 04

Considerações finais

1. Considerações finais	91
-------------------------------	----

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 02

Fig. 1. Glucose levels over a 24 h period for tambaqui (<i>C. macropomum</i>), intraperitoneally injected with saline, glucose or fructose.....	41
Fig. 2. Multivariate analysis of liver samples (24 h) considering the injected sugars.....	43
Fig. 3. Variables importance in projection (VIP) scores rank and heatmap of the metabolite concentration variations in liver of the PLS models.....	46
Fig. 4. Multivariate analysis of sugars-injected groups of muscle samples (24 h)	47
Fig. 5. Variables importance in projection (VIP) scores rank of the PLS model of the sugar-injected groups in muscle	48
Fig. 6. Multivariate analysis of sugars-injected groups of liver samples (24 h)	50
Fig. 7. Variables importance in projection (VIP) scores rank of the PLS model of the sugar-injected groups in liver.....	51

LISTA DE TABELAS

Capítulo 02

Table 01. Summary of the results of the pairwise multivariate analysis in muscle and liver samples for fish subjected to the same sugar injection	52
--	-----------

Capítulo 03

Tabela 01. Formulação e composição analisada das dietas experimentais	70
Tabela 02. Coeficientes de digestibilidade aparente de juvenis de tambaquis alimentados com diferentes ingredientes energéticos de origem vegetal durante 57 dias	76
Tabela 03. Desempenho produtivo de juvenis de tambaquis alimentados com diferentes ingredientes energéticos de origem vegetal durante 57 dias	76
Tabela 4. Metabólitos sanguíneos e relações somáticas de juvenis de tambaquis alimentados com diferentes ingredientes energéticos de origem vegetal durante 57 dias	78
Tabela 5. Composição química e energia bruta da carcaça de juvenis de tambaquis alimentados com diferentes ingredientes energéticos de origem vegetal durante 57 dias	78

DEDICATÓRIA

Aos meus pais

*Ao maior naturalista (seu Toninho) e a maior
educadora (Dona Darcy) que já conheci na vida!*

AGRADECIMENTOS

A Charles Darwin, Richard Dawkins e Carl Sagan (*In memoriam*). Seus Esforços nunca foram em vão!

Ao meu orientador Leonardo Susumu Takahashi pela oportunidade concedida, pelos ensinamentos, dedicação e confiança no meu trabalho, mas, principalmente, pela grande amizade construída.

Ao prof. Ivan Viegas da Universidade de Coimbra pela parceria e pela dedicação em não medir esforços em todas as vezes que precisei de ajuda.

Aos membros da Banca Examinadora da Qualificação: Dr. Cleber Fernando Menegasso Mansano e Dr. Rodrigo Yukihiro Gimbo. Muito obrigado pelas correções e sugestões, tão importantes para a redação final deste trabalho.

Aos membros da Banca de Defesa: Dr. Rodrigo Yukihiro Gimbo, Dr. João Batista Kochenborger Fernandes. Dr. Eduardo Pahor Filho e Dr. Ricardo Borghesi. Muito obrigado pela disponibilidade, atenção e sugestões dadas ao trabalho.

A todos os funcionários do CAUNESP e da FCAT, compartilhando ideias e proporcionando conversas descontraídas. Todos sempre muito empenhados e dispostos a ajudar.

A todos os colegas profissionais que doaram ingredientes que foram utilizados no processo experimental.

Aos meus amigos e colegas do Laboratório de Tilapicultura (CAUNESP) e Laboratório de Nutrição e Metabolismo Animal (FCAT) que compõem esta grande orquestra sob a coordenação do prof. Léo. Obrigado a Luana, Thayse Mota (Tatá), Bernardo, Taíse Michelin (Gaúcha), Márcio (Saquê), Camila (Loma), Douglas (Dadin), Amanda (Mandinha), Lucas (Cheewbacca), Eric (Flango), pelo grande auxílio durante todas as etapas deste trabalho.

Um agradecimento especial a Gabriela Carli, minha grande amiga. Seus esforços em participar, ajudar e contribuir nunca serão esquecidos. Estarei sempre à disposição.

A Fundação Dracenense de Educação e Cultura – FUNDEC. Quando informei que iria deixar a Instituição para fazer o doutorado, vocês não permitiram que eu deixasse... Em especial ao Ênio, Dona Eulália, seu Edson e Tatiana Froio (*in memoriam*). Muito obrigado por confiarem no meu trabalho!

Aos meus queridos alunos. Aos pequenos que sempre tiveram muita curiosidade em perguntar o que eu fazia e aos adultos que sempre deram palavras de incentivo para que eu não desanimasse nunca. Vocês são a minha razão profissional.

A minha família: meu irmão James, cunhada Rosana, sobrinhos Rodolfo, Larissa e Wagner... vocês são parte integral da minha existência, e aos meus sogros (dona Luzia e seu José) por todo o incondicional apoio.

Em especial a minha esposa Francine pela compreensão em todos os momentos que estive ausente em virtude do estudo e por ter “aguentado firme, ao meu lado”, todos os momentos de preocupação e de angústia junto a este trabalho! Ignorar aqueles que não fazem parte de nossas vidas é fácil... Difícil mesmo é não esmorecer ao lado de quem se ama!

Aos tambaquis deste trabalho, em respeito às suas vidas sacrificadas em nome da razão e da ciência.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Obrigado

O Nitrogênio em nosso DNA, O Cálcio em nossos dentes, o Ferro em nosso sangue, o Carbono em nossas células... Fomos feitos no interior de estrelas mortas...Somos feitos de poeira estelar!

(Carl Sagan)

APOIO FINANCEIRO

FAPESP, recurso proveniente do Auxílio Regular a Pesquisa, ao qual este trabalho está vinculado (Processo nº 2020/08955-3).



RESUMO

O consumo global de alimentos e derivados de pescado aumentou a uma porcentagem média anual de 3,1%, de 1961 a 2017. O Brasil é conhecido mundialmente pela grande diversidade de espécies dulcícolas, correspondendo a 41% do total de espécies de peixes teleósteos viventes no mundo. O tambaqui (*Colossoma macropomum*), espécie nativa da América do Sul e da bacia amazônica, é um peixe onívoro/frugívoro de água doce que pode atingir facilmente os 70 cm de comprimento, e que apresenta alta produtividade na aquicultura por possuir excelente conversão alimentar, boa aceitação da alimentação artificial, resistência a longos períodos de jejum, boa resistência a doenças, carne de excelente qualidade e facilidade de adaptação à criação em tanques. Além disso é uma espécie onívora/frugívora bem adaptada ao consumo de carboidratos de frutos e sementes, além de zooplâncton, macrófitas, insetos, algas, moluscos e peixes menores. Carboidratos são nutrientes essenciais na alimentação dos animais por serem fornecedores de energia primária e sua utilização pelos peixes pode apresentar variação dentre as diversas espécies. Peixes carnívoros utilizam de forma inadequada os carboidratos, porém, peixes onívoros, como é o caso do tambaqui, parecem controlar melhor a regulação metabólica destes açúcares no seu organismo. Tanto a glicose quanto a frutose são açúcares simples e, apesar de já existirem alguns estudos que discutem sua importância na alimentação e no metabolismo de peixes, ainda existem muitas dúvidas sobre a utilização metabólica destes açúcares pelo tambaqui, tanto no metabolismo quanto na nutrição. A inclusão de diferentes ingredientes energéticos amiláceos e não amiláceos em dietas para tambaqui pode apresentar diferentes características metabólicas e de desempenho produtivo. Neste estudo utilizou-se da técnica da metabolômica para avaliar os parâmetros metabólicos e a análise dos coeficientes de digestibilidade aparente, variáveis sanguíneas e de desempenho produtivo para avaliar o aproveitamento nutricional de determinados ingredientes em dietas para o tambaqui. A inclusão de ingredientes energéticos em níveis adequados para atender as exigências nutricionais pode ser uma alternativa viável para otimizar a produção aquícola da espécie.

Palavras-chave: tambaqui, metabolômica, digestibilidade, glicose, frutose

ABSTRACT

The global consumption of food and fish products increased at an average annual percentage of 3.1%, from 1961 to 2017. Brazil is known worldwide for the great diversity of freshwater species, corresponding to 41% of the total living teleost fish species in the world. Tambaqui (*Colossoma macropomum*), a species native to South America and the Amazon basin, is an omnivorous/frugivorous freshwater fish that can easily reach 70 cm in length, and has high productivity in aquaculture due to its excellent feed conversion, good acceptance of artificial feeding, resistance to long periods of fasting, good resistance to diseases, excellent quality meat and ease of adaptation to tank farming. In addition, it is an omnivorous/frugivorous species well adapted to the consumption of carbohydrates from fruits and seeds, as well as zooplankton, macrophytes, insects, algae, molluscs and smaller fish. Carbohydrates are essential nutrients in animal feed as they provide primary energy and their use by fish may vary among different species. Carnivorous fish use carbohydrates inappropriately, however, omnivorous fish, such as tambaqui, seem to better control the metabolic regulation of these sugars in their body. Both glucose and fructose are simple sugars and, although there are already some studies that discuss their importance in fish food and metabolism, there are still many doubts about the metabolic use of these sugars by tambaqui, both in metabolism and nutrition. The inclusion of different starchy and non-starchy energy ingredients in diets for tambaqui may present different metabolic and productive performance characteristics. In this study, the metabolomics technique was used to evaluate the metabolic parameters and the analysis of apparent digestibility coefficients, blood variables and productive performance to evaluate the nutritional use of certain ingredients in diets for tambaqui. The inclusion of energy ingredients at adequate levels to meet nutritional requirements can be a viable alternative to optimize the aquaculture production of the species.

Keywords: tambaqui, metabolomics, digestibility, glucose, fructose

Capítulo 01

1. Introdução

O consumo global de alimentos e derivados que tem como base a carne de pescado aumentou a uma porcentagem média anual de 3,1%, de 1961 a 2017, sendo esta taxa quase o dobro do crescimento anual da população mundial (1,6%) no mesmo período, e maior do que todos os outros alimentos derivados de proteína animal (2,1%) (Food and Agriculture Organization of the United Nations – FAO, 2020). De Almeida *et al.* (2011) explica que a prática aquícola se sobressai sobre outros setores de produção de alimentos de origem animal numa porcentagem anual de 8,9% desde 1970, enquanto a pesca alcançou 1,4% e os sistemas de produção tais como o de carne bovina, suína e de frango, alcançaram 2,8%. Segundo Siqueira (2017) a aquicultura tem se tornado uma prática competitiva na produção de alimentos sustentáveis. É uma atividade que possibilita tanto a geração de emprego/renda quanto redução da fome e pobreza no planeta.

O último relatório da FAO (2020) demonstra que somente nas Américas, a produção aquícola passou de pouco mais de 2%, em 2006, para aproximadamente 4,5% da produção total mundial de pescado em 2018. A FAO (2016) demonstra ainda que o Brasil é um dos vinte e cinco primeiros países com maior produção de pescado em 2014, ocupando a 14^a posição. Possivelmente, esta capacidade de produção relaciona-se com fatores como disponibilidade dos mananciais, clima propício para o cultivo e o avanço nas tecnologias de criação, manejo e produção de rações (Peixe BR, 2020), que vem melhorando nos últimos 20 anos.

Devido ao fato de se encontrar numa faixa equatorial o Brasil é conhecido mundialmente, dentre outros aspectos, por sua grande diversidade de espécies dulcícolas, correspondendo a 41% do total de espécies de peixes teleósteos existentes (GUIMARÃES, MIRANDA e ARAÚJO, 2014). Os peixes nativos, e dentre eles o tambaqui (*Colossoma macropomum*) representam 43,7% da produção total brasileira, atingindo 278.671 toneladas em 2020. Sua produção aquícola se concentra principalmente nos estados da Região Norte e Nordeste, tendo os estados de Rondônia, Maranhão, Roraima, Pará, Tocantins e Amazonas como os principais produtores (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, 2020; Peixe BR, 2021). Lobo *et al.* (2015) ainda afirma que o tambaqui é a espécie que tem grande destaque na piscicultura continental e é a principal espécie nativa cultivada no país.

2. A espécie tambaqui (*Colossoma macropomum*)

Desde a década de 1980, quando o tambaqui (*Colossoma macropomum*) começou a ser criado em cativeiro, tem ocorrido um avanço progressivo em sua produção, tanto em volume de biomassa que já ultrapassa a pesca predatória, quanto em tecnologias de produção. Atualmente existem registros de criação de tambaquis em tanques escavados, reservatórios de água e em tanques-rede e a espécie já é criada em vários países da América do Sul, Centrale Caribe (Bolívia, Colômbia, República Dominicana, Guiana, Panamá, Peru, Suriname, Venezuela, totalizando 5135 toneladas no ano de 2016), e vários países da Ásia, particularmente China, Indonésia, Malásia, Mianmar e Vietnã (WOYNÁROVICH e VAN ANROOY, 2019).

É uma espécie encontrada e distribuída na bacia Amazônica e do rio Orinoco (GOULDING, 1980; ARIDE *et al.*, 2018). É um peixe de água doce, bentopelágico, potamódromo, que vive bem em águas com pH 5.0 a 7.8, resistente à ação tóxica da amônia e à temperatura variando entre 22 e 28°C. Por atingir facilmente os 70 cm de comprimento, podendo chegar a 108 cm, e até 40 kg (FROESE e PAULY, 2018), apresenta grande potencial para a aquicultura intensiva apresentando excelente conversão alimentar, boa aceitação da alimentação artificial, resistência a longos períodos de hipóxia (RODRIGUES, 2014), boa resistência a doenças, carne de excelente qualidade e facilidade de adaptação ao cultivo em tanques (SAINT-PAUL, 1991; MELARD *et al.*, 1993; GRAEF, 1995; FERNANDES, CARNEIRO e SAKOMURA, 2000; ARIDE *et al.*, 2007). Esta espécie tem capacidade biológica eficiente de utilização de variadas fontes alimentares predominantemente proteicas e/ou energéticas com ampla capacidade de combinações entre elas (OLIVEIRA *et al.*, 2013). Por viver em um ambiente propício acabou desenvolvendo a capacidade de se alimentar de diversas fontes disponíveis, valorizando prioritariamente os frutos e sementes. Nos períodos de vazante a espécie alimenta-se de zooplâncton, plantas macrófitas, insetos, algas, moluscos e peixes menores (onívoro-opportunista) (RODRIGUES, 2014) e por possuir um trato digestivo anatomicamente bem distribuído, promove um processo de digestão bem mais eficiente (CORRÊA *et al.*, 2007).

Rodrigues (2014) explica que a composição nutricional da alimentação natural da espécie, em função do regime de chuvas, frequentemente apresenta reduzida ingestão de proteína e elevada de carboidratos e fibras. Nos períodos de menor intensidade de chuvas, observou-se que os estômagos ficam mais vazios e com maior concentração de gordura perivisceral, estando acima de 10% do peso corporal, caracterizando assim uma adaptação da espécie no período de maior escassez de alimentos.

Mesmo nas produções aquícolas, o tambaqui é um peixe com boa aceitação de

rações artificiais, associando isso ao excelente ganho de peso e rápido crescimento (SANTOS *et al.*, 2010), e por isso, desperta um interesse de pesquisadores, na tentativa de se compreender melhor suas características metabólicas para esclarecer suas exigências nutricionais na melhora de seu desempenho, pois compreende-se que as rações comerciais são a fração mais cara do cultivo, chegando a 70% do custo total de produção (SILVA *et al.*, 2006). Este fator é potencializado pelo fato de que, devido a um controle ineficaz da exploração comercial e da pesca ilegal do tambaqui, ocorreu uma redução significativa de sua captura no ambiente natural (ARIDE *et al.*, 2018) o que fortalece ainda mais a necessidade de se compreender com mais detalhes sua biologia alimentar, tornando-se assim, além de uma questão produtiva comercial, uma estratégia de manejo sustentável da espécie, que não provoque degradação do ambiente e que promova lucro e benefícios sociais, sendo estes três fatores indissociáveis e essenciais para uma atividade permanente (VALENTI, 2002).

O tambaqui é uma espécie de peixe que apresenta muitas características que favorecem a inclusão de carboidratos (CHO) em dietas comerciais. Sua fácil capacidade de se adaptar aos ambientes de criação (WOYNÁROVICH e VAN ANROOY, 2019), seu comportamento alimentar frente a sazonalidade dos ambientes em que vive e sua anatomia e fisiologia sugerem que é uma espécie que pode aproveitar de forma eficiente os CHO dietéticos.

Alguns estudos com tambaqui demonstram algumas informações acerca da utilização de CHO pela espécie. De Almeida (2010) afirma que o nível adequado de inclusão de carboidratos nas dietas para peixes em cativeiro é de 40,1% da dieta, porém, apesar do valor apresentado. Silva *et al.* (2003) relatam que o tambaqui possui preferência alimentar específica ao demonstrar a presença de 133 espécies de frutos e sementes encontrados no trato gastrointestinal, caracterizando grande utilização de carboidratos como fonte de energia. Além disso, Guimarães e Martins (2015) dizem que as inclusões de níveis adequados de carboidratos na dieta podem evitar que nutrientes como a proteína sejam catabolizados e os aminoácidos resultantes deste processo sejam mobilizados para produção energética, promovendo assim maior retenção de proteína pelo tambaqui, além de reduzir os custos das rações.

O fato de o tambaqui ser um peixe onívoro-oportunista sugere que as dietas podem ser alteradas na expectativa de melhora do desempenho zootécnico. Silva, Pereira Filho e Oliveira-Pereira (2003) classificaram esta condição como "efeito poupador de proteína" onde, em virtude da oferta de alimento em seu ambiente de origem, o tambaqui apresenta

capacidade de utilizar de forma mais eficiente a proteína para manutenção, reparo de tecidos e crescimento, reduzindo sua utilização como fonte energética.

A capacidade de depositar gordura pelo tambaqui mostra que a espécie utiliza eficientemente diversas fontes energéticas não proteicas direcionando a proteína para o crescimento e manutenção da plasticidade corporal, principalmente nas relações proteína/energia nas diferentes fases de vida. No entanto, quando a relação proteína/energia está desequilibrada, esta proteína será redirecionada para atender às demandas energéticas ou armazenada como gordura nos adipócitos (WINFREE e STICKNEY,1981) e, sendo assim, o aumento de energia da dieta pode levar à melhora na eficiência de retenção de proteínas nos tecidos, ou seja, a melhor eficiência dos alimentos apresenta uma variação de acordo com a relação proteína:energia, conhecida como efeito regulatório do conteúdo energético.

Estudos têm sido realizados com a intenção de avaliar fontes alternativas de energia para o tambaqui como proposta de elaboração de dietas com menor custo, já que alguns ingredientes não são encontrados com facilidade em determinadas regiões do país o que inviabiliza a fabricação das rações. Pereira-Junior *et al.* (2013) avaliaram o desempenho de tambaquis alimentados com farinha de crueira de mandioca (*Manihit esculenta* - 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100%) e observaram que o crescimento não foi afetado pelos tratamentos, porém o teor de lipídio corporal apresentou diferença significativa que indicou deposição maior em peixes alimentados com 40% e 100% de inclusão quando comparado a outros tratamentos e o custo das dietas diminuiu linearmente com a substituição, concluindo que o milho pode ser totalmente substituído por farinha de crueira sem prejuízo do desempenho produtivo.

Sandre *et al.* (2017), avaliando desempenho produtivo de tambaquis (entre 10 e 250 g) com dietas com três níveis de carboidratos (410, 460 e 510 g/kg) e dois níveis lipídicos (40 e 80 g/kg) observaram que a inclusão de 510 g/kg de carboidratos reduziu a ingestão de alimentos provavelmente devido ao maior teor de amido que aumenta a quantidade de energia disponível, reduzindo a ingestão de alimentos ou aumentando o tempo de trânsito intestinal. Os autores também observaram a ocorrência de um efeito poupador de proteína sobre o crescimento de peixes alimentados com 460 g/kg, pois apresentaram maior ganho de peso, taxa de eficiência proteica e valor proteico produtivo. O estudo ainda identificou que o aumento nos níveis de lipídios de 40 g/kg para 80 g/kg aumentou a deposição de gordura corporal e diminuiu os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes, concluindo que a dieta ideal para o crescimento é de 460 g/kg de carboidratos e 40 g/kg de lipídios.

A análise do perfil enzimático para o tambaqui tem sido uma excelente ferramenta para a avaliação das respostas metabólicas. Almeida (2010) analisou o crescimento do tambaqui avaliando as atividades das proteases, lipase, amilase e fosfatase alcalina e variações da glicose, lactato, ácidos graxos, triglicerídeos, glicogênio e enzimas do metabolismo intermediário, aplicando diferentes porcentagens de carboidratos e lipídios (CHO/L: 30,5/13,7%, 40,5/9,1% e 50,0/4,8%). As maiores porcentagens de ganho em peso e comprimento, consumo relativo e fator de condição ocorreram com 40,5% CHO e 9,1% L (dieta II). Em contrapartida, os peixes que consumiram a a dieta com 50,0% CHO e 4,8% L tiveram queda no índice hepatossomático, na atividade da protease ácida estomacal e da fosfatase alcalina, além de apresentarem aumento na atividade da lipase e da amilase do trato digestivo, demonstrando assim, que as enzimas digestivas do tambaqui são induzidas pelas porcentagens de CHO/L e o aumento da taxa de CHO/L da dieta provoca diminuição do crescimento dos peixes.

Em outro estudo, Corrêa *et al.* (2007), ao utilizarem dietas isoproteicas (28% PB) e isoenergéticas (3300 kcal/kg EB) com 30, 40 e 50% de amido de milho, também relataram uma grande capacidade de utilização do carboidrato pelo tambaqui concluindo que o nível de 40% apresentou melhor capacidade de prevenir o excesso de deposição de lipídios corporais. Analisando as afirmações acerca das características e exigências nutricionais do tambaqui demonstra-se que o acompanhamento e a análise das condições fisiológicas da espécie permitem estimar a utilização de nutrientes pelos peixes. Modificações na capacidade digestiva e absorptiva podem refletir a disponibilidade de nutrientes, que está associada a adaptações de digestão e absorção. A análise da digestibilidade aparente dos ingredientes é outra ferramenta eficiente na avaliação destas condições fisiológicas e produtivas.

3. Carboidratos na nutrição de peixes

A base da constituição alimentar e metabólica de qualquer animal é o consumo diário de proteínas, carboidratos e lipídios e com os peixes isso não é diferente. Dentre os CHO disponíveis e que são rapidamente metabolizados estão a glicose e a frutose, sendo estes nutrientes os açúcares de estrutura mais simples que existem. A glicose e a frutose são absorvidas pelas vilosidades intestinais, entram na corrente sanguínea e são transportadas até as células onde compõem o metabolismo intermediário para o fornecimento imediato de energia ou armazenamento nos tecidos. Conforme a quantidade destes açúcares aumenta, ocorre a ativação das vias glicogênicas e lipogênicas, para o armazenamento de

glicogênio no fígado e no músculo, e de triglicerídeos, armazenados nos tecidos na forma de gordura (ENES *et al.*, 2009).

Dentre os nutrientes que são diariamente ingeridos pelos animais os CHO são os mais abundantes no planeta, sendo encontrados facilmente e em maior quantidade na natureza, em raízes, tubérculos, folhas, frutos e sementes. Por serem tão amplamente distribuídos são as matérias primas mais baratas utilizadas em dietas de animais. Representam os compostos orgânicos fornecedores de energia primária e são fundamentais para o funcionamento de células não promotoras de fotossíntese através do processo de oxidação (NELSON e COX, 2011).

Os CHO são basicamente classificados em três grupos de acordo com sua estrutura bioquímica (monossacarídeos, dissacarídeos e polissacarídeos). Tanto a glicose quanto a frutose são monossacarídeos compostos por seis átomos de carbono unidos em ligações covalentes simples, apresentando grupos hidroxila e constituídos por oxigênio e carbono. O que as diferencia estruturalmente é a posição na qual o carbono se liga duplamente ao oxigênio na estrutura molecular, formando um grupo denominado carbonila (BARREIROS, BOSSOLAN e TRINDADE, 2005) e, quando hidrolisados, darão origem a produtos diferentes e é justamente isso que altera seu comportamento metabólico no organismo.

Já os polissacarídeos (polímeros de média a alta massa molecular) são constituídos por repetições de unidades de monossacarídeos em posições diferentes fazendo com que se diferenciem uns dos outros, sendo classificados segundo suas estruturas e propriedades físico-químicas (TAVERNARI *et al.*, 2008). Dentre os principais polissacarídeos se encontram o amido e o glicogênio (armazenadores de energia) e a celulose e a quitina (estruturadores de paredes celulares e exoesqueletos) (NELSON e COX, 2011).

Segundo Polakof *et al.* (2012), a utilização de açúcares simples pelos peixes, principalmente a glicose, é diferente dos animais endotérmicos pois seu metabolismo é diretamente influenciado pela disponibilidade de alimento, estando adaptado a privação alimentar a longo prazo. Além disso, as muitas espécies de peixes apresentam comportamento metabólico diferente em virtude da variedade de condições fisiológicas, ambientais e comportamentais.

Até o presente momento se sabe que o uso de CHO dietéticos desperta grande interesse, pois são importantes componentes dos ingredientes utilizados em dietas comerciais, mas, apesar da existência de alguns estudos, suas funções biológicas e metabólicas ainda não são bem esclarecidas (CORRÊA *et al.*, 2007). Kamalam, Medale e Panserat (2017) sugerem uma extensa lista de fatores que influenciam na utilização dos

CHO pelos peixes como, por exemplo, comportamento alimentar, estrutura molecular, disponibilidade destes CHO na natureza para serem consumidos, interações entre nutrientes e níveis de inclusão em dietas comerciais, dentre outros.

A ciência já reconhece que peixes carnívoros utilizam de forma inadequada os açúcares (VIEGAS *et al.* 2013), porém, peixes onívoros, como é o caso do tambaqui, parecem controlar melhor a regulação metabólica destes açúcares no seu organismo, sendo esta informação importante, tanto do ponto de vista biológico quanto comercial.

4. Digestibilidade dos alimentos

É importante esclarecer que, em regras gerais, desde que se iniciou o fornecimento de rações aos peixes em criação, estas devem atender as exigências nutricionais dos peixes criados em cativeiro e sua fabricação deve considerar, dentre outros fatores, os hábitos alimentares e as diferentes fases de criação. Apesar do histórico de criação de peixes datar de mais de mil anos, o fornecimento de dietas específicas para organismos aquáticos começou a ocorrer a apenas algumas décadas (FURUYA, 2007), datando da década de 1960 (MORO e RODRIGUES, 2015).

Uma das maiores dificuldades enfrentadas pelos pesquisadores para determinarem coeficientes ótimos de digestibilidade para peixes é o fato de que, diferente de outros animais de criação comercial, as espécies utilizadas na aquicultura apresentam grandes diferenças quanto ao aproveitamento dos alimentos ofertados nas dietas e, em parte, isso é influenciado pelo hábito alimentar que muitas vezes é determinado pelas diferenças anatômicas e fisiológicas do aparelho digestório. Bomfim e Lanna (2004) afirmam que peixes herbívoros, por possuírem intestino longo, favorecem o maior tempo de permanência dos alimentos no trato, aumentando assim o tempo de digestão e absorção, enquanto os peixes carnívoros, com intestino curto com baixo coeficiente intestinal, tiveram que se adaptar para aproveitar ao máximo os alimentos proteicos. Nesta circunstância os peixes onívoros apresentam comprimentos intermediários do intestino o que lhes favorece um aproveitamento amplo das mais variadas fontes alimentares.

Analisando estes aspectos os autores ainda afirmaram que determinadas espécies onívoras de água doce e quente tem capacidade digestiva de carboidratos muito mais eficiente do que os carnívoros obrigatórios (principalmente os marinhos e de água fria) onde os elevados níveis de carboidratos das dietas comprometeram tanto os coeficientes de digestibilidade do próprio carboidrato quanto dos demais macronutrientes. Ainda afirmaram que isto ocorre devido à elevação da viscosidade do alimento digerido que compromete o

transporte convectivo no trato gastrointestinal (BOMFIM e LANNA, 2004).

Apesar disso, estudos como NRC (1993), Wilson (1994) e Lee (2002) afirmaram que a digestibilidade do amido aumenta conforme também se eleva sua gelatinização (dependendo da temperatura aplicada) e, portanto, a diferença de aproveitamento entre as espécies relaciona-se com as diferenças de atividade amilolítica do trato gastrointestinal, correlacionando-se com a temperatura e os variados hábitos alimentares.

É importante comentar que outros fatores podem refletir significativamente no processo de digestibilidade. O processamento das dietas é um fator determinante para isso, pois, dependendo da forma como os ingredientes são moídos e as rações são peletizadas e/ou extrusadas, podem melhorar ou piorar o processo digestivo, sendo que, geralmente, quando se promove a extrusão, ingredientes e rações passam a ter melhor digestibilidade (GUIMARÃES, MIRANDA e ARAÚJO, 2014). Outros fatores preponderantes que refletem na digestibilidade são a idade dos peixes e a qualidade dos ingredientes inseridos nas dietas. Além disso, fatores antinutricionais de certos ingredientes, bem como as diferentes concentrações de fibra das dietas, podem influenciar de forma significativa na digestibilidade. Ainda se considera, neste contexto, os fatores inerentes à qualidade da água como salinidade (em carnívoros), dureza e temperatura que também possuem efetiva influência na digestibilidade (BOMFIM e LANNA, 2004).

Numa visão global os coeficientes de digestibilidade são normalmente utilizados para verificar a capacidade dos animais em consumirem nutrientes em quantidade e com qualidade satisfatórias para atingirem suas exigências nutricionais. A digestão dos ingredientes depende, em sua essência, da capacidade digestiva de cada espécie escolhida para o criação, do valor nutricional do ingrediente e também de sua composição química e estas informações são importantes para que se saiba como atender as necessidades nutricionais das espécies frente a uma expectativa de busca da melhor resposta no desempenho produtivo (MENEZES, 2012).

Segundo Sena (2012) a digestibilidade pode ser vista sob duas óticas diferentes, sendo a digestibilidade total aquela onde ocorrem perdas endógenas difíceis de serem quantificadas (excreção de produtos resultantes da oxidação lipídica e proteica como células intestinais, muco, substâncias biliares e as principais enzimas digestivas), principalmente em peixes, e a digestibilidade aparente sendo que esta considera um percentual considerado pequeno de perdas (aproximadamente 5%) no ambiente aquático.

5. Metabolômica

A metabolômica é uma importante parcela das ciências “ômicas” (que inclui a genômica, a transcriptômica e a proteômica, dentre outras) responsável por estudar as alterações ocorridas nos produtos intermediários ou finais do metabolismo, chamados metabólitos, em uma ou mais amostras biológicas por meio da quantificação analítica de amplo espectro destes metabólitos em um sistema. Sabe-se, também, que o pool de metabólitos de baixa massa molecular (até 1500 Da) é denominado metaboloma. Basicamente, a técnica da metabolômica consiste em uma sequência na qual se coletam e se preparam amostras em laboratório, faz-se a análise instrumental destas amostras, promove-se o processamento dos dados produzidos, realiza-se a análise estatística, identifica-se os metabólitos de interesse de cada estudo dentro do contexto numérico e infere-se uma interpretação biológica para estas informações (CANUTO *et al.*, 2018). Ainda, dentre as muitas técnicas para se promover uma análise metabolômica, as mais recentes, usuais e eficientes são a análise metabolômica por espectrometria de massas (EM) com ionização branda, cromatografia gasosa (CG) acoplada à espectrometria de massas e a espectroscopia de ressonância magnética nuclear (NMR) (ABDELNUR, 2011).

Na área da nutrição a metabolômica é aplicada, fundamentalmente, para avaliar as adaptações a nível molecular em resposta à ingestão de determinados nutrientes ou quaisquer outros elementos químicos introduzidos que possam afetar de forma direta e significativa o metabolismo dos animais (GOODACRE *et al.*, 2004). Nos estudos de nutrição, geralmente a NMR é a técnica mais utilizada por ser quantitativa, não destrutiva, reproduzível e que não utiliza a técnica de transformação de uma substância em outra, de estrutura semelhante, por meio de uma reação química (a derivatização) sobre os componentes das amostras coletadas. Sendo, então, a principal forma de se obter/caracterizar muitos perfis metabólicos, utiliza-se da aquisição e processamento de espectros seguida das análises uni e multivariadas para posterior atribuição de sinais e busca de metabólitos-chave através de bancos de dados comparativos (TASIC, 2017).

6. Objetivos

6.1 Objetivo Geral

O presente estudo tem como principal objetivo avaliar a utilização metabólica de carboidratos bem como o seu potencial produtivo em dietas para a espécie.

6.2 Objetivos específicos

- Avaliar, por meio da técnica da metabolômica por espectroscopia de ressonância

magnética nuclear (NMR), as principais alterações no metaboloma do tabaqui após injeções intraperitoneais de glicose e frutose;

- Estudar a tolerância da glicose e frutose em juvenis de tabaqui;
- Determinar os coeficientes de digestibilidade aparente para a espécie de ingredientes ricos em carboidratos para o tabaqui.

Referências

ABDELNUR, P.V. Metabolômica e espectrometria de massas. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA: Agroenergia. Brasília – DF, 2011.

ALMEIDA, L.C. **Desempenho produtivo, eficiência digestiva e perfil metabólico de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* - Curvier, 1818) alimentados com diferentes taxas carboidrato/lipídio.** Tese (doutorado). São Carlos, UFScar, 2010.

ALMEIDA, L.C.; AVILEZ, I.M.; HONORATO, C.A. HORI, T.S.F.; MORAES, G. Growth and metabolic responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed different levels of protein and lipids. **Aquaculture Nutrition**, 17; 253–262. 2011.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PSICICULTURA. Anuário Brasileiro de Piscicultura BR (2020) Disponível em: <www.peixebr.com.br/anoario-2021/>. Acesso em 3 de julho de 2021.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PSICICULTURA. Anuário Brasileiro de Piscicultura BR (2021) Disponível em: <www.peixebr.com.br/anoario-2021/> Acesso em 06 de julho de 2021.

ARIDE, P.H.R.; ROUBACH, R.; VAL, A.L. Tolerance response of tambaqui *Colossoma macropomum* (CUVIER) to water pH. **Aquaculture Research**, vol. 38, no. 6, pp. 588-594. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01693.x>. 2007.

ARIDE, P.H.R.; OLIVEIRA, A.M.; BATISTA, R.B.; PANTOJA-LIMA, J.; LADISLAU, D.S.; CASTRO, D.S.; OLIVERIA, A.T. Changes on physiological parameters of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed with diets supplemented with Amazonian fruit Camu camu (*Myrciaria dubia*). **Braz. J. Biol.** vol. 78, no. 2, pp. 360-367. 2018.

BARREIROS, R.C.; BOSSOLAN, G.; TRINDADE, C.E.E. Fructose in humans: metabolic effects, clinical utilization, and associated inherent errors. **Rev. Nutr.**, Campinas, 18(3):377-389, maio/jun., 2005.

BOMFIM, M. A. D.; LANNA, E.A.T. Fatores que afetam os coeficientes de digestibilidade nos alimentos para peixes. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.1, n1, p.20-30, julho/agosto de 2004.

CANUTO, G.A.B.; COSTAB, J.L.; CRUZ, P.L.R. SOUZA, A.R.L.; FACCIO, A.T.; KLASSENC, A.; RODRIGUES, K.T.; TAVARES, M.F.M. Metabolômica: definições, estado da arte e aplicações representativas. **Uim, Nova**, v. 41, n.1, 75-91, 2018.

CORRÊA, C.F.; AGUIAR, L.H.; LUNDSTEDT, L.; MORAES, G. Responses of digestive enzymes of tambaqui (*Colossoma macropomum*) to dietary cornstarch changes and metabolic inferences. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A, 147: 857-862. 2007.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA: Pesca e Aquicultura. Tambaqui: benefícios econômicos com a adoção do Tambapulus Parentesco. Comunicado Técnico. Palmas – TO, dez., 2020.

ENES, P.; PANSERAT, S.; KAUSHIK, S.; OLIVA-TELES, A. Nutritional regulation of hepatic glucose metabolism in fish. **Fish Physiology Biochemistry**, 35, p.519–539, 2009.

FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. El Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura: Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos. Roma. 224 pp. 2016.

FAO. 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>

FERNANDES, J.B.K.; CARNEIRO, D.J.; SAKOMURA, N.K. Fontes e níveis de proteína bruta em dietas para alevinos de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.3, p.646-653, 2000.

FROESE, R.; PAULY, D. Editors. 2018. FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, (06/2018).

FURUYA, W. M. 2007. Redução do impacto ambiental por meio da ração. In: Palestra VII Seminário de Aves e Suínos – Acesui Regiões. I Seminário de Aquicultura, Maricultura e Pesca. **Anais**. Belo Horizonte-MG. p. 121-139.

GOULDING, M. **The fishes and the forest: explorations in Amazonian natural history**. Berkeley, Los Angeles: University of California Press. 1980.

GOODACRE, R.; VAIDYANATHAN, S.; DUNN, W.B.; HARRIGAN, G.G. KEM, D.B. Metabolomics by numbers: acquiring and understanding global Metabolite data. **Trends in Biotechnology**, 22(5): 245-52. 2004.

GRAEF, E.W. As espécies de peixe com potencial para criação no Amazonas. In: A.L. VAL e A. HONCZARIK, eds. Criando peixes na Amazônia. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, pp. 29-43. 1995.

GUIMARÃES, I.G.; MIRANDA, E.C.; ARAUJO, J.G. Coefficients of total tract apparent digestibility of some feedstuffs for Tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Animal Feed Science and Technology**, 188(1): 150-155. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.11.007>.

GUIMARÃES, I.G.; MARTINS, G.P. Nutritional requirement of two Amazonian aquacultured fish species, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816) and *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818): a mini-review. **J. Appl. Ichthyol.** 31 (Suppl. 4), 57–66, 2015.

KAMALAM, B. S.; MEDALE, F.; PANSERAT, S. Utilisation of dietary carbohydrates in farmed fishes: New insights on influencing factors, biological limitations and future strategies. **Aquaculture**, v. 467, p. 3-27, 2017.

LEE, S. M. Apparent digestibility coefficients of various feed ingredients for juvenile and grower rockfish (*Sebastes schlegelii*) **Aquaculture** v.207, p.79–95, 2002.

LOBO, F. P.; CINTRA, L. C.; VARELA, E. S.; ALVES, A. L.; VILLELA, L. C. V.; SILVA, N. M. A.; PAIVA, S. R.; CAETANO, A. R. Novo genome assembly of the South American

freshwater fish Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: PLANT & ANIMAL GENOME CONFERENCE, 23., 2015, San Diego, CA. [Abstracts...]. San Diego: [s.n.], 2015. PAG 2015. Pôster P0231.

MELARD, C.; OROZCO, J. J.; URAN, L. A.; DUCARME, C. Comparative growth rate and production of *Colossoma macropomum* and *Piaractus brachypomus* (*Colossoma bidens*) in tanks and cages using intensive rearing conditions. In: G.BARNABE and P. KESTEMONT, eds. Production, environment and quality. Ghent: **European Aquaculture Society**, pp. 433-442. 1993.

MENEZES, N. G. A. **Efeito do método de coletas de fezes de tambaqui (*Colossoma macropomum*) sobre a taxa de lixiviação.** (mestrado). Universidade federal de Goiás, Jataí - GO. 2012.

MORO, G.V.; RODRIGUES, A.P.O. Rações para organismos aquáticos: tipos e formas de processamento. Palmas: Embrapa Pesca e Aquicultura, 2015.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of fish.** Washington: National Academy of Science. 105p. 1993.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger: princípios de bioquímica.** 5. Ed. São Paulo, 2011.

OLIVEIRA, A.C.B.; MIRANDA, E.; CORREA, R. Exigências nutricionais e alimentação do tambaqui. In: **Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira** (FRACALLOSSI, D. M.; CYRINO, J. E. P. ed.), 1st ampl. pp. 231-240. Sociedade Brasileira de Aquicultura Aquática, Florianópolis, SC, Brasil. 2013.

PEREIRA-JUNIOR, G.P.; PEREIRA, E.M.O.; PEREIRA-FILHO, M.; BARBOSA, P.S.; SHIMODA, E.; BRANDÃO, L.V. Desempenho produtivo de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* CUVIER, 1818) alimentados com rações contendo farinha de cruzeira de mandioca (*Manihot esculenta*, CRANTZ) em substituição ao milho (*Zea mays*). **Acta Amazônica**, v. 43(2), 217 - 226, 2013.

POLAKOF, S.; PANSERAT, S.; SOENGAS, J.L.; MOON, T.W. Glucose metabolism in fish: a review. **J. Comp. Physiol. B**, v.182, p.1015–1045, 2012

RODRIGUES, A. P. O. Nutrição e Alimentação do tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Boletim Instituto Pesca**, São Paulo, 40. v. 1, p. 135 – 145, 2014.

SAINT-PAUL, U., The potential for *Colossoma* culture in Latin America. **Info fish International**, vol. 2, pp. 49-53. 1991.

SANDRE, L.C.G.; BUZZOLLO, H.; NASCIMENTO, T.M.T.; NEIRA, L.M.; JOMORI, R.K.; CARNEIRO, D.J. Productive performance and digestibility in the initial growth phase of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed diets with different carbohydrate and lipid levels. **Aquaculture Reports**, 6, 28–34, 2017.

SANTOS, L.; FILHO, M. P.; SOBREIRA, C.; ITUASSÚ, D.; FONSECA, F. A. L. Exigência proteica de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) após privação alimentar. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 40, n. 3, p. 597 – 604, 2010.

SENA, M. F. **Digestibilidade aparente de ingredientes para o tambaqui (*Colossoma macropomum*)**. Mestrado. Universidade Federal de Goiás. 2012.

SILVA, J.A.M.; PEREIRA-FILHO, M.; OLIVEIRA PEREIRA, M.I. de. Frutos e sementes consumidos pelo tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) incorporados em rações. Digestibilidade e velocidade de trânsito pelo trato gastrointestinal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 32: 1815-1824, 2003.

SILVA, L.F.L.; MIRANDA, E.C.; FRAGA, A.B.; SANTOS, E.L.; PASCOAL, L.A.F.; PACHECO, K.M.G.; PONTES, E.C. Níveis de proteína bruta no desenvolvimento de alevinos de tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: **ZOOTEC.**, Olinda. 40 anos de ensino em Zootecnia no Brasil, 2006.

SIQUEIRA, T.V. Aquicultura: a nova fronteira para aumentar a produção mundial de alimentos de forma sustentável. Instituto de Pesquisas Econômicas Aplicadas – IPEA. **boletim regional, urbano e ambiental**, 17, jul.-dez. 2017.

TASIC, L. Metabolômica e metabonômica por ressonância magnética nuclear (RMN). **Anais da 69ª Reunião Anual da SBPC**, Belo Horizonte – MG, JUL, 2017.

TAVERNARI, F.C.; CARVALHO, T.A.; ASSIS, A.P.; LIMA, H.J.D. Polissacarídeo não amiláceo solúvel na dieta de suínos e aves. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.5, n5, p.673-689, setembro/outubro de 2008.

VALENTI, W.C. Aquicultura sustentável. In: **Congresso de Zootecnia**, 12^o, Vila Real, Portugal, 2002, Vila Real: Associação Portuguesa dos Engenheiros Zootécnicos. Anais...p.111-118. 2002.

VIEGAS, I.; RITO, J.; GONZALEZ, J.D.; JARAK, I.; CARVALHO, R.A.; METON, I.; PARDAL, M.A.; BAAMANTE, I.V.; JONES, J.G. Effects of food-deprivation and refeeding on the regulation and sources of blood glucose appearance in European seabass (*Dicentrarchus labrax L.*), 166, 399–405. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.07.013>. 2013.

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

WINFREE, R.A.; STICKNEY, R.R. Effects of dietary protein and energy on growth, feed conversion efficiency and body composition of *Tilapia aurea*. **J. Nutr.** 111, 1001–1012. 1981.

WOYNÁROVICH, A. VAN ANROOY, R. 2019. Field guide to the culture of tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1816). **FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper No. 624**. Rome, FAO. 132 pp.

Capítulo 02

Carbohydrate tolerance in Amazon tambaqui (*Colossoma macropomum*) revealed by NMR-metabolomics - Are glucose and fructose different sugars for fruit-eating fish?¹

Jeisson Emerson Casimiro Ferrari^a, Mariana Palma^b, Gabriela Castellani Carli^{a,c}, Thaise Mota Satiro^a, Ludgero C. Tavares^{d,e}, Ivan Viegas^b, Leonardo Susumu Takahashi^{a,c}

Abstract

In the present study, two approaches were followed to evaluate the metabolic responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*), a frugivorous species, to intraperitoneal (IP) administration of glucose (GLU) and fructose (FRU) in fed (FED) and 10-day fasted (FAST) fish. Glucose and fructose tolerance tests were performed to assess the carbohydrate utilization and complementary NMR-metabolomics analyses were done to elucidate the impacts of sugar mobilization on the metabolic profile of plasma, liver and muscle. Blood was sampled from FED groups at 0, 3, 6 and 24 h; and at 0 and 24 h from FAST groups. Significant differences were observed in the hyperglycaemic peak between sugars at 3 h (GLU - 13.7 ± 2.0 mM vs. FRU - 8.7 ± 1.1 mM; saline 6.3 ± 0.6 mM) and on the return to normoglycaemia (GLU - 8.5 ± 2.2 mM vs. FRU - 5.2 ± 0.9 mM; saline 4.9 ± 0.6 mM) 6 h after IP on the FRU fish. The NMR-metabolomics approach allowed to conclude that tambaqui seems to be more responsive to the feeding regime (FED vs. FAST) than to the injected sugar (FRU vs. GLU). From the studied tissues, plasma showed no significant variations between feeding regimes at 24 h after IP, while muscle and liver revealed some variations on the final metabolome profile between FED and FAST groups. The metabolome variations between feeding regimes are indicative of changes on the amino acid utilization. Fish from FAST group seem to utilize amino acids as energy source rather than for protein synthesis and muscle growth. Variations on glucose concentration in muscle can also indicate different utilization of the sugars depending on the feeding regime.

¹ FERRARI, J.E.C. PALMA, M. CARLI, G.C. SATIRO, T.M. TAVARES, L.C. VIEGAS, I. TAKAHASHI, L.S. carbohydrate tolerance in Amazon tambaqui (*Colossoma macropomum*) revealed by NMR-metabolomics: Are glucose and fructose different sugars for fruit-eating fish? *Comparative Biochemistry and Physiology: Part D: Genomics and Proteomics* 41 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.cbd.2021.100928>

^a São Paulo State University (Unesp), Aquaculture Center of Unesp (Caunesp), Jaboticabal 14884-900, Brazil.

^b University of Coimbra, Centre for Functional Ecology, Department of Life Sciences, Coimbra 3000-456, Portugal.

^c São Paulo State University (Unesp), College of Agricultural and Technological Sciences (FCAT-Unesp), Dracena 17900-000, Brazil.

^d Center for Neuroscience and Cell Biology, University of Coimbra, Coimbra 3004-517, Portugal.

^e CIVG - Vasco da Gama Research Center, University School Vasco da Gama - EUVG, 3020-210 Coimbra, Portugal

1. Introduction

In 2018, freshwater (inland) aquaculture produced most of the farmed fish totalling 51.3 million tonnes, or 62.5% of the world total. It is expected that the majority of global aquaculture production in 2030 will be composed of freshwater species (FAO, 2020). Freshwater fish have been the largest consumers of commercial aquaculture feeds (Tacon and Metian, 2015) but as most of them are herbivorous/omnivorous species, are therefore more likely to receive terrestrial crops in feed (Pahlow *et al.*, 2015). While the aquaculture industry struggles to decrease its dependence on marine-derived ingredients such as fishmeal (Hardy, 2010), promoting the farming of freshwater species may in fact contribute to improve the overall sustainability of the sector.

Carbohydrates provide the necessary energy for vital processes in specific tissues such as the brain, gills, erythrocytes and gonads (Polakof *et al.*, 2012). However, carnivorous fish make poor use of carbohydrates as energy due to sluggish control over its endogenous production (Viegas *et al.*, 2013), complex hormonal interplay (Polakof *et al.*, 2009, 2011), poorly adapted digestive apparatus with functional of digestive carbohydrases (Hidalgo *et al.*, 1999), poor lipogenic ability to store excess glucose (Dai *et al.*, 2016; Viegas *et al.*, 2016), or most likely, a combination of these and other metabolic aspects. On the other hand, herbivorous/omnivorous fish seem to be able to sustain higher levels of dietary carbohydrates to the extent that some of these species have a frugivorous dietary regime in the wild. Tambaqui (*Colossoma macropomum*), a freshwater fish species native to the Amazon basin, is the most produced native species in Brazil and its total aquaculture production in 2016 was 142,135 t of which 96.4% were produced in the country (Woynarovich and Van Anrooy, 2019). Besides its ecological relevance in terms of seed dispersal (Anderson *et al.*, 2011; Correa *et al.*, 2015), the frugivorous regime of this species renders it particularly tolerant to dietary incorporation of tropical fruits and seeds/nuts (Chellappa *et al.*, 1995; Silva *et al.*, 2003; Nwanna *et al.*, 2008; Aride *et al.*, 2018) in the context of aquaculture.

Glucose tolerance test (GTT), administered either orally or intraperitoneally, is considered an important tool for evaluating carbohydrate utilization. This has been performed on a variety of teleosts as means to easily provide an indication for the capacity to handle of high glucose loads as for example rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), American eel (*Anguilla rostrata*), and black bullhead catfish (*Ameiurus melas*) (Legate *et al.*, 2001), white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) (Deng *et al.*, 2001), Australian snapper (*Pagrus auratus*) (Booth *et al.*, 2006), zebrafish (*Danio rerio*) (Eames *et al.*, 2010), European

sea bass (*Dicentrarchus labrax*) (Enes *et al.*, 2011), white sea bream (*Diplodus sargus*) (Enes *et al.*, 2012), yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) (Booth *et al.*, 2013), Senegalese sole (*Solea senegalensis*) (Conde-Sieira *et al.*, 2015) and pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (Takahashi *et al.*, 2018), to name a few. The intensity and duration of the hyperglycaemic curve is species-dependent, however it is general consensus that herbivorous/omnivorous fish recover basal blood glucose levels more rapidly than carnivorous species (Polakof *et al.*, 2012; Kamalam *et al.*, 2017).

Despite the increasing interest to understand the role of fructose in human/mammalian metabolism due to the increase in the use of high-fructose corn syrup and its implications on public health (Sun and Empie, 2012; Hannou *et al.*, 2018), similar tolerance test using fructose (and not glucose), are scarce in fish. But given the frugivorous regime of tambaqui, a fructose tolerance test (FTT) could unveil further mechanisms of how these species handle high-sugar diets from tropical fruits in the wild and high sugar/starch diets in aquaculture.

NMR-based metabolomics have been widely used to profile alterations resulting from dietary challenges in fish (Roques *et al.*, 2020a,b). This approach is valid in various tissues but of particular interest in liver for its role in the control of endogenous carbohydrate storage and glucose mobilization in fish (Prathomya *et al.*, 2017; Palma *et al.*, 2019, 2020). Plasma collection, due to its non-lethal nature and readiness to reveal alterations in circulating metabolites (Prathomya *et al.*, 2017; Casu *et al.*, 2017; Palma *et al.*, 2021) and muscle, to reveal the impact on the nutritional profile of the end-product (fillet) (Jarak *et al.*, 2018; Palma *et al.*, 2019; Roques *et al.*, 2020a,b), have gained relevance as target for metabolomics analysis. Therefore, the present study aimed to evaluate the metabolic responses of tambaqui (*C. macropomum*) to the intraperitoneal administration of glucose and fructose under two dietary conditions (fed and fasted) complemented by an NMR-based metabolomic analysis of plasma, liver, and muscle tissue.

2. Materials and methods

2.1. Fish handling and sampling

Experiments were carried out at the Aquaculture Center of UNESP (CAUNESP), São Paulo State University (UNESP), Jaboticabal, Brazil (latitude 21°18' S; longitude 48°18' W). All fish were obtained from the same hatch occurred at the CAUNESP facilities. A total of 90 fish were randomly distributed into nine 900 L tanks (10 fish per tank; n = 9 tanks) average body weight per tank 157.8 ± 5.2 g (BW \pm SD) in a closed water circulation system with mechanical and biological filters and aeration. The fish were acclimated for 10 days and fed to satiation three times a day (07 h00, 13 h00 and 17 h00) with a commercial feed (omnivorous fish; NutriPiscis Presence Animal Nutrition, Santa Rosa, Brazil; 280g/kg crude protein; 40 g/kg ether extract; 140 g/kg mineral matter 100 g/kg crude fiber).

Six tanks were assigned for fed fish (FED): three for IP-injected with glucose (GLU), and three for IP-injected with fructose (FRU); and three tanks for fasted fish (FAST). Complete tank distribution and sampling scheme described hereafter is presented in Fig. S1. During all experimental period, including fish acclimation, water parameters were: temperature 27.7 ± 1.8 °C, dissolved oxygen 4.5 ± 0.7 mg/L, total ammonia 0.5 ± 0.04 mg/L, nitrite 0.2 ± 0.01 mg/L and pH 7.5 ± 0.1 .

For the FED fish, a total of 60 fish (10 fish per tank; 6 tanks) were fed three times a day (07 h00, 13 h00 and 17 h00) until apparent satiety for 10 days, with the same commercial diet for omnivorous fish. On the following morning, 24 h after last meal, blood samples from six fish were collected to establish the baseline (FED) values (0 h, n = 6 fish; one fish per FED tank). From the remaining 54, twelve (n = 12, 2 fish per FED tank) were subjected to intraperitoneal injection of 0.9% saline solution and sampled at 3, 6 and 24 h after the injection (n = 4, four fish per sampling time; all fish from different tanks). The remaining 42 were subjected to intraperitoneal injection of glucose (GLU) or fructose (FRU) (2 g/kg BW) and sampled at 3, 6 and 24 h after the injection (n = 21 for each sugar; sampled: n = 6 at 3 h, n = 6 at 6 h, n = 9 at 24 h). To avoid mixing, these fish were distributed by three different tanks assigned to each sugar.

For the FAST fish, a total of 30 fish (10 fish per tank; 3 tanks) were fasted for 10 days. On the following morning, blood samples from six fish were collected to establish the baseline (FAST) values (0 h, n = 6; 2 fish per FAST tank). From the remaining 24, six (n = 6, 2 fish per FAST tank) were subjected to intraperitoneal injection of 0.9% saline solution and sampled 24 h after the injection. The remaining 18 were subjected to intraperitoneal

injection of glucose (GLU) or fructose (FRU) (2 g/kg BW) and sampled at 24 h after the injection (n =9 for each sugar; 3 fish per FAST tank).

Intraperitoneal injections were made at a volume of 10 mL/kg BW with 2 g/kg BW of D-glucose (ref. G8270, Sigma-Aldrich, Saint Louis, USA), except for fish sampled at 24 h which were injected with [U-¹³C₆, 99%] D-glucose (CLM- 1396-5, Cambridge Isotope Laboratories, Andover, USA) and D-fructose (ref. F0127, Sigma-Aldrich, Saint Louis, USA), except for fish sampled at 24 h which were injected with [U-¹³C₆, 99%] D-fructose (CLM- 1553-1, Cambridge Isotope Laboratories, Andover, USA). All handling, intraperitoneal injection and blood collection were performed in fish under anaesthesia using eugenol (0.1 g/L, Escama forte, Santa Fé do Sul, Brazil), very quickly collected from assigned tank and immersed in anaesthetic solution to avoid additional physiological disturbance. All blood sampling was performed by caudal vein puncture with 3% EDTA and all blood samples were kept in ice and immediately processed. After blood sampling fish were sacrificed by cervical section and individually weighed in an analytical digital scale. Liver was excised and white muscle samples were dissected from the epaxial quadrant. Tissue samples were weighed, freeze-clamped in liquid nitrogen and stored at - 80°C until further processing.

2.2. Blood samples processing

Whole blood samples were centrifuged for 10 min (827g, at 10°C). Plasma was aliquoted separately for glucose quantification and metabolomics and kept at - 20°C until further processing.

Plasma glucose concentrations were determined following the GOD-Trinder Method (Glicose Liquiform, Labtest Diagnostica SA, Lagoa Santa, Brazil). Briefly, 10 µL of plasma was transferred into a test tube, 1.0 mL of the commercial reagent was added, and the mixture was incubated for 10 min, at 37°C. After the incubation period, absorbance was read at 505 nm in a spectrophotometer (UVmini-1240, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan). For metabolomics, plasma was loaded into Amicon Ultra 0.5 mL centrifugal filters with 3 kDa MW cutoff (UFC500396, Merck Millipore, Carrigtwohill, IRL), following the manufacturer instructions. A detailed analysis of the performance of such filters and their selective role in plasma is scrutinized elsewhere (Mercier *et al.*, 2011). Briefly, filters were pre-rinsed seven times with milliQ water, and all steps were performed on ice and on a refrigerated centrifuge set to 4°C. Filtered plasma samples were stored at - 20°C until NMR analysis.

2.3. Statistical analysis for GTT and FTT

Differences in final BW were tested by one-way ANOVA. To assess differences in plasma glucose, several tests were performed as follows. One-way ANOVA was used to test significant differences between sampling times for each of the IP injections, separately (FED fish: Saline, GLU and FRU). One-way ANOVA was also applied to test significant differences between IP injections for each sampling time (FED fish: 3, 6 and 24 h after injection). A posteriori Tukey's multiple comparisons test was performed when significant differences were found. t-Test was applied to test significant differences between: FED vs. FAST fish at baseline (0 h); and 0 h vs. 24 h for each of the IP injections (FAST fish: Saline, GLU and FRU). Finally, a two-way ANOVA was applied to test significant differences between IP injections (Saline, GLU and FRU) and feeding regime (FED and FAST) at 24 h after injection. Analyses were performed in GraphPad Prism 7.0 a software (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA). Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

2.4. Tissue samples processing

Frozen muscle and liver samples were individually powdered with a mortar and pestle chilled in liquid nitrogen, avoiding thawing during the entire process. Tissue aqueous fraction extraction of muscle and liver samples was performed following the MTBE (tert-butyl methyl ether) extraction method, as described previously (Matyash *et al.*, 2008). Aqueous fractions were lyophilized and kept at 4°C until NMR analysis. Only the tissues sampled at 24 h were used for metabolomics.

2.5. NMR spectra acquisition

The NMR-metabolomics approach was performed in plasma, muscle and liver samples from glucose- and fructose-injected groups (GLU and FRU), from both feeding regime (FED and FAST), at the final sampling (24 h after the GLU/FRU IP injection).

Two plasma samples from the group GLU-FED ended with low volume after filtering and were pooled to obtain the required volume to the NMR analysis. Plasma samples (179 μL) were mixed with 22 μL of 99.8% $^2\text{H}_2\text{O}$ and 19 μL phosphate buffer (1.75 M K_2HPO_4 anhydrous); 1.24 mM sodium formate; 5.0 M 3-(trimethylsilyl) propionic-2,2,3,3- d_4 acid

sodium salt (TSP); pD 7.40; in $^2\text{H}_2\text{O}$). Muscle and liver aqueous fraction were re-suspended in 229 μL phosphate buffer (described above) and 21 μL 99.8% $^2\text{H}_2\text{O}$.

Samples were transferred into 3 mm NMR tubes and spectra acquisition was conducted on a Varian VNMRS 600 MHz (Agilent, Santa Clara, CA, USA) spectrometer equipped with a 3 mm $^1\text{H(X)}$ -PFG inverse configuration probe at 298 K. Proton (^1H) spectra were collected using a ^1H -Presat pulse sequence (spectral width: 7200 Hz, relaxation delay: 4 s, saturation time: 3 s, acquisition time: 3 s); and a Nuclear Overhauser effect (tnnoesy) pulse sequence (spectral width: 7200 Hz; mixing time: 100 ms; recycle delay: 10 ms; saturation delay: 990ms; acquisition time: 4 s; transients: 128).

2.6. NMR spectra analysis

As a first approach to the data, it was followed the common untargeted analysis, using the raw spectra of plasma, muscle and live applying the binning values to the multivariate analysis (Principal Component Analysis – PCA and partial least squares discriminant analysis – PLS). However, several peaks derived from the ^{13}C labelled compounds in the spectra of the GLU and FRU groups were identified. To avoid interference of these peaks in the untargeted analysis or misleading interpretations, the multivariate analysis was applied to the final metabolite concentration, identified and quantified by the targeted approach as further described.

2.7. Metabolite identification and quantification

Plasma spectra were processed resorting to the fully automated Bayesil online system, according to the instructions provided in the webpage (<http://www.bayesil.ca>) (Ravanbakhsh *et al.*, 2015). Identification and quantification of plasma metabolites were completed selecting the custom spectral library (93 compounds) and the standard profiling speed, as described previously for fish plasma (Palma *et al.*, 2021).

Muscle and liver spectra were processed in the ACD/NMR Processor Academic Edition from ACD/Labs 12.0 software (Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, ON, Canada) applying: zero-filling to 65 k, line broadening of 0.2 Hz, and phasing and baseline correction. The chemical shifts were referenced to the TSP peak at 0 ppm. Metabolite identification and quantification were performed manually using the ACD/NMR

Processor Academic Edition (Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, ON, Canada), assisted by the Reference Library version 10 of Chemomx Evaluation Edition (Chemomx Inc., Edmonton, Canada), and in-house databases. Metabolites were identified following the Metabolomics Standards Initiative (MSI) level 2, according to the guidelines for metabolite identification (Sumner *et al.*, 2007).

2.8. Multivariate analysis

Multivariate analysis was performed using the metabolite concentration in plasma, muscle and liver in each experimental group resorting to the MetaboAnalyst 5.0 online software (<https://www.metaboanalyst.ca>) for PCA and PLS. For the PLS analysis, Q^2 (predictive ability of the model), R^2 (goodness of the fit), and the p-value of the permutation testing (1000 permutations) were considered as the quality parameters of each model. Models were accepted as valid for $Q^2 > 0.5$ and $p < 0.05$ as recommended by Triba *et al.* (2015). On valid models, the variable important in projection (VIP) with the score value higher than 1 were assigned as contributing to the observed group clustering (Xia and Wishart, 2016). All ellipses in the scores plots (PCA and PLS models) were drawn at the 95% confidence level.

2.9. Univariate analysis

Univariate analysis was applied to the final concentration values for each metabolite in each sample, using GraphPad Prism 7.0a software (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA). Conformity with the normality assumptions were tested using the D'Agostino and Pearson normality test, and the presence of outliers were tested by ROUT method ($Q = 1\%$). t-Test (two-tailed, type 3) or Mann-Whitney test was accordingly applied to assess differences between glucose- and fructose-injected groups.

3. Results

3.1. Fish weight

The 10-day fasting period significantly affected the final fish body weight (BW) with the FAST tanks presenting a lower average (146.5 ± 9.8 g) when compared with both FED GLU and FRU (176.1 ± 3.6 g and 173.4 ± 3.4 g, respectively; $n = 3$ tanks; one-way ANOVA,

$p = 0.002$, followed by Tukey's test).

3.2. Glucose and fructose tolerance test

Plasma glucose levels resulting from the GTT, FTT and analysis of fasted fish at 0 and 24 h are presented in Fig. 1. No differences were found for plasma glucose levels in several different paired comparisons: FED vs. FAST fish at baseline (0 h), and 0 h vs. 24 h for each of the injections (FAST fish: Saline, GLU and FRU). Moreover, no significant differences were found when comparing two variables at 24 h by two-way ANOVA: IP injections (Saline, GLU and FRU) and feeding regime (FED and FAST). However, if analysing the FED fish alone, significant differences were observed between GTT and FTT. From a baseline value before injection of 5.5 ± 0.6 mM, fish injected with GLU, peaked at 3 h with the highest concentration observed in the whole test (13.7 ± 2.0 mM). At 6 h, glycaemia was still significantly increased in relation to 0 h (8.5 ± 2.2 mM). Finally, at 24 h glycaemia returned at baseline levels.

Despite peaking at around the same time (~3 h) and with levels significantly higher than those observed in the saline-injected fish, the fact is that GLU and FRU glycaemic peak differed significantly in its intensity, being higher on GLU. In addition, while at 6 h the FRU-injected fish returned to normoglycaemic levels, GLU-injected fish were still in hyperglycaemic.

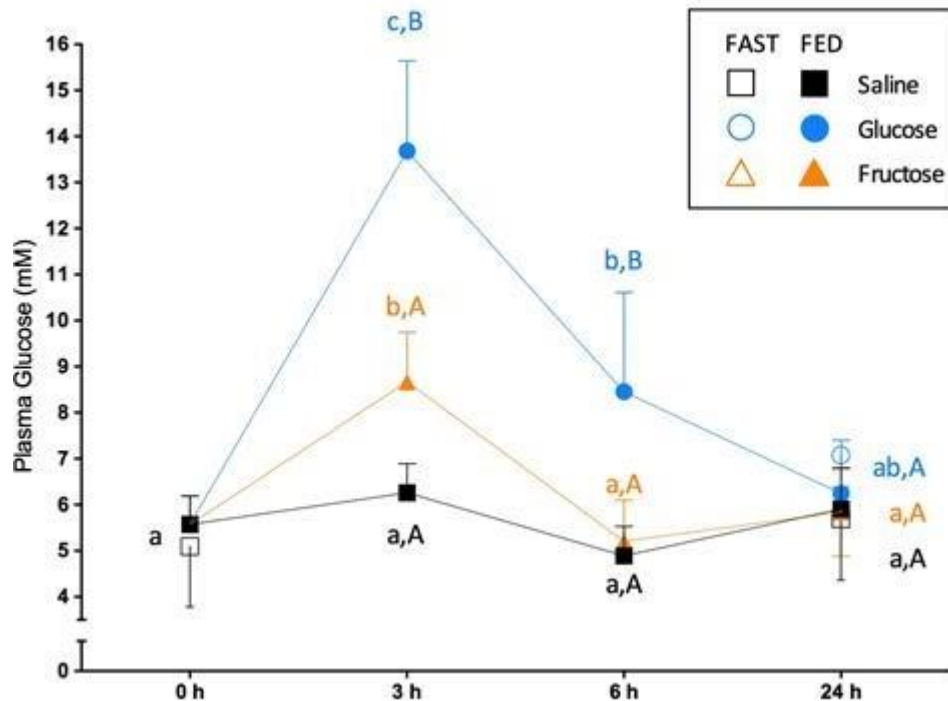


Fig. 1. Glucose levels over a 24 h period for tambaqui (*C. macropomum*), intraperitoneally injected with saline, glucose or fructose (2.0 g/kg BW). Values are the means \pm SD. One-way ANOVA was used to test significant differences followed by Tukey's multiple comparisons test was performed when significant differences were found ($p < 0.05$). Significant differences between sampling times for each of the IP injections, separately (FED fish: Saline, GLU and FRU) are indicated by lower-case letters. Significant differences between IP injections for each sampling time (FED fish: 3, 6 and 24 h after injection) are indicated by upper-case letters.

3.3. NMR-metabolomics

From the tissues sampled at 24 h for NMR-based metabolomics, it was identified and quantified 43 metabolites in plasma, 23 in muscle, and 25 in liver samples. Multivariate and univariate analyses were performed using the metabolite concentration in each sample, and each tissue. Multivariate analysis was first performed to evaluate the pairwise group clustering by feeding regime (FAST-GLU vs. FAST-FRU, and FED-GLU vs. FED-FRU), and by the injected sugar type (FAST-GLU vs. FED-GLU, and FAST-FRU vs. FED-FRU) in the groups originally defined in the experimental design.

3.4. Differences between sugars (GLU vs. FRU) under different feeding regimes

In plasma, the PCA models from the four pairwise analyses showed that the groups were superimposed or only partially separated (Supp. Figs. 2A, C, 3A and C). The corresponding PLS scores plots were able to separate the groups, but permutation testing did not validate these models (Supp. Figs. 2B, D, 3B and D). Similar results were observed

for muscle samples without any group separation, either in the PCA models (Supp. Figs. 4A, C, 5A and C) nor in the corresponding PLS models (Supp. Figs. 4B, D, 5B and D) which were not valid. In liver, the PCA models of the pairwise comparison between the feeding regimes (FED vs. FAST for each of the injected sugars) showed superimposing groups (Supp. Fig. 6A and C). The PLS models for these comparisons were not able to separate the groups and were not validated by permutation testing (Supp. Fig. 6B and D).

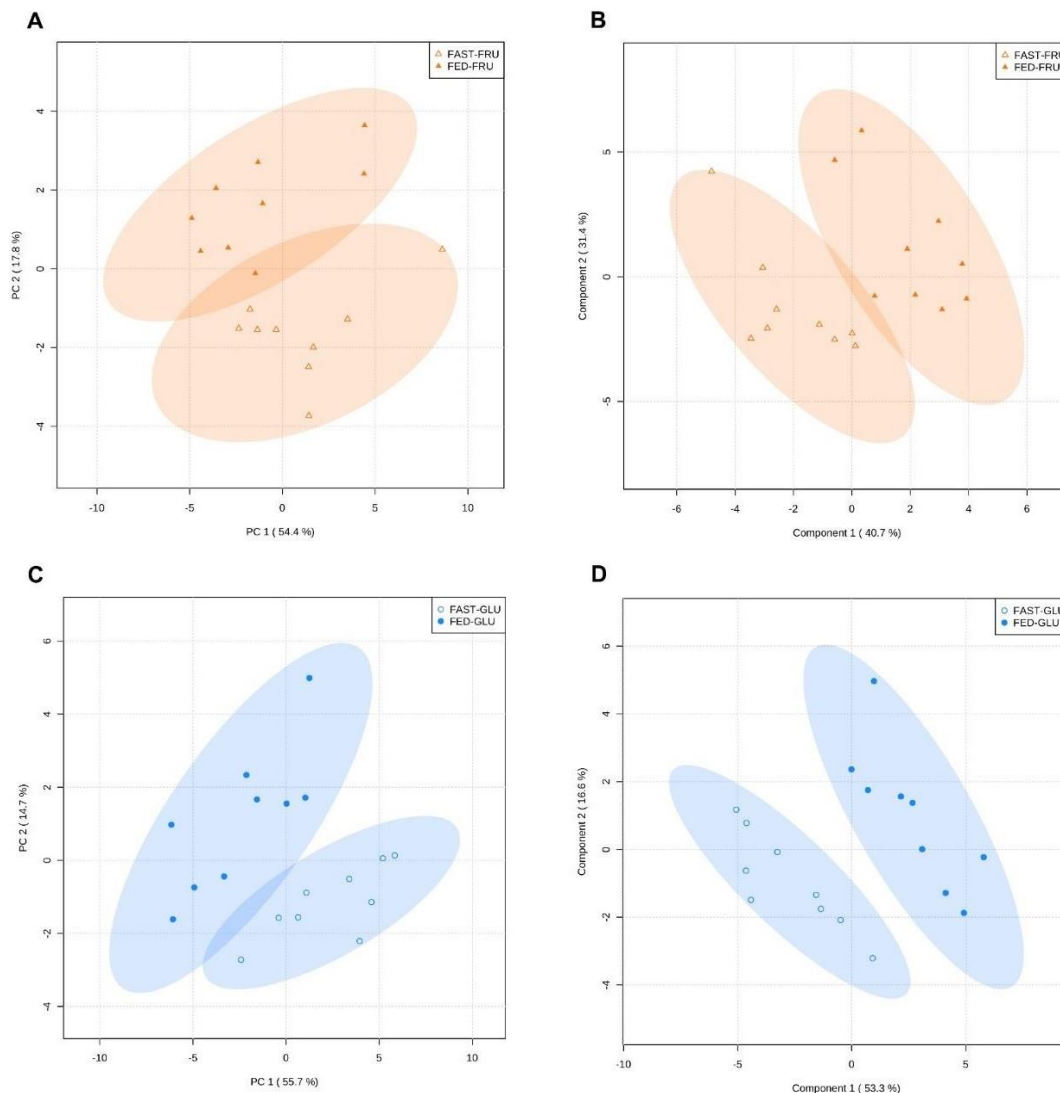


Fig. 2. Multivariate analysis of liver samples (24 h) considering the injected sugar: A) PCA scores plot of fructose-injected groups; B) PLS scores plot of the fructose-injected groups, model valid (NC = 2; $R^2 = 0.847$; $Q^2 = 0.764$; 1000 permutations: $p = 0.017$); C) PCA scores plot of the glucose-injected groups; D) PLS scores plot of the glucose-injected groups, model valid (NC = 2; $R^2 = 0.907$; $Q^2 = 0.811$; 1000 permutations: $p = 0.029$).

Regarding the pairwise comparison by the type of injected sugar in liver, the PCA models from both fructose- and glucose-injected groups (FAST-FRU vs. FED-FRU and FAST-GLU vs. FED-GLU) presented some separation of the groups (Fig. 2A and C). The corresponding PLS models separated the groups mainly along the diagonal between the component 1 and the component 2 (Fig. 2B and D), and were validated by permutation testing. The VIP (variables importance in projection) scores table and identify the metabolites that contributed the most to the observed group clustering (VIP scores > 1.0) are presented in Fig. 3A and B.

Several metabolites ranked VIP > 1, of which isoleucine, leucine, taurine, valine, threonine, choline, nicotinurate and choline-P are common to both models. All these VIP

metabolites, except choline (FAST-GLU vs. FED-GLU and FAST-FRU vs. FED-FRU) and methionine (FAST-FRU vs. FED-FRU), had higher concentrations in the FED-GLU group. Comparisons of the FED-GLU vs. FAST-GLU groups by univariate analysis (Supp. Table 1) revealed that all metabolites identified with significant differences were the same identified as VIP. The same comparison between the VIP and the univariate analysis (Supp. Table 2) between FED-FRU vs. FAST-FRU groups showed that only threonine, choline, methionine and nicotinurate are identified as significant in both analyses, although the variation between groups are in the same direction.

3.5. Overall differences between feeding regimes (FED vs. FAST)

After evaluating the multivariate analysis models, it was observed that only the pairwise comparison between FAST-GLU and FED-GLU had a complete group separation. Since this result could be indicative of a more meaningful variation between the feeding regimes than between the sugar types, it was created two new empirical groups, considering the two sugars together, to explore this hypothesis. To do so, glucose and fructose-injected groups were merged within the same feeding regime, creating the groups: FED-Sugars (FED-FRU and FED-GLU), and FAST-Sugars (FAST-FRU and FAST-GLU). The sugar-injected groups were analysed by feeding regime (FAST-Sugars vs. FED-Sugars) in each sample type.

In the PCA scores plot of plasma the groups are completely super-imposed (Supp. Fig. 7A). In the corresponding PLS scores plot, although the groups are separated, the model was not validated by the permutation testing (Supp. Fig. 7B).

Regarding the muscle samples, the PCA scores plot showed an almost complete superimposition of the two groups (Fig. 4A). On the other hand, the PLS model revealed some group separation, mainly along the principal component 1. This model was validated ($p = 0.001$; Fig. 4B).

From the metabolites with VIP scores > 1 of this PLS model, histidine, betaine, threonine, tyrosine and creatine revealed higher concentrations in the FED-Sugars group than in the FAST-Sugars group (Fig. 5). Tryptophan and phenylalanine revealed higher concentrations in the FAST-Sugars.

When compared by univariate analysis, with the exception of glucose, all metabolites identified with significant differences between FAST-Sugars and FED-Sugars groups were also identified as VIP and showed variations in the same direction (Supp. Table 3).

In the PCA scores plot of the liver samples, groups are roughly separated along the diagonal between principal component 1 and principal component 2 (Fig. 6A). The PLS model (Fig. 6B) completely separated the two groups and were validated by the permutation testing ($p < 0.001$). Following this PLS model (Fig. 7A), dimethylglycine, threonine, nicotinate, isoleucine, leucine, taurine, valine, glycine and proline were more concentrated in the FED-Sugars group than in the FAST-Sugars group. Only choline and methionine appeared in higher concentration in FAST-Sugars group. The univariate analysis of these groups (Fig. 7B) revealed that the majority of the metabolite identified with significant differences were also identified as $VIP > 1$.

Analysing the hepatic metabolites identified as VIP in the model FAST- Sugars vs. FED-Sugars, it is noteworthy that the majority of these metabolites are common VIP to both models considering the pairwise comparisons between each sugar (FAST-GLU vs. FED-GLU and FASTFRU vs. FED-FRU). However, glycine, alanine, dimethylglycine, 3-hydroxybutyrate and inosine were only identified as VIP on the glucose-injected. On the other hand, methionine was only presented as VIP on fructose-injected groups. Comparing the VIP metabolites of the FAST-Sugars vs. FED-Sugars groups on liver and muscle, with the exception of threonine, they all differ between tissues. The Table 1 summarizes the results obtained in the pairwise multivariate analysis models of the original groups and the empirical groups, considering the sugars together.

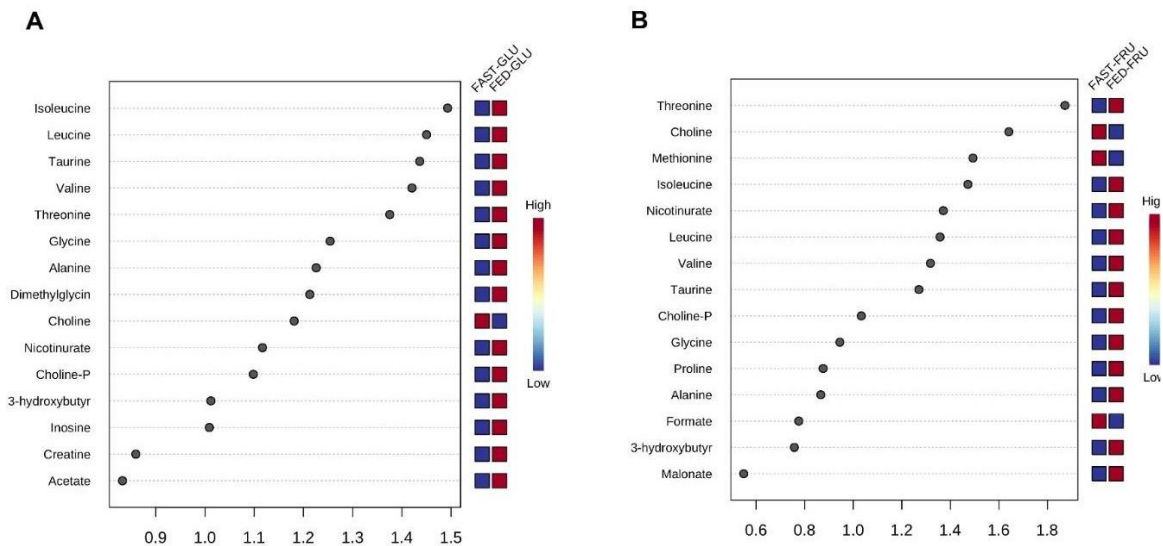


Fig. 3. Variables importance in projection (VIP) scores rank and heatmap of the metabolite concentration variations in liver of the PLS models: A) glucose-injected groups (PLS model: Fig. 2D); and B) fructose-injected groups (PLS model: Fig. 2B).

The univariate analysis of these groups (Fig. 7B) revealed that the majority of the metabolite identified with significant differences were also identified as $VIP > 1$.

Analysing the hepatic metabolites identified as VIP in the model FAST- Sugars vs. FED-Sugars, it is noteworthy that the majority of these metabolites are common VIP to both models considering the pairwise comparisons between each sugar (FAST-GLU vs. FED-GLU and FAST-FRU vs. FED-FRU). However, glycine, alanine, dimethylglycine, 3-hydroxybutyrate and inosine were only identified as VIP on the glucose-injected. On the other hand, methionine was only presented as VIP on fructose-injected groups. Comparing the VIP metabolites of the FAST-Sugars vs. FED-Sugars groups on liver and muscle, with the exception of threonine, they all differ between tissues. The Table 1 summarizes the results obtained in the pairwise multivariate analysis models of the original groups and the empirical groups, considering the sugars together.

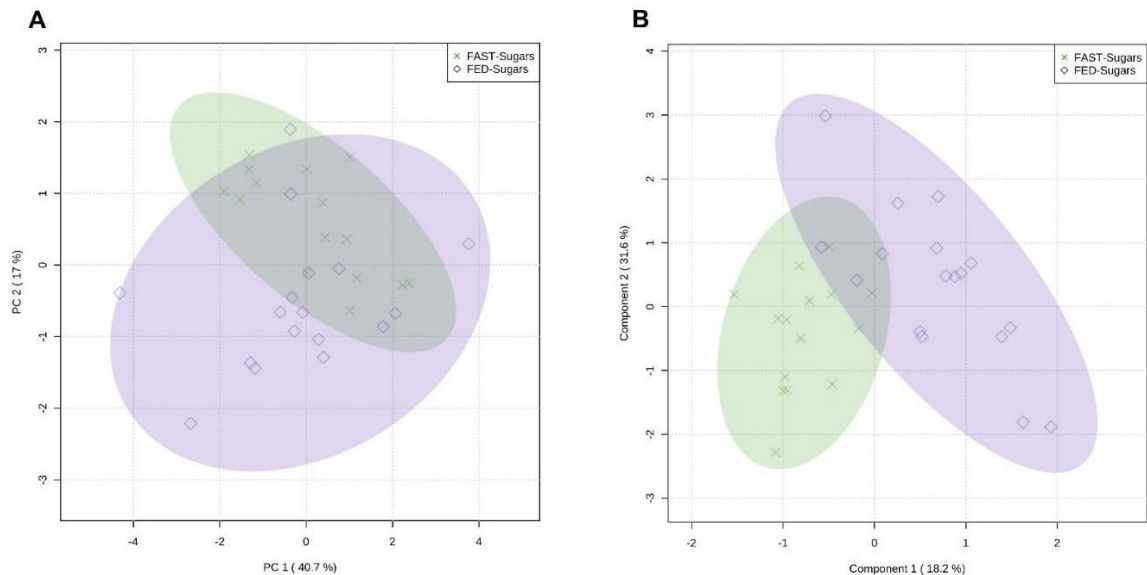


Fig. 4. Multivariate analysis of sugars-injected groups of muscle samples (24 h): A) PCA scores plot; B) PLS scores plot, model valid (NC = 4; $R^2 = 0.877$; $Q^2 = 0.562$; 1000 permutations: $p = 0.002$).

4. Discussion

4.1. Glucose metabolism

Tropical freshwater fish species are subjected to daily and seasonal variation in food availability, demonstrating great ability to deal with periods of food restriction, for both short (Barcellos *et al.*, 2010; Takahashi *et al.*, 2011; Urbinati *et al.*, 2014) and long periods (Souza *et al.*, 2003; Favero *et al.*, 2020). In these species, feeding strategies during periods of food restriction and re-feeding, have received great attention in an aquaculture setting due to the compensatory responses in animal growth with interesting effects on production cost (Souza *et al.*, 2003; Urbinati *et al.*, 2014) and/or final quality of the product (Favero *et al.*, 2020). For tambaqui, in an 8-day fasting period was observed a considerable N- wasting in fasted fish, which could suggest proteolysis and amino acid oxidation (Wood *et al.*, 2017). In tambaqui fasted for 30 days the glucose requirement was met by glycogenolysis or by de novo glucose synthesis via gluconeogenesis from glycerol, some amino acids, and lactate. Animals that suffered food deprivation experienced reductions in resting metabolic rate and maximal metabolic rate. Furthermore, fasting fish exhibited reduced aerobic scope levels, a measure of an individual metabolism, while maintaining their anaerobic potential. Interestingly, basal values for such parameters in the fed state did not differ between fish fed with commercial feed vs. a fruit-supplemented feed (Barroso *et al.*, 2020).

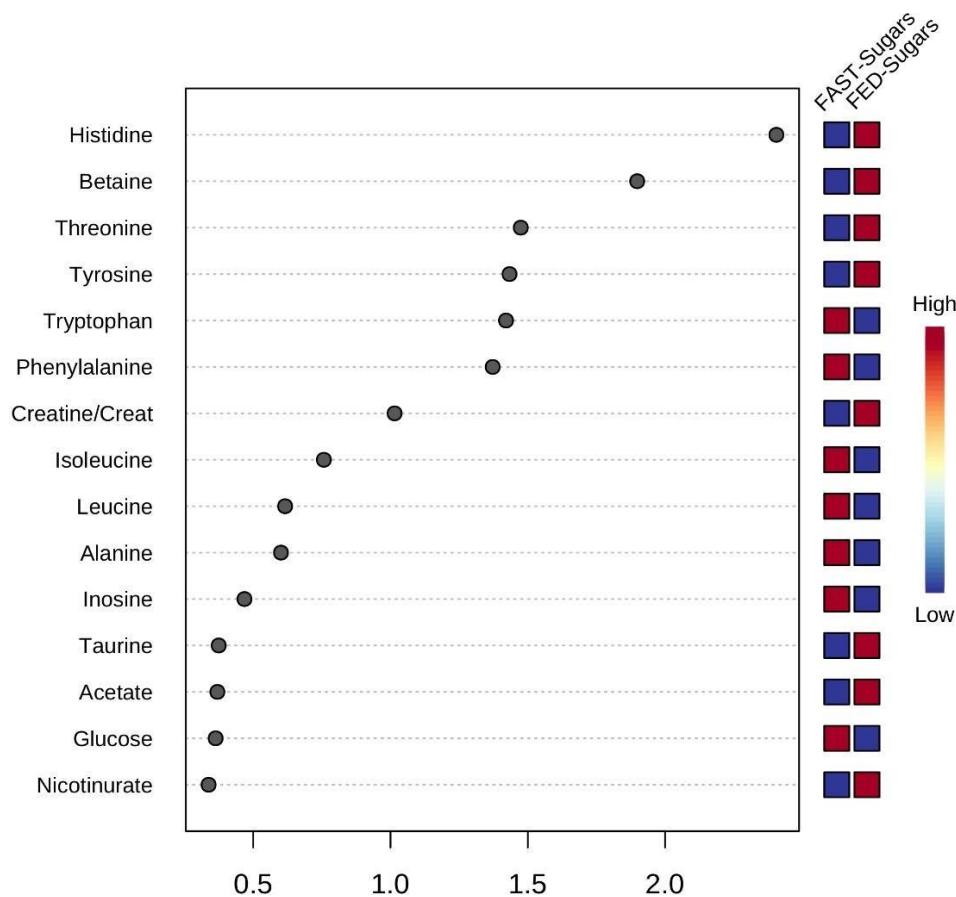


Fig. 5. Variables importance in projection (VIP) scores rank of the PLS model of the sugar-injected groups in muscle (Fig. 4B), and heatmap of the metabolite concentration variations within FAST-Sugars and FED-Sugars groups.

The understanding of carbohydrate metabolism in fish has been arousing the interest of researchers for many years, particularly after the hypothesis of a “glucose intolerant” phenotype with persistent hyper-glycaemia after a glucose load or a carbohydrate meal intake in fish, especially in carnivorous salmonids (Moon, 2001). The studies carried out afterward observed that the apparent intolerance to carbohydrates is not so pronounced in herbivorous and omnivorous fish species (Polakof *et al.*, 2012). This different metabolic behaviour between carnivorous and omnivorous fish species results from the combination of several factors such as evolutionary eating habits, genotype, characteristics of carbohydrate sources, changes in the thermal regime, digestive and glucose transport capacities, hormones regulatory, meal time, among others (Kamalam *et al.*, 2017).

In a recent study with grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), an herbivorous fish, these metabolic patterns were also related to significantly enhanced levels of digestion (amylase activity), glycolysis (hepatic pyruvate kinase activity), as well as the inhibition of gluconeogenesis (hepatic glucose-6-phosphatase activity) (Su *et al.*, 2019).

In our study, tambaqui reached its glycaemic peak 3 h after IP-GLU (13.7 ± 2.0 mM)

and this condition persisted for a relatively short time (glycaemic index reduced at 6 h and return to baseline values between 6 and 24 h). Although some carnivorous fish are unable to deal quickly with high glycaemic concentrations, frugivorous species as tambaqui exhibited an interesting biochemical machinery that may be related even to seasonal variation in food availability and consequently well-adapted intermediate metabolism. The complexity of glucose metabolism will not be fully understood by studying at only a few species but by taking advantage of the large diversity available within teleost fishes (Polakof *et al.*, 2012; Su *et al.*, 2019).

4.2. Fructose metabolism

To our best knowledge, there are very few studies on fructose metabolism in fish. The carbons of monosaccharides can be utilized through the same catabolic pathways, however glucose and fructose are absorbed and then enter the hepatic intermediary metabolism differently. While glucose is absorbed from the intestine into the plasma via active glucose co-transporter protein (SGLT1), fructose is predominantly absorbed passively from the intestinal lumen via the hexose transporter known as GLUT5, which has high affinity for fructose (Hannou *et al.*, 2018).

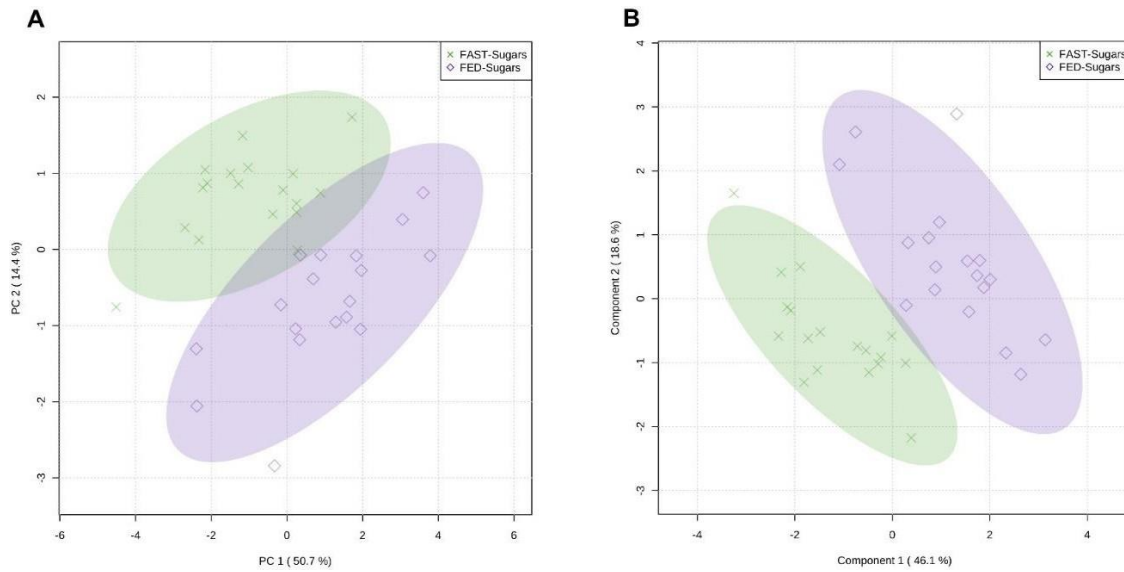


Fig. 6. Multivariate analysis of sugars-injected groups of liver samples (24 h): A) PCA scoresplot; B) PLS scores plot, model valid (NC = 2; $R^2 = 0.852$; $Q^2 = 0.808$; 1000 permutations: $p < 0.001$).

The clearance of both circulating glucose and fructose from plasma is mainly mediated by the liver via GLUT2 (Hannou *et al.*, 2018). The structure and function of this transporter has been highly conserved during vertebrate evolution and its low affinity for sugars allow for a similar ability to transport both glucose and fructose in fish (Krasnov *et al.*, 2001; Castillo *et al.*, 2009). However, once in the liver, the metabolism of both sugars diverges substantially. Glucose is phosphorylated into glucose-6-phosphate by glucokinase (GK) in a highly regulated manner as extensively reviewed in fish (Panserat *et al.*, 2014).

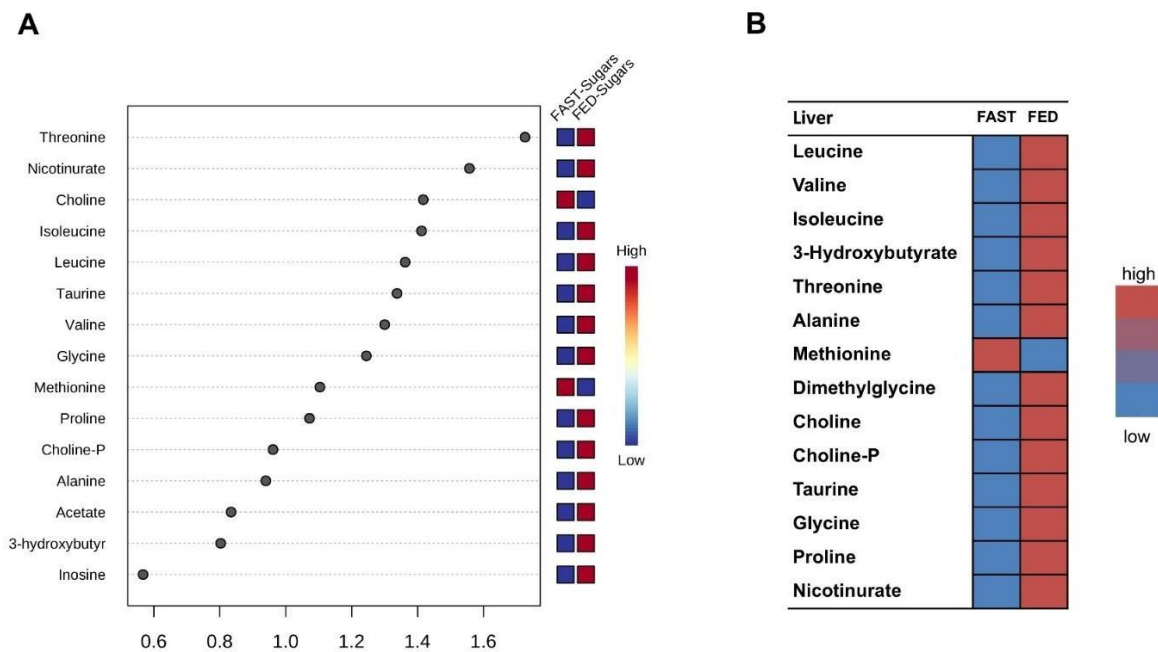


Fig. 7. A) Variables importance in projection (VIP) scores rank of the PLS model of the sugar-injected groups in liver (Fig. 6B), and heatmap of the metabolite concentration variations within FAST-Sugars and FED-Sugars groups; B) summary of the metabolites identified in liver, with significant differences in relative concentration ($p < 0.05$) between FAST-Sugars and FED-Sugars groups. Detailed information about all metabolites is presented in the Supplementary Table 4.

In agreement, pacu fed with higher dietary starch revealed higher hepaticm GK activity (Pereira *et al.*, 2020). Fructose on the other hand gets phosphorylated by ketohexokinase (KHK; or fructokinase) into fructose 1-phosphate. The lack of regulation by neither insulin nor product inhibition leads to a rapid accumulation of triose phosphates (Andres-Hernando *et al.*, 2019). Data on KHK is scarce in fish but has been found to be significantly upregulated in the liver of fish subjected to over-crowding stress (Raposo de Magalhães *et al.*, 2021). Considering that fructose is a common nutrient in natural diets of freshwater fish from tropical regions, fructose tolerance tests have been carried out trying to contribute to understanding of the fructose metabolism in fish. In our study, tambaqui from IP-FRU showed a rapid glycaemic peak at 3 h (8.7 ± 1.1 mM), less intense than IP-GLU (13.7 ± 2.0 mM), returning to normal glycaemic levels at 6 h. There are no studies about glucose transporters proteins (GLUT) for the species and it could be an interesting field for future research. In a study that evaluated tolerance to different carbohydrate sources for pacu (*Piaractus mesopotamicus*) through oral administration, it was observed that fructose caused a glycaemic peak in 2 h (5.71 mM), faster (2 h earlier) but less pronounced than glucose (8.30 mM) or starch (7.70 mM). The oral fructose administration resulted in returning to baseline up to 4 h, while fish which received glucose and starch returned after 12 h and 6 h, respectively (Takahashi *et al.*, 2018). It is worth noting that pacu, despite living in a different hydrographic basin, has eating habits and phylogeny identical to tambaqui (Actinopterygii:

Characiformes: Serrasalminidae) (Géry, 1977).

Table 1 Summary of the results of the pairwise multivariate analysis in muscle and liver samples for fish subjected to the same sugar injection after the two feeding regimes, and fish subjected to different feeding regimes when the sugars were considered together: p-value of the permutation testing of the PLS models, and list of metabolites assigned as VIP (score ≥ 1).

	Pairwise comparisons	PLS permutation testing	Metabolites (VIP score ≥ 1)	Figure
Muscle	FAST-Sugars vs FED-Sugars	p = 0.002	Histidine, betaine, threonine, tyrosine, tryptophan, phenylalanine, creatine/ creatine-P	Fig. 4B
Liver	FAST-FRU vs FED-FRU	p = 0.017	Threonine, choline, methionine, isoleucine, nicotinurate, leucine, valine, taurine, choline-P	Fig. 2B
	FAST-GLU vs FED-GLU	p = 0.029	Isoleucine, leucine, taurine, valine, threonine, glycine, alanine, dimethylglycine, choline, nicotinurate, choline-P, 3-hydroxybutyrate, inosine	Fig. 2D
	FAST-Sugars vs FED-Sugars	p < 0.001	Threonine, nicotinurate, choline, isoleucine, leucine, taurine, valine, glycine, methionine, proline	Fig. 6B

Another important application of studies with fructose metabolism in fish is the possibility of using ingredients of plant origin, which can contain significant amounts of fructose and sucrose, in fish diets. In the channel catfish (*Ictalurus punctatus*) the use of fructose (33% in diet) resulted in a lower growth rate than glucose, indicating less efficiency utilization by the species (Wilson and Poe, 1987). Comparing diets with different sources of carbohydrates for white sturgeon (*Acipenser transmontanus*), a higher concentration of plasma glucose was observed in diets with glucose compared to fructose (Hung *et al.*, 1989). Furthermore, hepatic glycogen and hepatosomatic index were higher in Chum Salmon fry (*Oncorhynchus keta*) fed with glucose when compared to those fed diets containing fructose (Akiyama *et al.*, 1982) and were observed an increased activity of lipogenic enzymes and serum lipid levels with administration of glucose but not dietary fructose for carp (*Cyprinus carpio*) (Shikata *et al.*, 1994).

Due to its natural environment and regional food availability, some studies with tambaqui have been carried out to make the inclusion of foods of plant origin in the diets

possible (Arde *et al.*, 2018; Silva *et al.*, 2020; Costa *et al.*, 2021).

4.3. NMR-metabolomics

4.3.1. Differences between sugars (GLU vs. FRU) under different feeding regimes

The NMR-metabolomics approach was performed on the samples collected in the final sampling point, 24 h after the glucose/fructose-injection (GLU and FRU), in plasma, liver and muscle after both feeding regime (FED and FAST). The first approach to the data following the multivariate analysis was performed considering the sugars individually, as the originally defined groups. Pairwise comparison of the two sugars within the same feeding regime revealed no group separation in any comparison, or in any tissue. Glucose and fructose injection seems to promote a similar metabolic response within the same feeding regime 24 h after the injection. In regards to plasma metabolites, and despite the differences found in the GTT and FTT at 3 and 6 h sampling points, these findings are consistent with the results obtained in glycaemia for GLU vs. FRU and FED vs. FAST at 24 h where all conditions returned to baseline levels, and no significant differences were observed. On the other hand, the pairwise comparison considering the same injected-sugar after the two feeding regimes revealed group separation between FAST-GLU vs. FED-GLU and FAST-FRU vs. FED-FRU in liver. These results seem to be indicative that tambaqui is more responsive to the feeding regime than to the injected sugar, at least in this tissue and this time point (24 h). These observations lead to the creation of the new empirical groups with the two sugars considered together.

4.3.2. Overall differences between feeding regimes (FED vs. FAST)

For plasma, the superimposition of the groups (FAST-Sugars vs. FED-Sugars, 24 h) revealed that the putative changes promoted by the fasting, as observed in a previous metabolomics study on rainbow trout subjected to 28 days of fasting (Kullgren *et al.*, 2010), seem to be balanced within the 24 h after the sugar injection. This is indicative of the ability of tambaqui to regulate circulating metabolites on plasma after fasting periods and a subsequent sugar load.

Distinct group clustering was observed in the PLS models of the pairwise comparison of FAST-Sugars and FED-Sugars groups in muscle and liver, which are, indicative of distinct final metabolite profiles. Although fish were injected with sugar (glucose or fructose) 24 h

before sampling and recovered the baseline plasmatic glucose levels within this time frame (GTT/FTT tests), this time period and the sugar intake were insufficient to ensure the re-establishment of the levels of several metabolites in muscle and liver of the FAST group. In liver, the majority of the VIP metabolites identified in the GLU and/or FRU injected groups are common to the ones identified when the sugars are analysed together, reinforcing the idea that tambaqui is more susceptible to the feeding regime than to the injected sugar. Changes on glycine, alanine, dimethylglycine, 3-hydroxybutyrate and inosine were only identified as VIP on the glucose-injected, while choline-P and methionine were only identified as VIP on the fructose-injected groups. These variations seem then to be specifically promoted by each of the injected sugars.

The fact that tambaqui seems to be more responsive to the feeding regime (FAST vs. FED) than to the type of injected sugar (GLU vs. FRU) can be explained by its dietary regime. As detailed above, this species is omnivorous and adapted to regularly consume fruits and seeds (Silva *et al.*, 2003; Aride *et al.*, 2018) that regularly provide them glucose and fructose. When experimentally fed with diets supplemented with fruit (up to 30%), tambaqui revealed optimal growth and good nutritional and homeostatic conditions (Aride *et al.*, 2018). Other studies on diet optimization also shown that tambaqui can utilize carbohydrates as non-protein energy sources more efficiently than lipids (Sandre *et al.*, 2017).

Most of the metabolites assigned as VIP and with significant variations in the univariate analysis in muscle and liver were amino acids. The majority of these amino acids are considered essential for fish (Li *et al.*, 2008) and were found in lower concentration in the FAST groups. In general this decrease in muscle could be directly associated with the depleted feeding regime. The depletion of the branched-chain amino acids (leucine, isoleucine and valine) can directly compromise the muscle growth, as they are essential protein constituents in fish. Moreover, leucine is particularly important for cell signalling, promoting protein synthesis (Li *et al.*, 2008). The lower levels of alanine in the liver could also be related with a possible increase in the utilization of amino acids as energy source in fasted fish, that can also be linked with the observed lower growth performance on the FAST groups. Similar responses were described in muscle and liver of fasted fish, although in a carnivorous species (*Oncorhynchus mykiss*) (Kullgren *et al.*, 2010). Alanine can be oxidized in liver as a direct source of energy or as substrate to glycogen/glucose synthesis via gluconeogenesis (French *et al.*, 1983; Pereira *et al.*, 1995). Finally, the estimated endogenous N-excretion rate of $\sim 750 \mu\text{mol kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ during an 8-day period of fasting that led to a $\sim 9\%$ weight loss (Wood *et al.*, 2017) is consistent with the $\sim 7\%$ loss observed in the

present study (initial BW 157.8 g; final BW of FAST tanks 146.5 g).

Glucose was identified in higher concentration in the muscle of the FAST group than in the FED groups (univariate analysis). However, no variations were observed in this metabolite in liver and plasma (multivariate analysis), nor in the plasmatic glucose on the GTT/FTT tests at 24 h, that have respectively a quicker response to metabolic variations and an intermediate role in metabolites transport. A possible explanation for this observation could be that the sugars have been promptly routed to muscle to cope with major energy needs in the fasted animals. The sugar injection and the consequent insulin increase may have activated the glucose transporters and increased the glucose transport in muscle, as described for other species such as the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), the Indian perch (*Anabas testudineus*), and the brown trout (*Salmo trutta*) (Polakof *et al.*, 2012). However, after a 10- day fasting, the 24 h period post-IP-injection seems to be insufficient to regulate and uptake the sugar load into the cells. A study on post-feeding and fasting on matrinxã (*Brycon cephalus*), an omnivorous species from Amazon basin, indicated that glucose was incorporated into muscle after feeding and remained at higher concentrations during at least 7 fasting days. In the same study, the high levels of muscular glucose were associated with lower levels of plasmatic glucose (Figueiredo- Garutti *et al.*, 2002). Our results are in agreement with these observations and could be indicative of specific adaptations on the carbohydrates metabolism, in omnivorous species subjected to inconstant sugar intake. The switch between proteogenic and proteolytic processes are described for species subjected to natural fasting periods, and are mainly regulated by calpains, the cathepsins and the ubiquitin-proteasome system. In fish, the insulin-like growth factors (IGF) can also modulate the uptake of nutrients needed for muscle growth (Vélez *et al.*, 2017).

Methionine was assigned as VIP on the pairwise comparison between FAST-FRU vs. FED-FRU and FAST-Sugars vs. FED-Sugars, in liver. A significant variation in methionine was also identified between FAST-FRU vs. FED-FRU groups by univariate analysis. These results suggest that variations on methionine concentrations are determined by the fructose injection but unaffected by glucose. Methionine is an essential amino acid and an important intermediate in several metabolic pathways. In fish fed diets with high amounts of vegetable ingredients, methionine can be an important limiting metabolite (Souza *et al.*, 2019; Porto *et al.*, 2020). Among others functions, methionine is a methyl donor and can affect the fatty acid oxidation, creatine synthesis, phospholipid status, modulate the expression of genes of protein synthesis/degradation, and improve protein deposition (Nguyen *et al.*, 2019). The

increased values of methionine in the liver of the FAST-FRU group could be indicative of some signalling to up-regulate protein synthesis and deposition. Moreover, the higher levels of methionine in liver can also be linked to the higher levels of choline observed in the same tissue since methionine can be recycled via choline, betaine and dimethylglycine (Halver, 2002). Choline can also prevent lipid accumulation and promote protein synthesis (Halver, 2002) although it seems insufficient to keep the growth performance equivalent to the observed in FED fish.

As described above for mammals and in accordance to the GTT/ FTT tests and the metabolomics results, fructose seems to be also metabolized quicker than glucose in tambaqui. Moreover, the similarity between the VIP and the metabolites with significant differences (multi and univariate analysis respectively) in the pairwise comparisons FAST-GLU vs. FED-GLU and FAST- Sugars vs. FED-Sugars also reinforce the idea that glucose promote more metabolic changes in the liver of tambaqui than fructose.

5. Conclusion

For the frugivorous tambaqui hyperglycaemia was cleared significantly faster in the fructose-injected fish. NMR-metabolomics assisted in evaluating variations in the metabolite profile of fish, simultaneously in different tissues. However, 24 h after the IP-injection, no significant differences were found in plasma, liver nor muscle between glucose and fructose in the different dietary regimes which suggests an effective metabolization of their carbons regardless of its dynamics. Food deprivation however, represents a metabolic challenge as revealed by significant differences in the metabolite profile of muscle and liver between fed and fasted fish, regardless of the injected sugar.

Ethics

This study was performed in accordance with the National Council for the Control of Animal Experimentation (CONCEA), and it was approved by the Ethical Committee for Animal Experimentation of the São Paulo State University (UNESP), School of Agricultural and Veterinarian Sciences (FCAV) No 16429/2019.

Funding

This work was supported by the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, Brazil (FAPESP Proc. 2020/08955-3), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brazil (Capes-PrInt, - Funding code: 001 Process: 88887.194785/2018-00), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Brazil (CNPq, Proc. 312051/2018-2), Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT; Portugal) through national funds with co-funding from ERDF/FEDER (PT2020 Partnership Agreement, COMPETE 2020): individual grant to M.P. through Centro2020 (ReNATURE; Centro-01- 0145-FEDER-000007); structural funds to Centre for Functional Ecology (UID/BIA/ 04004/2019), UC-NMR facilities (REEQ/481/QUI/2006, RECI/QEQ-QFI/0168/2012, Centro-07-CT62-FEDER-002012) and Rede Nacional de Ressonância Magnética Nuclear.

Data availability

The raw spectra obtained during the current study have been uploaded to the Zenodo repository (<https://zenodo.org>) with the reference doi: 1010.5281/zenodo.5140118 (<https://doi.org/10.5281/zenodo.5140118>). The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon request.

Declaration of competing interest

The authors declare that there are no conflicts of interest associated with this publication. The funding institutions were appropriately mentioned in the acknowledgments. The authors confirm that the manuscript has been read and approved by all named authors. The authors understand that the Corresponding Author is the sole contact for the Editorial process.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.cbd.2021.100928>.

References

Akiyama, T., Murai, T., Nose, T., 1982. Effects of various dietary carbohydrates on growth, feed efficiency, and body composition of chum salmon fry. *Bull. Natl. Res. Inst. Aquacult.* 3, 75–80.

Anderson, J.T., Nuttle, T., Rojas, J.S.S., Pendergast, T.H., Flecker, A.S., 2011. Extremely long-distance seed dispersal by an overfished Amazonian frugivore. *Proc. Biol. Sci.* B 278, 3329–3335. <https://doi.org/10.1098/rspb.2011.0155>.

Andres-Hernando, A., Johnson, R.J., Lanaspá, M.A., 2019. Endogenous fructose production: what do we know and how relevant is it? *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 22, 289–294. <https://doi.org/10.1097/mco.0000000000000573>.

Aride, P.H.R., Oliveira, A.M., Batista, R.B., Ferreira, M.S., Pantoja-Lima, J., Ladislau, D. S., Castro, P.D.S., Oliveira, A.T., 2018. Changes on physiological parameters of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed with diets supplemented with amazonian fruit camu camu (*Myrciaria dubia*). *Braz. J. Biol.* 78, 360–367. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.169442>.

Barcellos, L.J.G., Marqueze, A., Trapp, M., Quevedo, R.M., Ferreira, D., 2010. The effects of fasting on cortisol, blood glucose and liver and muscle glycogen in adult jundiá *Rhamdia quelen*. *Aquac.* 300, 231–236. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.01.013>.

Barroso, D.d.C., Almeida-Val, V.M.F., Val, A.L., 2020. Temperature and food availability alters the physiology and aerobic capacity of tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 245, 110704. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2020.110704>.

Booth, M.A., Anderson, A.J., Allan, G.L., 2006. Investigation of the nutritional requirements of Australian snapper *Pagrus auratus* (Bloch & Schneider 1801): digestibility of gelatinized wheat starch and clearance of an intra-peritoneal injection of d-glucose. *Aquac. Res.* 37, 975–985. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2006.01516.x>.

Booth, M.A., Moses, M.D., Allan, G.L., 2013. Utilisation of carbohydrate by yellowtail kingfish *Seriola lalandi*. *Aquaculture* 376–379, 151–161. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.11.024>.

Castillo, J., Crespo, D., Capilla, E., Díaz, M., Chauvigné, F., Cerda, J., Planas, J.V., 2009. Evolutionary structural and functional conservation of an ortholog of the GLUT2 glucose transporter gene (SLC2A2) in zebrafish. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 297, R1570–R1581. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00430.2009>.

Casu, F., Watson, A.M., Yost, J., Leffler, J.W., Gaylord, T.G., Barrows, F.T., Sandifer, P.A., Denson, M.R., Bearden, D.W., 2017. Metabolomics analysis of effects of commercial soy-based protein products in red drum (*Sciaenops ocellatus*). *J. Proteome Res.* 16, 2481–2494. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.7b00074>.

Chellappa, S., Chellappa, N.T., Barbosa, W.B., Huntingford, F.A., Beveridge, M.C.M., 1995. Growth and production of the Amazonian tambaqui in fixed cages under different feeding regimes. *Aquac. Int.* 3, 11–21. <https://doi.org/10.1007/BF00240917>.

Conde-Sieira, M., Soengas, J.L., Valente, L.M.P., 2015. Potential capacity of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) to use carbohydrates: metabolic responses to hypo- and

hyper-glycaemia. *Aquaculture* 438, 59–67. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.12.042>.

Correa, S.B., Costa-Pereira, R., Fleming, T., Goulding, M., Anderson, J.T., 2015. Neotropical fish–fruit interactions: eco-evolutionary dynamics and conservation. *Biol. Rev.* 90, 1263–1278. <https://doi.org/10.1111/brv.12153>.

Costa, R.L., Guedes, G.G., Costenaro-Ferreira, C., da Costa, D.L., Hurtado, F.B., 2021. Flour from the fruit pulp of *Mauritia flexuosa* in diets for *Colossoma macropomum*. *Rev. Agronegócio Meio Amb.* 14, 441–454. <https://doi.org/10.17765/2176-9168.2021v14n2e7879>.

Dai, W., Panserat, S., Kaushik, S., Terrier, F., Plagnes-Juan, E., Seilliez, I., Skiba-Cassy, S., 2016. Hepatic fatty acid biosynthesis is more responsive to protein than carbohydrate in rainbow trout during acute stimulations. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 310, R74–R86. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00281.2015>.

Deng, D.-F., Refstie, S., Hung, S.S.O., 2001. Glycemic and glycosuric responses in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) after oral administration of simple and complex carbohydrates. *Aquaculture* 199, 107–117. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00515-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00515-4).

Eames, S.C., Philipson, L.H., Prince, V.E., Kinkel, M.D., 2010. Blood sugar measurement in zebrafish reveals dynamics of glucose homeostasis. *Zebrafish* 7, 205–213. <https://doi.org/10.1089/zeb.2009.0640>.

Enes, P., Peres, H., Sanchez-Gurmaches, J., Navarro, I., Gutiérrez, J., Oliva-Teles, A., 2011. Insulin and IGF-I response to a glucose load in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture* 315, 321–326. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.02.042>.

Enes, P., Peres, H., Pousão-Ferreira, P., Sanchez-Gurmaches, J., Navarro, I., Gutiérrez, J., Oliva-Teles, A., 2012. Glycemic and insulin responses in white seabream *Diplodus sargus*, after intraperitoneal administration of glucose. *Fish Physiol. Biochem.* 38, 645–652. <https://doi.org/10.1007/s10695-011-9546-4>.

FAO, 2020. The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>.

Favero, G., Gimbo, R.Y., Montoya, L.N.F., Carneiro, D.J., Urbinati, E.C., 2020. A fasting period during grow-out make juvenile pacu (*Piaractus mesopotamicus*) leaner but does not impair growth. *Aquaculture* 524, 735242. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735242>.

Figueiredo-Garutti, M.L., Navarro, I., Capilla, E., Souza, R.H.S., Moraes, G., Gutiérrez, J., Vicentini-Paulino, M.L.M., 2002. Metabolic changes in *Brycon cephalus* (Teleostei, Characidae) during post-feeding and fasting. *Comp Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 132, 467–476. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(02\)00094-6](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(02)00094-6).

French, C.J., Hochachka, P.W., Mommsen, T.P., 1983. Metabolic organization of liver during spawning migration of sockeye salmon. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 245,

R827–R830.<https://doi.org/10.1152/ajpregu.1983.245.6.R827>.

G'ery, J., 1977. *Characoids of the World*. T.F.H. Publications, Inc. Ltd., Neptune City (N. J.), 672 pp., ISBN 0-87666-483-3.

Halver, J.E., 2002. The vitamins. In: *Fish Nutrition*, Third edition. Academic Press, Cambridge, MA, USA, ISBN 9780123196521.

Hannou, S.A., Haslam, D.E., McKeown, N.M., Herman, M.A., 2018. Fructose metabolism and metabolic disease. *J. Clin. Investig.* 128, 545–555. <https://doi.org/10.1172/JCI96702>.

Hardy, R.W., 2010. Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquac. Res.* 41, 770–776. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02349.x>.

Hidalgo, M.C., Urea, E., Sanz, A., 1999. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities, 170, 267–283. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00413-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00413-X).

Hung, S.S.O., Fynn-Aikins, F.K., Lutes, P.B., Xu, R., 1989. Ability of juvenile whitesturgeon (*Acipenser transmontanus*) to utilize different carbohydrate sources. *J. Nutr.* 119, 727–733. <https://doi.org/10.1093/jn/119.5.727>.

Jarak, I., Tavares, L., Palma, M., Rito, J., Carvalho, R.A., Viegas, I., 2018. Response to dietary carbohydrates in European seabass (*Dicentrarchus labrax*) muscle tissue as revealed by NMR-based metabolomics. *Metabolomics* 14, 95. <https://doi.org/10.1007/s11306-018-1390-4>.

Kamalam, B.S., Medale, F., Aquaculture, P.-S., 2017. Utilisation of dietary carbohydrates in farmed fishes: New insights on influencing factors, biological limitations and future strategies. *Aquaculture*. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.02.007>.

Krasnov, A., Teerijoki, H., Mols " a, " H., 2001. Rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) hepatic glucose transporter1 The sequence reported in this paper has been deposited in the GenBank database under accession No. AF321816.1, 1520, 174–178. [https://doi.org/10.1016/S0167-4781\(01\)00258-5](https://doi.org/10.1016/S0167-4781(01)00258-5).

Kullgren, A., Samuelsson, L.M., Larsson, D.G.J., Bjornsson, " B.T., Bergman, E.J., 2010. A metabolomics approach to elucidate effects of food deprivation in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 299, R1440–R1448. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00281.2010>.

Legate, N.J., Bonen, A., Moon, T.W., 2001. Glucose tolerance and peripheral glucose utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), American eel (*Anguilla rostrata*), and black bullhead catfish (*Ameiurus melas*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 122, 48–59. <https://doi.org/10.1006/gcen.2001.7620>.

Li, P., Mai, K., Trushenski, J., Wu, G., 2008. New developments in fish amino acid nutrition: towards functional and environmentally oriented aquafeeds. *Amino Acids* 37, 43–53. <https://doi.org/10.1007/s00726-008-0171-1>.

Matyash, V., Liebisch, G., Kurzchalia, T.V., Shevchenko, A., Schwudke, D., 2008. Lipid extraction by methyl-tert-butyl ether for high-throughput lipidomics. *J. Lipid Res.* 49, 1137–1146. <https://doi.org/10.1194/jlr.D700041-JLR200>.

Mercier, P., Lewis, M.J., Chang, D., Baker, D., Wishart, D.S., 2011. Towards automatic metabolomic profiling of high resolution one-dimensional proton NMR spectra. *J. Biomol. NMR* 49, 307–323. <https://doi.org/10.1007/s10858-011-9480-x>.

Moon, T.W., 2001. Glucose intolerance in teleost fish: fact or fiction? *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* 129, 243–249. [https://doi.org/10.1016/S1096-4959\(01\)00316-5](https://doi.org/10.1016/S1096-4959(01)00316-5).

Nguyen, M.V., Espe, M., Conceição, L.E.C., Le, H.M., Yúfera, M., Engrola, S.A.D., Jordal, A.-E.O., Rønnestad, I., 2019. The role of dietary methionine concentrations on growth, metabolism and N-retention in cobia (*Rachycentron canadum*) at elevated water temperatures. *Aquac. Nutr.* 25, 495–507. <https://doi.org/10.1111/anu.12875>.

Nwanna, L.C., Oishi, C.A., Pereira-Filho, M., 2008. Use of phytase to improve the digestibility of alternative feed ingredients by Amazon tambaqui, *Colossoma macropomum*. *ScienceAsia* 34, 353–360. <https://doi.org/10.2306/scienceasia1513-1874.2008.34.353>.

Pahlow, M., van Oel, P.R., Mekonnen, M.M., Hoekstra, A.Y., 2015. Increasing pressure on freshwater resources due to terrestrial feed ingredients for aquaculture production. *Sci. Total Environ.* 536, 847–857. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.07.124>.

Palma, M., Tavares, L.C., Rito, J., Henriques, L.F., Silva, J.G., Ozorio, R., Pardal, M.A., Magnoni, L.J., Viegas, I., 2019. Metabolic effects of dietary glycerol supplementation in muscle and liver of European seabass and rainbow trout by ¹H NMR Metabolomics. *Metabolites* 9, 202. <https://doi.org/10.3390/metabo9100202>.

Palma, M., Trenkner, L.H., Rito, J., Tavares, L.C., Silva, E., Glencross, B.D., Jones, J.G., Wade, N.M., Viegas, I., 2020. Limitations to starch utilization in Barramundi (*Lates calcarifer*) as revealed by NMR-based metabolomics. *Front. Physiol.* 11 <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00205>.

Palma, M., Bledsoe, J.W., Tavares, L.C., Romano, N., Small, B.C., Viegas, I., Overturf, K., 2021. Digesta and plasma metabolomics of rainbow trout strains with varied tolerance of plant-based diets highlights potential for non-lethal assessments of enteritis development. *Metabolites* 11, 590. <https://doi.org/10.3390/metabo11090590>.

Panserat, S., Rideau, N., Polakof, S., 2014. Nutritional regulation of glucokinase: a cross-species story. *Nutr. Res. Rev.* 27, 21–47. <https://doi.org/10.1017/S0954422414000018>.

Pereira, C., Vijayan, M.M., Moon, T.W., 1995. In vitro hepatocyte metabolism of alanine and glucose and the response to insulin in fed and fasted rainbow trout. *J. Exp. Zool.* 271, 425–431. <https://doi.org/10.1002/jez.1402710603>.

Pereira, R.T., Nebo, C., de Paula Naves, L., Fortes-Silva, R., Cardoso, Regina, de Oliveira, I., Paulino, R.R., Drummond, C.D., Rosa, P.V., 2020. Distribution of goblet and endocrine cells in the intestine: A comparative study in Amazonian freshwater Tambaqui and hybrid catfish. *J. Morphol.* 281, 55–67. <https://doi.org/10.1002/jmor.21079>.

- Polakof, S., Skiba-Cassy, S., Panserat, S., 2009. Glucose homeostasis is impaired by a paradoxical interaction between metformin and insulin in carnivorous rainbow trout. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 297, R1769–R1776. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00369.2009>.
- Polakof, S., Mommsen, T.P., Soengas, J., 2011. Glucosensing and glucose homeostasis: from fish to mammals. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* 160, 123–149. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2011.07.006>.
- Polakof, S., Panserat, S., Soengas, J., Moon, T., 2012. Glucose metabolism in fish: a review. *J. Comp. Physiol. B Biochem. Syst. Environ. Physiol.* 1–31. <https://doi.org/10.1007/s00360-012-0658-7>.
- Porto, N.G., Ribeiro, F.B., Siqueira, J.C.d., Bomfim, M.A.D., Marchão, R.S., Costa, D.d.C.d., 2020. Methionine plus cystine requirements for the maintenance and efficiency of utilization with tambaqui of different body weights, 44. <https://doi.org/10.1590/1413-7054202044014920>.
- Prathomya, P., Prisingkorn, W., Jakovlić, I., Deng, F.-Y., Zhao, Y.-H., Wang, W.-M., 2017. 1H NMR-based metabolomics approach reveals metabolic alterations in response to dietary imbalances in *Megalobrama amblycephala*. *Metabolomics* 13, 17. <https://doi.org/10.1007/s11306-016-1158-7>.
- Raposo de Magalhães, C., Schrama, D., Nakharuthai, C., Boonanuntanasarn, S., Revets, D., Planchon, S., Kuehn, A., Cerqueira, M., Carrilho, R., Farinha, A.P., Rodrigues, P.M., 2021. Metabolic plasticity of gilthead seabream under different stressors: analysis of the stress responsive hepatic proteome and gene expression. *Front. Mar. Sci.* 8 <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.676189>.
- Ravanbakhsh, S., Liu, P., Bjordahl, T.C., Mandal, R., Grant, J.R., Wilson, M., Eisner, R., Sinel'nikov, I., Hu, X., Luchinat, C., Greiner, R., Wishart, D.S., 2015. Accurate, fully-automated NMR spectral profiling for metabolomics. *PLoS ONE* 10, e0124219.
- Roques, S., Deborde, C., Richard, N., Marchand, Y., Larroquet, L., Prigent, S., Skiba-Cassy, S., Moing, A., Fauconneau, B., 2020a. Proton-NMR metabolomics of rainbow trout fed a plant-based diet supplemented with graded levels of a protein-rich yeast fraction reveal several metabolic processes involved in growth. *J. Nutr.* 150, 2268–2277. <https://doi.org/10.1093/jn/nxaa206>.
- Roques, S., Deborde, C., Richard, N., Skiba-Cassy, S., Moing, A., Fauconneau, B., 2020b. Metabolomics and fish nutrition: a review in the context of sustainable feed development. *Rev. Aquac.* 12, 261–282. <https://doi.org/10.1111/raq.12316>.
- Sandre, L.C.G., Buzollo, H., Nascimento, T.M.T., Neira, L.M., Jomori, R.K., Carneiro, D.J., 2017. Productive performance and digestibility in the initial growth phase of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed diets with different carbohydrate and lipid levels. *Aquac. Rep.* 6, 28–34. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2017.02.003>.
- Shikata, T., Iwanaga, S., Shimeno, S., 1994. Effects of dietary glucose, fructose, and galactose on hepatopancreatic enzyme activities and body composition in carp. *Fish. Sci.*

60, 613–617. <https://doi.org/10.2331/fishsci.60.613>.

Silva, J.A.M.d., Pereira Filho, M., Oliveira-Pereira, M.I.d., 2003. Fruits and seeds consumed by tambaqui (*Colossoma macropomum*, CUVIER, 1818) incorporated in the diets: gastrointestinal tract digestibility and transit velocity. *R. Bras. Zootec.* 32, 1815–1824. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982003000800003>.

Silva, A.F., Copatti, C.E., de Oliveira, E.P., Bonf´a, H.C., Melo, F.V.S.T., Camargo, A.C.d.S., Melo, J.F.B., 2020. Effects of whole banana meal inclusion as replacement for corn meal on digestibility, growth performance, haematological and biochemical variables in practical diets for tambaqui juveniles (*Colossoma macropomum*). *Aquac. Rep.* 17, 100307. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100307>.

Souza, V.L., Urbinati, E.C., Martins, M.I.E.G., Silva, P.C., 2003. Evaluation of the growth and feeding costs of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) submitted to alternate cycles of feeding restriction and refeeding. *R. Bras. Zootec.* 32, 19–28. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982003000100003>.

Souza, F.O., Bomfim, M.A.D., Ribeiro, F.B., Lanna, E.A.T., Sousa, T.J.R.d., Costa, D.d.C. d., 2019. Methionine plus cystine to lysine ratio in diets for tambaqui juveniles. *Rev. Caatinga* 32, 243–250. <https://doi.org/10.1590/1983-21252019v32n124rc>.

Su, J., Gong, Y., Mei, L., Xi, L., Chi, S., Yang, Y., Jin, J., Liu, H., Zhu, X., Xie, S., Han, D., 2019. The characteristics of glucose homeostasis in grass carp and Chinese longsnout catfish after oral starch administration: a comparative study between herbivorous and carnivorous species of fish. *Brit. J. Nutr.* 123, 627–641. <https://doi.org/10.1017/S0007114519003234>.

Sumner, L.W., Amberg, A., Barrett, D., Beale, M.H., Beger, R., Daykin, C.A., Fan, T.W.M., Fiehn, O., Goodacre, R., Griffin, J.L., Hankemeier, T., Hardy, N., Harnly, J., Higashi, R., Kopka, J., Lane, A.N., Lindon, J.C., Marriott, P., Nicholls, A.W., Reilly, M. D., Thaden, J.J., Viant, M.R., 2007. Proposed minimum reporting standards for chemical analysis Chemical Analysis Working Group (CAWG) Metabolomics Standards Initiative (MSI). *Metabolomics* 3, 211–221. <https://doi.org/10.1007/s11306-007-0082-2>.

Sun, S.Z., Empie, M.W., 2012. Fructose metabolism in humans – what isotopic tracer studies tell us. *Nutr. Metab.* 9, 89. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-9-89>.

Tacon, A.G.J., Metian, M., 2015. Feed matters: satisfying the feed demand of aquaculture. *Rev. Fish. Sci. Aquac.* 23, 1–10. <https://doi.org/10.1080/23308249.2014.987209>.

Takahashi, L.S., Biller, J.D., Criscuolo-Urbinati, E., Urbinati, E.C., 2011. Feeding strategy with alternate fasting and refeeding: effects on farmed pacu production. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 95, 259–266. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2010.01050.x>.

Takahashi, L.S., Ha, N., Pereira, M.M., Biller-Takahashi, J.D., Urbinati, E.C., 2018. Carbohydrate tolerance in the fruit-eating fish *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). *Aquac. Res.* 49, 1182–1188. <https://doi.org/10.1111/are.13571>.

Triba, M.N., LeMoyec, L., Amathieu, R., Goossens, C., Bouchemal, N., Nahon, P., Rutledge, D.N., Savarin, P., 2015. PLS/OPLS models in metabolomics: the impact of permutation of

dataset rows on the K-fold cross-validation quality parameters. *Mol. BioSyst.* 11, 13–19. <https://doi.org/10.1039/c4mb00414k>. Epub2014 Nov 10.

Urbinati, E.C., Sarmiento, S.J., Takahashi, L.S., 2014. Short-term cycles of feeddeprivation and refeeding promote full compensatory growth in the Amazon fish matrinxã (*Brycon amazonicus*). *Aquaculture* 433, 430–433. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.06.030>.

V´elez, E.J., Lutfi, E., Azizi, S., Perello, ´ M., Salmeron, ´ C., Riera-Codina, M., Ibarz, A., Fern´andez-Borras, ´ J., Blasco, J., Capilla, E., Navarro, I., Guti´errez, J., 2017. Understanding fish muscle growth regulation to optimize aquaculture production. *Aquaculture* 467, 28–40. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.07.004>.

Viegas, I., Rito, J., Gonzalez, ´ J.D., Jarak, I., Carvalho, R.A., Meton, ´ I., Pardal, M.A., Baanante, I.V., Jones, J.G., 2013. Effects of food-deprivation and refeeding on the regulation and sources of blood glucose appearance in European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.), 166, 399–405. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.07.013>.

Viegas, I., Jarak, I., Rito, J., Carvalho, R.A., Meton, ´ I., Pardal, M.A., Baanante, I.V., Jones, J.G., 2016. Effects of dietary carbohydrate on hepatic de novo lipogenesis in European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.). *J. Lipid Res.* 57, 1264–1272. <https://doi.org/10.1194/jlr.M067850>.

Wilson, R.P., Poe, W.E., 1987. Apparent inability of channel catfish to utilize dietary mono- and disaccharides as energy sources. *J. Nutr.* 117, 280–285. <https://doi.org/10.1093/jn/117.2.280>.

Wood, C.M., de Souza Netto, J.G., Wilson, J.M., Duarte, R.M., Val, A.L., 2017. Nitrogen metabolism in tambaqui (*Colossoma macropomum*), a neotropical model teleost: hypoxia, temperature, exercise, feeding, fasting, and high environmental ammonia. *J. Comp. Physiol. B Biochem. Syst. Environ. Physiol.* 187, 135–151. <https://doi.org/10.1007/s00360-016-1027-8>.

Woynarovich, ´ A., Van Anrooy, R., 2019. Field guide to the culture of tambaqui (*Colossoma macropomum*, Cuvier, 1816). *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper No. 624*, 132 pp. Available at: <http://www.fao.org/3/ca2955en/CA2955EN.pdf>.

Xia, J., Wishart, D.S., 2016. Using MetaboAnalyst 3.0 for comprehensive metabolomics data analysis. *Curr. Protoc. Bioinform.* 55 (14) <https://doi.org/10.1002/cpbi.11>, 10.1–14.10.91.

Capítulo 03

Coeficiente de digestibilidade aparente de dietas convencionais para o tambaqui (*Colossoma macropomum* Curvier, 1818)²

Jeisson Emerson Casimiro Ferrari^a; Douglas de Souza Graciano^b, Amanda Araújo Gaspar^b; Leonardo Susumu Takahashi^a

RESUMO

Por estar numa região equatorial, o Brasil é conhecido mundialmente por sua grande diversidade de espécies dulcícolas e o tambaqui (*Colossoma macropomum*) é a espécie nativa mais cultivada na atualidade. O objetivo deste estudo foi avaliar a digestibilidade aparente de ingredientes energéticos ricos em carboidratos e seus efeitos no desempenho produtivo, metabólitos no sangue, relações somáticas e composição de carcaça do tambaqui. Foram utilizados 192 peixes ($131,63 \pm 1,94$ g) distribuídos aleatoriamente em 24 tanques de alimentação. Foram formuladas seis dietas experimentais isoenergéticas (4.000 kcal EB/kg) com os seguintes ingredientes energéticos: milho, sorgo, amido de milho, farelo de trigo, farelo de arroz e quirela de arroz. A determinação da digestibilidade aparente dos ingredientes foi realizada pelo método indireto de coleta de fezes utilizando 0,5% de óxido de cromo III (Cr_2O_3) e as coletas realizadas em sistema Guelph modificado. Foram analisados os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, matéria orgânica, extrato etéreo, proteína bruta, energia bruta e amido. Os valores foram submetidos a análise de variância (ANOVA one-way) seguido pelo teste de comparações múltiplas de Tukey a 5% com uso do programa estatístico SAS v.9.0. O milho foi o ingrediente que apresentou os melhores resultados de coeficiente de digestibilidade aparente para matéria seca, matéria orgânica, extrato etéreo, proteína bruta e energia bruta e a quirela de arroz é um ingrediente que pode ser usado como substituto ao milho. Nos metabólitos foram observados valores mais elevados de colesterol ($p < 0,05$) com inclusão de farelo de arroz ($3,4 \pm 0,1$ mmol/L) e de triglicérides ($p < 0,05$) com inclusão de amido ($3,1 \pm 0,1$ mmol/L). No índice hepatossomático também foi observado maior valor com inclusão de amido ($1,5 \pm 0,08$ %). Concluiu-se que o tambaqui (*Colossoma macropomum*) por ser uma espécie onívora oportunista com capacidade elevada para digerir alguns alimentos energéticos de origem vegetal, aproveita de forma eficiente os ingredientes energéticos avaliados.

Palavras-chave: Digestibilidade, carboidratos, tambaqui

ABSTRACT

Being in an equatorial region, Brazil is known worldwide for its great diversity of freshwater species and tambaqui (*Colossoma macropomum*) is the most cultivated native species today. The aim of this study was to evaluate the apparent digestibility of carbohydrate-rich energy ingredients and their effects on productive performance, blood metabolites, somatic relationships and carcass composition of tambaqui. A total of 192 fish (131.63 ± 1.94 g) were randomly distributed in 24 feeding tanks. Six isoenergetic experimental diets (4,000 kcal EB/kg) were formulated with the following energy ingredients: corn, sorghum, corn starch, wheat bran, rice bran and rice bran. The determination of the apparent digestibility of the ingredients was carried out by the indirect method of collection of feces using 0.5% of chromium III oxide (Cr_2O_3) and the collections carried out in a modified Guelph system. The apparent digestibility coefficients of dry matter, organic matter, ether extract, crude protein,

crude energy and starch were analyzed. The values were submitted to analysis of variance (one-way ANOVA) followed by Tukey's test of multiple comparisons at 5% using the statistical program SAS v.9.0. Corn was the ingredient that presented the best results of apparent digestibility coefficient for dry matter, organic matter, ether extract, crude protein and gross energy and the broken rice is an ingredient that can be used as a substitute for corn. In the metabolites, higher cholesterol values ($p < 0.05$) were observed with the inclusion of rice bran (3.4 ± 0.1 mmol/L) and triglycerides ($p < 0.05$) with the inclusion of starch (3.1 ± 0.1 mmol/L). In the hepatosomatic index, a higher value was also observed with the inclusion of starch (1.5 ± 0.08 %). It was concluded that tambaqui (*Colossoma macropomum*) as an opportunistic omnivorous species with a high capacity to digest some energy foods of plant origin, efficiently uses the energy ingredients evaluated.

Keywords: Digestibility, carbohydrates, tambaqui

1.Introdução

É compreendido que, na produção animal e em especial na aquicultura, a alimentação adequada é fator preponderante para o bom desenvolvimento da criação. Considerando ainda, que a produção aquícola brasileira, apesar de modesta quando comparada a outras produções animais, vem ascendendo de forma significativa nos últimos vinte anos e que a alimentação é a parcela mais cara da produção, sendo caracterizada como fator decisivo dos custos operacionais (em média representa 70% dos custos totais de produção), compreende-se que estudos de nutrição e de alimentação na aquicultura são imprescindíveis (ABIMORAD e CARNEIRO, 2004; BUZOLLO *et al.*, 2018a).

As proteínas são macromoléculas importantes das dietas, pois devido a sua função estrutural, podem representar até 18% da composição corporal dos animais (OISHI, NWANNA e PEREIRA-FILHO, 2010). Quando os animais ingerem proteínas dietéticas, estas serão hidrolisadas por enzimas específicas (proteolíticas) e seus produtos (os aminoácidos) são transportados para os tecidos para compor a síntese proteica (FERREIRA, JARROUGE e MARTIN, 2010), porém, em caso de desbalanço energético na alimentação, pode ocorrer degradação das estruturas musculares para produção de energia.

Apesar desta característica de utilização dos carboidratos (CHO) como fonte de energia direta aos peixes e, também, como uma forma indireta de se economizarr fontes proteicas nas dietas (redução de custos) o uso de CHO pelos peixes apresenta grande variação entre as espécies. Peixes carnívoros utilizam de forma irregular, com pouco aproveitamento, mesmo os açucares mais simples (VIEGAS *et al.*, 2013). Já peixes onívoros aproveitam com grande eficiência os CHO, como é o caso do tambaqui que, em virtude de seu hábito alimentar onívoro, demonstrou em estudos prévios, que tem boa capacidade de metabolizar tanto a glicose como a frutose (FERRARI *et al.*, 2022). Mesmo os ingredientes ricos em polissacarídeos complexos de origem vegetal, como o farelo de trigo, quirela de arroz, sorgo e milho, podem ser utilizados como ingredientes energéticos de forma eficiente, em dietas para o tambaqui (BUZOLLO *et al.*, 2018a).

Muitas pesquisas têm sido realizadas (SILVA *et al.*, 2003, 2007; GUIMARÃES *et al.*, 2014), nos últimos 20 anos, com a utilização de fontes locais de ingredientes/alimentos para o tambaqui. Porém, justamente por utilizarem fontes regionais alternativas e específicas na formulação de dietas, as informações acerca do aproveitamento de nutrientes pela espécie ainda são escassas e as formulações comerciais ainda não conseguem maximizar a produção aquícola.

O coeficiente de digestibilidade aparente (CDA) é o primeiro passo para que se consiga uma avaliação tanto da quantidade necessária de determinados nutrientes quanto da qualidade nutricional e a eficiência de utilização de ingredientes em dietas para peixes. Este coeficiente oferece indicativos dos nutrientes ou parcelas dos ingredientes ingeridos que não são excretados nas fezes, e sim utilizados pelo animal (BUZOLLO *et al.*, 2018a).

Além da digestibilidade de ingredientes também se deve considerar a capacidade dos peixes em utilizarem os nutrientes dietéticos para seu crescimento. Diversos aspectos podem influenciar nesta situação como os processos de fabricação de dietas e, principalmente, a natureza do ingrediente. Glencross, Booth e Allan (2007) explicam, por exemplo, que fatores antinutricionais podem apresentar efeito deletério significativo na utilização dos nutrientes pelos peixes e, neste contexto, ao se limitar a capacidade dos peixes em ingerir proteína e energia, a utilização dos nutrientes da dieta se manifestam com efeitos negativos no crescimento.

Apesar do grande esforço dos pesquisadores em compreender a nutrição do tambaqui, o fato de estudos estanques concentrarem-se nas exigências nutricionais, nos ingredientes (convencionais e/ou alternativos), no manejo alimentar, na dificuldade de se compreender devido à complexidade dos ecossistemas e sua respectiva flexibilidade alimentar, existem ainda muitas lacunas não respondidas no processo de produção da espécie e, portanto, muitos estudos ainda devem ser conduzidos. Dessa forma, uma vez reconhecido o potencial zootécnico da espécie e a importância da nutrição e alimentação para o sucesso de seu cultivo, o objetivo deste trabalho foi o de avaliar a digestibilidade aparente de ingredientes energéticos ricos em carboidratos e seus efeitos nos metabólitos sanguíneos e desempenho produtivo de juvenis de tambaqui.

2. Material e métodos

2.1 Instalações

O experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição e Metabolismo Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas da Unesp, campus de Dracena, localizado a uma latitude de 21°28'57"S e longitude de 51°31'58"W. Foram utilizados 192 peixes distribuídos em 24 caixas de polietileno de 300 L (aquários de alimentação – 8 peixes/caixa) dispostos num sistema de recirculação com filtragem biológica e mecânica, e aeração por meio de compressor radial. Para a determinação dos coeficientes de digestibilidade, foram utilizadas caixas de fibra de vidro de 80-L (aquários de coleta de fezes) com fundo cônico, vazão de 0,05 L/s e sistema de drenagem comum a uma única coluna de decantação,

adaptados com um registro e tubo coletor (sistema Guelph modificado descrito por ABIMORAD e CARNEIRO, 2004).

A concentração de oxigênio dissolvido ($6,80 \pm 0,29$ mg/L) e temperatura ($27,54 \pm 0,30^{\circ}\text{C}$) da água dos aquários de alimentação e de coleta de fezes foram monitorados, respectivamente, semanalmente e diariamente e mantiveram-se dentro dos parâmetros considerados ideais para a espécie (BARBOSA *et al.*, 2009; FROESE e PAULY, 2018). A iluminação no laboratório foi mantida por meio de lâmpadas fluorescentes para manter um fotoperíodo de 12L:12E.

2.2 Dietas experimentais

As seis dietas experimentais utilizadas na pesquisa foram formuladas para serem isoenergéticas (4.000 kcal EB/kg) e continham suplementação vitamínica e mineral completa (Tabela 1). Foram avaliados os seguintes ingredientes energéticos: milho (Rural Araguaia comércio de cereais logística LTDA, Goiânia – GO, Brasil), sorgo (Granol indústria, comércio e exportação SA, Osvaldo Cruz – SP, Brasil), amido de milho (Ingredion Incorporated BR, São Paulo – SP), farelo de trigo (Moinho LCA alimentos, Sertãoópolis – PR), farelo de arroz e quirela de arroz (Arrozeira Troyano beneficiadora de alimentos, Dracena – SP). A determinação da digestibilidade dos ingredientes foi realizada pelo método indireto de coleta de fezes utilizando 0,5% de óxido de cromo III (Cr_2O_3), como indicador inerte nas dietas experimentais. O experimento foi conduzido num delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 6 tratamentos, correspondendo aos alimentos avaliados, com 4 repetições cada tratamento, totalizando 24 unidades experimentais (8 peixes/unidade experimental).

As dietas experimentais, após moagem e mistura dos ingredientes, foram processadas em peletizadora e secas em estufa com circulação de ar à 40°C , durante 24 horas. Após secagem, as dietas foram colocadas em sacos plásticos etiquetados e armazenadas em refrigerador.

Os peixes foram alimentados com as dietas experimentais durante um período de 57 dias, até a saciedade aparente, em quatro refeições diárias (08:00, 14:00, 15:00 e 16:00 horas). Os valores de arraçoamento foram anotados a partir de pesagens diárias dos recipientes de armazenamento das dietas experimentais.

Tabela 01. Formulação e composição analisada das dietas experimentais.

Dietas experimentais						
Ingredientes (%)	MI	SO	AM	F.TR	F.AR	Q.AR
Farinha de peixe	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00
Farelo de soja	21,00	21,00	21,00	21,00	21,00	21,00
Conc. proteico de soja	15,90	15,50	19,40	13,40	14,50	16,70
Milho	38,50	8,50	8,50	8,50	8,50	8,50
Sorgo	-	30,00	-	-	-	-
Amido de milho	-	-	30,00	-	-	-
Farelo de trigo	-	-	-	30,0	-	-
Farelo de arroz	-	-	-	-	30,00	-
Quirela de arroz	-	-	-	-	-	30,00
Óleo de soja	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50
Pré-mistura min/vit. ¹	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
Fosfato bicálcico	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Vitamina C	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Oxido de crômio	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Caulim	4,03	4,43	0,53	6,53	5,43	3,23
Composição química analisada						
Matéria seca, %	94,22	94,68	94,69	94,81	94,56	94,78
Proteína bruta, %	30,90	34,25	32,17	30,68	33,09	32,56
Extrato etéreo, %	6,36	8,03	6,23	7,51	10,16	5,84
Matéria mineral, %	11,91	13,39	9,31	15,67	17,11	11,13
Calcio, %	1,94	2,19	2,11	2,03	2,18	2,21
Fósforo total, %	0,92	1,18	0,98	1,21	1,55	1,03
Amido (%)	47,54	44,53	64,93	19,74	28,19	53,39
Energia bruta, kcal/kg	4.043	4.125	4.174	4.078	4.138	4.091
NIA ²	4-02-935	4-04-383	4-02-889	4-05-190	4-03-930	4-03-932

¹Composição do Suplemento vitamínico e mineral (Premix®) para peixes onívoros: Umidade = 5%; Mat. Seca = 95%; Mn = 2000mg; Fe = 7500mg; Zn = 7500mg; Cu = 1000mg; Co = 30mg; Se = 70mg; I = 250mg; K = 2000mg; Mg = 600mg; vitA = 2000000 UI; vitD₃ = 600000; vitK₃ = 700; biotina = 50mg; ác. Fólico = 250mg; colina = 80000mg; vitB₁ = 2000mg; vitB₁₂ = 10000mcg; vitB₂ = 4000mg; vitB₆ = 5000mg; vitE = 15000UI; ác. pant. = 5000mg; ác. nicot. = 10000mg; vitC = 80000mg; B.H.T. = 20000mg; inositol = 4000mg. ²Número internacional do Alimento referenciado pelo NRC (2011).

2.3 Manejo dos peixes e das fezes coletadas

Durante o período de aclimação (dez dias) os peixes (peso inicial = 131,63 ± 1,94 g) foram alimentados com dieta comercial (peixes onívoros; NutriPiscis Presence Animal Nutrition, Santa Rosa, Brasil; 280 g/kg de PB). Após este período de aclimação, os peixes foram submetidos a um jejum de 24 horas e biometria inicial.

Para coleta de fezes e determinação dos coeficientes de digestibilidade, após cinco

dias de alimentação com as dietas experimentais, uma hora após a última alimentação, os peixes foram transferidos para os aquários de digestibilidade, onde permaneceram por 12 horas. A coleta das fezes decantadas nos tubos coletores foi realizada na manhã seguinte. Durante todo o período de coleta os tubos foram mantidos imersos em gelo para evitar perdas de nutrientes para a água.

As fezes foram transferidas para placas de Petri e desidratadas em estufa com ventilação forçada à 45°C por 24 horas. Antes das análises, as amostras de fezes foram separadas de escamas, moídas e homogeneizadas com almofariz e pistilo, e novamente acondicionadas em tubos para posteriores análises bromatológicas.

2.4 Análises bromatológicas e coeficientes de digestibilidade

As análises bromatológicas das carcaças, dietas e das amostras de fezes foram realizadas segundo as metodologias descritas pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2000). Com as amostras de dietas e fezes foram realizadas as análises de matéria seca (MS) (método de secagem em estufa a 105°C durante 24 h), matéria orgânica (MO) (subtração do valor de matéria mineral da matéria seca), extrato etéreo (EE) (extração com éter de petróleo em bloco de aquecimento do tipo Soxhlet, seguida da remoção por evaporação ou destilação do solvente empregado) e proteína bruta (PB) (método de digestão com ácido sulfúrico, destilação com hidróxido de sódio em destilador do tipo Kjeldahl e titulação com ácido clorídrico). As concentrações de amido foram determinadas pelo método da amilase e glicose-oxidase (BEUTLER, 1984).

A preparação das amostras para leitura de cromo, cálcio e fosforo foi realizada seguindo a metodologia de digestão nítrico-perclórica de Furukawa e Tsukahara (1976) e as concentrações de óxido de cromo e cálcio foram determinadas por espectrofotometria de absorção atômica. As concentrações de fósforo foram determinadas por espectrofotômetro à 660 nm (Thermo Scientific modelo Genesys 10S). A energia bruta das amostras de dietas e fezes foi determinada por meio de bomba calorimétrica com oxigênio (IKA/C2000 Basic, IKA Works, Inc. North Chase Pkwy SE, Wilmington, USA) em laboratório terceirizado.

Foram determinados os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, energia bruta, extrato etéreo e amido, segundo metodologia descrita por Nose (1960) conforme a fórmula:

$$\text{CDA (\%)} = 100 \left[- \frac{100\% \text{Cr}_2\text{O}_3\text{d} \times \% \text{Nf}}{\% \text{Cr}_2\text{O}_3\text{f} \times \% \text{Nd}} \right]$$

Em que: CDA (%) = Coeficiente de digestibilidade aparente (%);

%Cr₂O_{3d} = porcentagem de óxido de cromo na dieta;

%Cr₂O_{3f} = porcentagem de óxido de cromo nas fezes;

%Nd = porcentagem do nutriente ou energia na dieta;

%Nf = porcentagem do nutriente ou energia nas fezes.

2.5 Biometrias, coleta de material biológico e variáveis

No início e ao final dos 57 dias de alimentação, os peixes após serem insensibilizados (eugenol 0,1 g/L), foram individualmente pesados e medidos. Estes valores foram utilizados para análise das variáveis de desempenho produtivo: ganho de peso (GP = peso final – peso inicial), taxa de eficiência proteica (TEP = ganho de peso/ [consumo x PBdieta] X 100), consumo (CON = consumo de ração/peixe/dia) e conversão alimentar (CA = consumo/ganho de peso) (ZUANON *et al.*, 2006).

Na biometria final foram retiradas alíquotas de sangue por punção dos vasos caudais dos peixes com auxílio de seringas e agulhas descartáveis. A separação das frações do sangue foi realizada por centrifugação (3.000 rpm; 10^oC/10 min) logo após a coleta, para separação do plasma com uso de anticoagulante EDTA com fluoreto (Bioclin – Quibasa, Belo Horizonte-MG, Brasil) e, após três horas em temperatura ambiente, para separação do soro.

Com as alíquotas de soro e plasma foram determinadas as concentrações de colesterol sérico (mmol/L), triglicerídeos séricos (mmol/L), proteínas totais séricas (g/dL) e glicose plasmática (mmol/L) (Bioclin – Quibasa, Belo Horizonte-MG, Brasil). As determinações foram realizadas em duplicatas e, após as amostras serem pipetadas e homogeneizadas, foram colocadas em banho-maria por 10 minutos e, em seguida, realizou-se a leitura dos metabólitos em espectrofotômetro (Thermo Scientific modelo Genesys 10S).

Após as coletas de sangue, os peixes foram sacrificados por aprofundamento anestésico (eugenol, 10g/L) e laparotomizados para retirada da gordura visceral e do fígado. As amostras foram acondicionadas em papel alumínio, pesadas, identificadas e congeladas. Posteriormente, foram obtidas as relações somáticas: índice gorduro-viscerossomático

(IGVS) (%) e índice hepatossomático (IHS) (%) de acordo com a fórmula: $[100 \times (\text{peso do tecido} / \text{peso vivo})]$.

2.6 Composição da carcaça

Após coleta de material biológico (sangue, fígado e gordura visceral), os peixes (3 peixes/aquário, totalizando 12 peixes/tratamento) foram congelados por 48 horas em freezer a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$; e posteriormente particionados em um moedor de carne comercial. Cada amostra foi acondicionada em placas de Petri, previamente identificadas, que foram levadas para a estufa a uma temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 72 horas.

Feito todo o processo de secagem das amostras, estas foram novamente trituradas em almofariz e pistilo. Posteriormente, as amostras foram utilizadas para as análises de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB) e energia bruta (EB), conforme metodologias previamente descritas.

2.7 Análise Estatística

Após a tabulação de dados obtidos, os valores foram submetidos ao teste de normalidade e homocedasticidade das variâncias e, em seguida, a análise de variância (ANOVA one-way) seguido pelo teste de comparações múltiplas de Tukey a 5%. Estas análises foram realizadas através do programa estatístico SAS v.9.0.

3. Resultados

3.1. Digestibilidade aparente

Foram determinados os Coeficientes de Digestibilidade Aparente da Matéria Seca (CDA_{MS}), Matéria Orgânica (CDA_{MO}), Proteína Bruta (CDA_{PB}), Energia Bruta (CDA_{EB}), Extrato Etéreo (CDA_{EE}) e Amido (CDA_{AM}) (Tabela 02). A quirela de arroz foi o alimento que apresentou o maior CDA_{MS} ($71,8 \pm 2,4\%$) não sendo diferente ($p > 0,05$) do farelo de arroz ($65,5 \pm 8,2\%$) e do milho ($63,3 \pm 4,7\%$). O CDA_{MS} da quirela de arroz foi significativamente maior ($p < 0,05$) ao CDA_{MS} do sorgo ($54,9 \pm 3,1\%$), do amido ($41,01 \pm 2,7\%$) e do farelo de trigo ($31,7 \pm 2,7\%$).

Neste estudo quatro ingredientes não apresentaram diferenças ($p > 0,05$) nos valores de CDA_{MO} , sendo, a quirela de arroz ($76,5 \pm 2,2\%$), o farelo de arroz ($72,3 \pm 7,4\%$), o milho ($71,7 \pm 4,1\%$) e o sorgo ($65,4 \pm 3,5\%$). Ainda no estudo, estes valores de CDA_{MO} são considerados elevados quando comparados aos dos outros ingredientes como o amido ($52,1 \pm 5,5\%$) e o farelo de trigo ($44,5 \pm 5,2\%$) que apresentaram diferenças ($p < 0,05$) quando

comparados aos outros ingredientes utilizados.

Os valores médios dos coeficientes de digestibilidade aparente da proteína bruta (CDA_{PB}) demonstraram que o milho foi o ingrediente que apresentou o maior CDA_{PB} ($81,9 \pm 2,8\%$) mas sem diferenças ($p > 0,05$) do CDA_{PB} da quirela de arroz ($80,9 \pm 2,3\%$), farelo de arroz ($78,1 \pm 6,3\%$) e sorgo ($75,6 \pm 4,4\%$). Além disso, a dieta com farelo de trigo foi aquela que apresentou o menor CDA_{PB} ($66,6 \pm 0,9\%$). Foram calculados os valores médios dos coeficientes de digestibilidade aparente da energia bruta (CDA_{EB}). A dieta com quirela de arroz foi a que apresentou o maior valor do CDA_{EB} ($79,2 \pm 1,9\%$), superior ($p < 0,05$) ao CDA_{EB} do sorgo ($66,7 \pm 3,2\%$), do amido ($53,7 \pm 2,5\%$) e do farelo de trigo ($48,0 \pm 2,1\%$), mas sem diferença ($p > 0,05$) do CDA_{EB} do milho ($72,5 \pm 3,9\%$) e do farelo de arroz ($72,4 \pm 6,9\%$).

Também foram determinados os Coeficientes de Digestibilidade Aparente (CDA) do Extrato Etéreo (CDA_{EE}), e do Amido (CDA_{Am}). Os valores de CDA_{EE} demonstraram diferença ($p < 0,05$) sendo o maior valor observado com o sorgo ($89,4 \pm 4,3\%$). Apesar do sorgo apresentar o maior valor, este não diferiu do milho, amido, quirela e farelo de arroz. O único ingrediente que apresentou diferença significativa quando comparado com quase todos os outros ingredientes foi o farelo de trigo ($69,8 \pm 5,1\%$). O CDA_{Am} foi a variável avaliada que não apresentou diferença significativa entre nenhum dos ingredientes testados e todos os CDA_{Am} demonstraram-se acima de 90% de aproveitamento pelos animais deste estudo

3.2 Desempenho produtivo

Foram avaliadas as seguintes variáveis de desempenho produtivo: ganho de peso (GP), peso final (PF), comprimento final (CF), taxa de eficiência proteica (TEP), consumo (CON) e conversão alimentar (CA) e os valores médios destas variáveis são apresentados na Tabela 03.

Na variável de PF o ingrediente que apresentou maior média foi o amido ($206,9 \pm 11,7$ g) quando comparado ao farelo de arroz ($183,4 \pm 12,3$ g), porém não se verificou diferenças ($p > 0,05$) entre o amido e os outros ingredientes testados.

Não foram observadas diferenças ($p > 0,05$) no GP, CF, CON e CA. Apesar de não ter ocorrido diferenças entre os ingredientes testados, o amido foi o ingrediente que apresentou valor mais elevado no GP ($75,4 \pm 11,4$ g) e o farelo de arroz resultou nos valores mais baixos ($53,1 \pm 13,9$ g). Apesar disso, o farelo de arroz foi o ingrediente que resultou no maior CON ($834,5 \pm 14,3$ g) enquanto o farelo de trigo foi o que resultou no menor valor ($813,0 \pm 26,6$ g). As maiores médias numéricas na CA foram observadas nas dietas com o farelo de arroz ($2,1 \pm 1,6$) e as menores com a dieta contendo amido ($1,4 \pm 0,2$), mas sem diferenças

($p > 0,05$).

3.3 Parâmetros sanguíneos, relações somáticas e de carcaça

Os resultados de metabólitos sanguíneos e relações somáticas obtidos pelos tambaquis alimentados com diferentes ingredientes energéticos estão apresentados na Tabela 4. Não foram observadas diferenças ($p > 0,05$) nas variáveis sanguíneas: proteínas totais séricas, glicose plasmática e índice no goduro-vicerossomático, porém foram observadas diferenças ($p < 0,05$) para as variáveis de colesterol, triglicerídeos e índice hepatossomático.

Tabela 02. Coeficientes de digestibilidade aparente de juvenis de tambaquis alimentados com diferentes ingredientes energéticos de origem vegetal durante 57 dias.

Var.	Ingredientes						p
	MI	SO	AM	FT	FA	QA	
CDA_{MS} %	63,3±4,7 ^{ab}	54,9±3,1 ^b	41,01±2,7 ^c	31,7±2,7 ^c	65,5±8,2 ^a	71,8±2,4 ^a	<0,0001
CDA_{MO} %	71,7±4,1 ^a	65,4±3,5 ^a	52,1±5,5 ^b	44,5±5,2 ^b	72,3±7,4 ^a	76,5±2,2 ^a	<0,0001
CDA_{PB} %	81,9±2,8 ^a	75,6±4,4 ^{ab}	72,8±2,6 ^{bc}	66,6±0,9 ^c	78,1±6,3 ^{ab}	80,9±2,3 ^{ab}	0,0001
CDA_{EB} %	72,5±3,9 ^{ab}	66,7±3,2 ^b	53,7±2,5 ^c	48,0±2,1 ^c	72,4±6,9 ^{ab}	79,2±1,9 ^a	<0,0001
CDA_{EE} %	87,8±3,8 ^a	89,4±4,3 ^a	82,1±6,2 ^{ab}	69,8±5,1 ^b	80,0±9,1 ^{ab}	86,1±3,2 ^a	<0,0001
CDA_{AM} %	92,6±3,06	91,3±4,0	96,8±2,6	97,05±2,05	92,6±3,1	96,7±1,7	0,098

Letras diferentes na mesma linha indicam que as médias diferem entre si pelo teste Tukey a 5%. Alimentos - MI: milho; SO: sorgo; AM: amido; FT: farelo de trigo; FA: farelo de arroz; QA: quirela de arroz. Variáveis: GP: Ganho de Peso; PF: Peso Final; CF: Comprimento Final; TEP: Taxa de Eficiência Proteica CON: Consumo; CA: Conversão alimentar. Coeficientes de digestibilidade aparente avaliados: MS: matéria seca; MO: Matéria orgânica; PB: Proteína bruta; EB: Energia bruta; EE: Extrato etéreo; Am: Amido.

Tabela 03. Desempenho produtivo de juvenis de tambaquis alimentados com diferentes ingredientes energéticos de origem vegetal durante 57 dias.

Var.	Ingredientes						p
	MI	SO	AM	FT	FA	QA	
PF (g)	200,6±7,1 ^{ab}	195,8±12,1 ^{ab}	206,9±11,7 ^a	192,1±1,9 ^{ab}	183,4±12,3 ^b	201,4±7,6 ^{ab}	0,03
CF (cm)	22,7±0,3	22,6±0,1	22,8±0,4	22,6±0,1	22,0±1,2	22,9±0,3	0,38
GP (g)	68,5±8,2	64,7±11,05	75,4±11,4	60,6±2,2	53,1±13,9	68,1±8,8	0,08
TEP (%)	0,4±0,05 ^{ab}	0,5±0,09 ^{ab}	0,4±0,07 ^b	0,5±0,03 ^{ab}	0,6±0,1 ^a	0,5±0,5 ^{ab}	0,04
CON (g)	834,5±14,3	832,6±15,7	830,8±25,08	813,0±26,6	839,2±28,2	831,0±22,2	0,64
CA (kg)	1,5±0,1	1,6±0,3	1,4±0,2	1,6±0,1	2,1±1,6	1,5±0,2	>0,10

Letras diferentes na mesma linha indicam que as médias diferem entre si pelo teste Tukey a 5%. Alimentos - MI: milho; SO: sorgo; AM: amido; FT: farelo de trigo; FA: farelo de arroz; QA: quirela de arroz. Variáveis: GP: Ganho de Peso; PF: Peso Final; CF: Comprimento Final; TEP: Taxa de Eficiência Proteica CON: Consumo; CA: Conversão alimentar.

As concentrações de colesterol sérico foram superiores ($p < 0,05$) em peixes alimentados com farelo de arroz ($3,4 \pm 0,1$ mmol/L) e amido de milho ($3,2 \pm 0,1$ mmol/L) em comparação aos alimentados com milho ($2,8 \pm 0,1$ mmol/L) e farelo de trigo ($2,9 \pm 0,2$ mmol/L). Observou-se que, apesar, dos maiores valores serem do farelo de arroz e do amido de milho, estes não diferiram ($p > 0,05$) dos valores observados com a quirela de arroz e o sorgo. As concentrações de triglicérides foram superiores em peixes alimentados com amido de milho ($3,1 \pm 0,1$ mmol/L) sendo este valor significativamente diferente de todos os outros ingredientes testados. Para a mesma variável observou-se também menores valores naqueles peixes alimentados com farelo de arroz e farelo de trigo (respectivamente $2,1 \pm 0,2$ mmol/L e $2,1 \pm 0,1$ mmol/L).

No índice hepatossomático foi observada a ocorrência de valores superiores ($p < 0,05$) nos peixes alimentados com amido de milho ($1,5 \pm 0,1\%$) e inferiores nos peixes alimentados com milho ($1,2 \pm 0,1\%$), sem diferenças ($p > 0,05$) entre amido de milho, farelo de trigo, quirela de arroz e sorgo.

Os resultados de composição química e energia bruta da carcaça dos juvenis de tambaquis estão dispostos na Tabela 05 e os valores utilizados para os cálculos estatísticos referem-se à concentração do nutriente na amostra pré-seca. Observou-se que os valores de matéria seca, proteína bruta e energia bruta não obtiveram diferenças ($p > 0,05$). Já a matéria mineral apresentou diferenças ($p < 0,05$) e o milho resultou em maior valor ($13,5 \pm 1,8\%$) enquanto que o farelo de arroz apresentou o menor valor ($8,7 \pm 1,7\%$).

Tabela 04. Metabólitos sanguíneos e relações somáticas de juvenis de tambaquis alimentados com diferentes ingredientes energéticos de origem vegetal durante 57 dias.

Var.	Ingredientes						p
	MI	SO	AM	FT	FA	QA	
COL (mmol/L)	2,8±0,1 ^c	3,1±0,2 ^{ab}	3,2±0,1 ^a	2,9±0,2 ^{bc}	3,4±0,1 ^a	3,2±0,1 ^{ab}	0,002
TRI (mmol/L)	2,3±0,1 ^{bc}	2,4±0,1 ^b	3,1±0,1 ^a	2,1±0,1 ^c	2,1±0,2 ^c	2,3±0,2 ^{bc}	<0,001
PT (g/dL)	4,4±0,3	4,2±0,08	4,6±0,3	4,6±0,4	4,7±0,8	4,5±0,2	0,72
GLI (mmol/L)	8,6±1,2	9,3±0,8	9,4±0,9	10,1±0,9	8,5±0,3	9,3±0,3	0,12
IHS (%)	1,2±0,0 ^c	1,4±0,03 ^{ab}	1,5±0,08 ^a	1,5±0,1 ^{ab}	1,4±0,0 ^{bc}	1,5±0,07 ^{ab}	0,004
IGVS (%)	0,7±0,03	0,6±0,1	0,6±0,1	0,5±0,05	0,4±0,1	0,7±0,08	0,06

Letras diferentes na mesma linha indicam que as médias diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Alimentos - MI: milho; SO: sorgo; AM: amido; FT: farelo de trigo; FA: farelo de arroz; QA: quirela de arroz. COL: colesterol sérico (mmol/L); PT: proteínas totais séricas (g/dL); TRI: triglicerídeos séricos (mmol/L); GLI: glicose plasmática (mmol/L); IHS: índice hepatossomático (%); IGVS: índice gorduroso-viscerossomático (%).

Tabela 05. Composição química e energia bruta da carcaça de juvenis de tambaquis alimentados com diferentes ingredientes energéticos de origem vegetal durante 57 dias.

Var.	Ingredientes						p
	MI	SO	AM	FT	FA	QA	
MS %	96,2±1,07	97,05±0,2	96,8±0,2	96,4±0,8	95,5±1,5	95,9±0,7	0,23
MM %	13,5±1,7 ^a	11,2±1,2 ^{ab}	11,5±1,1 ^{ab}	10,9±1,5 ^{ab}	8,7±1,6 ^b	12,2±2,5 ^{ab}	0,02
PB %	60,3±5,3	61,9±1,6	63,5±6,4	61,8±3,5	64,7±5,4	66,8±8,8	0,66
EB (Kcal/kg)	5234±93,2	5191±119,6	4933±350,8	5185±91,1	5390±158,8	5245±131,2	0,05

Letras diferentes na mesma linha indicam que as médias diferem entre si pelo teste Tukey a 5%. Alimentos - MI: milho; SO: sorgo; AM: amido; FT: farelo de trigo; FA: farelo de arroz; QA: quirela de arroz. Parâmetros avaliados: MS: matéria seca (%); MM: matéria mineral (%); PB: proteína bruta (%); EB: energia bruta (Kcal/Kg).

4. Discussão

4.1 Digestibilidade Aparente

A matéria seca (MS) é a porção sólida de qualquer alimento, ingrediente ou nutriente disponibilizado em uma dieta. Também pode ser representada pela fração sólida das fezes em experimentos com digestibilidade de nutrientes. A fração sólida das amostras é importante por caracterizar, de forma indireta, os nutrientes que poderão ser utilizados pelo animal.

Neste estudo os CDA_{MS} variaram muito entre os ingredientes testados, sendo o valor mais elevado o da quirela de arroz ($71,8 \pm 2,4\%$) e o menor do farelo de trigo ($31,7 \pm 2,7\%$). Na pesquisa realizada por Boscollo, Hayashi e Meurer (2002) foram observados CDA_{MS} para o milho (90,3%) e farelo de trigo (90,7%) mais altos para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Em contrapartida, Pezzato *et al.* (2002), ao avaliarem a digestibilidade aparente da tilápia do Nilo, observaram valores de CDA_{MS} de 52,5% para o milho, 48,7% para o amido, 66,0% para farelo de trigo, 59,3% para o farelo de arroz e 23,4% para o sorgo. Possivelmente, os valores diferentes encontrados nos estudos são caracterizados por ingredientes de características estruturais diferentes, pela forma como foram processados e pelas diferenças de capacidade digestiva entre as espécies estudadas. Provavelmente, o motivo que mais afetou a digestibilidade da matéria seca foi, no caso da inclusão de sorgo ($54,9 \pm 3,1\%$) e do farelo de trigo ($31,7 \pm 2,7\%$), o fato de serem ingredientes ricos em carboidratos complexos formados por polissacarídeos constituintes de matéria fibrosa, sendo menos aproveitados pelos peixes. Ressalta-se que a fibra, por ser dificilmente digerida por animais monogástricos, acelera o trânsito intestinal e, portanto, interfere de forma negativa na absorção dos nutrientes.

A matéria orgânica (MO) é a fração sólida total após subtração dos valores de matéria mineral (MM) e representa toda a parcela orgânica que pode ser supostamente digerida e absorvida pelo trato gastrointestinal e metabolizada pelo organismo. Dentre os valores observados neste estudo o mais alto foi o da dieta com quirela de arroz ($76,6 \pm 2,2\%$) e o mais baixo foi o da dieta com farelo de trigo ($44,5 \pm 5,2\%$).

Foram observados maiores CDA_{MO} justamente nas dietas com ingredientes com menor concentração fibrosa e com maior disponibilidade proteica (quirela de arroz, farelo de arroz e milho). Gaylord e Gatlin III (1996), num estudo que comparou os CDAs de ingredientes proteicos de origem animal e vegetal para o red drum

(*Sciaenops ocellatus*), também observaram que o farelo de trigo é o ingrediente que possui menor CDA_{MO} e afirmam que a digestibilidade da matéria orgânica dos ingredientes aumenta conforme a fração dos extratos livres de nitrogênio diminui, ou seja, quanto maior for a disponibilidade de proteína digestível maior também será a digestibilidade da matéria orgânica. Storebakken *et al.* (1998), avaliando ingredientes de origem animal e vegetal em diferentes métodos de coleta de fezes para o salmão de Atlântico (*Salmo salar*), também observaram diferença significativa dos CDA_{MO} entre a farinha de peixe e o farelo de soja, onde o CDA_{MO} da farinha de peixe foi mais elevado. Hajen *et al.* (1993), num estudo que avaliou os CDA de vários ingredientes para o salmão chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) também observaram esta variação de CDA.

No presente estudo, apesar do hábito alimentar frugívoro, foi observado, com o tambaqui, que o melhor aproveitamento da matéria orgânica está ligado a proteína de melhor qualidade. Os altos valores médios de CDAs que foram observados neste estudo, principalmente, para proteína bruta e energia bruta, ocorreram com ingredientes com menor teor de fibra nas dietas.

Os valores médios do CDA_{PB} para a maioria dos ingredientes testados foram relativamente altos com exceção da dieta com farelo de trigo que apresentou valor de digestibilidade aparente da fração proteica de $66,6 \pm 0,9\%$, sendo este valor significativamente inferior quando comparado aos de outros ingredientes. Abimorad e Carneiro (2004), num estudo com pacu, demonstraram que, para o milho e o farelo de arroz, os CDA_{PB} foram idênticos (84,4 e 80,8%) aos deste estudo, porém, com sorgo e farelo de trigo, foram bem diferentes (92,9 e 93,9%). Já, num estudo com tambaquis realizado por Buzollo *et al.* (2018a), observou-se semelhança nos valores de CDA_{PB} do sorgo, porém o milho, quirela de arroz e farelo de trigo mostraram-se com resultados bem diferentes dos desta pesquisa (94,5, 71,2 e 86,1%, respectivamente). Possivelmente, as diferenças entre valores do estudo de Buzollo *et al.* (2018a), quando comparados aos destes, sejam um reflexo das diferentes fases de vida dos peixes utilizados. Em estudo realizado por Soares *et al.* (2017) foi observado, no tambaqui, CDA_{PB} de 80,9% para o farelo de arroz integral, idêntico ao deste estudo.

Resultados distintos também foram descritos por Boscolo, Hayashi e Meurer (2002) para a tilápia do Nilo sendo esta uma espécie já cultivada, propagada e adaptada em cativeiro e, portanto, pode apresentar resultados bem diferentes quando

comparados aos deste estudo. Possivelmente, os motivos que provocaram as diferenças de resultados demonstrados neste e nos diferentes estudos, para o CDA_{PB} , possam ser reflexo de fatores como anatomia e fisiologia do trato gastrointestinal e condições físico-químicas e nutricionais de alguns ingredientes.

Neste estudo o CDA_{PB} mostra que o maior aproveitamento desta fração ocorreu nas dietas com o milho e a quirela de arroz, sendo o milho um ingrediente utilizado com frequência em dietas comerciais. Apesar da variação dos valores de CDA_{PB} entre este e outros estudos, o milho ainda é o ingrediente que apresenta grande potencial para uso em formulações de dietas para peixes por ser um ingrediente fácil de ser encontrado e por também apresentar bom valor energético. Além disso, Khan (1994) sugere que os melhores valores de digestibilidade da proteína estão relacionados com a qualidade da proteína e da composição dos aminoácidos dos ingredientes utilizados o que foi confirmado por Buzollo *et al.* (2018a) quando observaram que o milho apresentou CDA_{PB} mais eficiente do que o sorgo, justamente por possuir um balanço de aminoácidos melhor.

O sorgo é um ingrediente com potencial de substituição ao milho em dietas comerciais justamente por apresentar composição química e valor nutricional semelhantes (BUZOLLO *et al.*, 2018a), porém, foi o ingrediente que apresentou valores de CDA_{PB} com maior variação entre os resultados deste e de outros estudos. Isso relaciona-se com a presença de fatores antinutricionais como o tanino, sendo este um polifenol que se liga a pontes de hidrogênio das moléculas proteicas (FREIRE *et al.*, 2002), provocando assim, diminuição da utilização da proteína e, conseqüentemente, afetando a relação proteína:energia (GUIMARÃES, MIRANDA e ARAÚJO, 2014).

A inclusão de farelo de trigo neste e em outros estudos, mostrou também CDA_{PB} com grande variação. Abimorad e Carneiro (2004) argumentaram que o bom índice de aproveitamento deste ingrediente está relacionado ao fato de que o pacu é uma espécie frugívora/herbívora/onívora que se adaptou para aproveitar bem a proteína disponibilizada pelo farelo de trigo. O tambaqui demonstrou resultado contrário sendo que o menor valor apresentado para o CDA_{PB} do farelo de trigo provavelmente está relacionado ao fato de que este ingrediente possui teor fibroso, reduzindo o tempo no trato gastrointestinal e tornando-se menos digerível (PEREIRA *et al.*, 2015).

O farelo de arroz foi um ingrediente que apresentou valores de CDA_{PB} elevados

tanto neste quanto em outros estudos avaliados (entre 78,2 a 94,9%) e, portanto, dependendo dos valores de mercado e de sua disponibilidade ao longo do ano, pode substituir outros ingredientes energéticos de origem vegetal de forma satisfatória, sem provocar prejuízo da parcela proteica das dietas. Guimarães, Miranda e Araújo (2014) ainda afirmam que os diferentes CDA_{PB} encontrados nos estudos podem ser reflexo de diferentes métodos de processamento das dietas já que moagem dos ingredientes, peletização ou extrusão e granulometria do pelete de ração interferem no aproveitamento do ingrediente pelos peixes.

O CDA_{EB} é uma análise que indica a quantidade de energia disponibilizada pelo nutriente/alimento que foi utilizada pelos animais. Assim como a proteína bruta, os CDA_{EB} também apresentaram grande variação neste estudo. Dentre os ingredientes avaliados, a quirela de arroz foi o ingrediente que apresentou o maior CDA_{EB} ($79,2 \pm 1,9\%$), porém os menores índices ocorreram com a inclusão de amido de milho ($53,8 \pm 2,5\%$) e farelo de trigo ($48,0 \pm 2,1\%$). Buzollo *et al.* (2018a) demonstraram valores do CDA_{EB} muito distintos onde o sorgo (81,1%) e o farelo de trigo (68,2%) apresentaram maiores diferenças de valores quando comparados aos deste estudo (66,7 e 48,0%, respectivamente).

Quando se fala em ingredientes energéticos para o tambaqui costuma-se levar em consideração o fato de ser uma espécie frugívora/onívora oportunista habituada a consumir alimentos energéticos na natureza de acordo com a sazonalidade anual e, portanto, pode aproveitar bem a inclusão de ingredientes energéticos em rações comerciais. Boscolo, Hayashi e Meurer (2002) confirmaram esta informação, para tilápia do Nilo ao dizerem que a espécie, por ser onívora, apresenta melhor aproveitamento da energia de alimentos de origem vegetal quando comparada a carnívoros. Abimorad e Carneiro (2004) também reforçam esta ideia ao relataram este aproveitamento pelo pacu, dizendo que os ingredientes energéticos possuem ótimos CDA_{EB} (acima de 80%) e permitem a inclusão em dietas comerciais como fonte de energia de baixo custo. Neste estudo, os três ingredientes que apresentaram maior CDA_{EB} para a espécie testada foram a quirela de arroz, o milho e o farelo de arroz justamente por serem ingredientes com alto teor de carboidratos amiláceos em sua composição e, portanto, possuem uma alta capacidade digestível, podendo ser incluídos como substitutos de outros ingredientes energéticos em dietas para a espécie estudada.

A avaliação do extrato etéreo serve para determinar os teores de lipídios tanto nos alimentos quanto nas fezes. Ao se fazer este tipo de análise, consegue-se determinar a quantidade de lipídios aproveitados pelos peixes e isso favorece tanto a compreensão do quanto o peixe aproveitou de determinada fonte energética quanto a formulação de dietas mais equilibradas, considerando a nutrição e a economia de ingredientes na fabricação de dietas comerciais.

Neste estudo, o maior valor de digestibilidade do extrato etéreo aconteceu com a inclusão do sorgo e o menor valor ocorreu com a inclusão do farelo de trigo. Buzollo *et al.* (2018a), ao avaliar o CDA_{EE} com ingredientes como o milho, sorgo, farelo de trigo e quirela de arroz para o tambaqui demonstraram valores elevados de digestibilidade para todos os ingredientes testados e, o valor de digestibilidade do extrato etéreo em sua pesquisa, ao utilizar o farelo de trigo (91,6%), foi muito maior quando comparado ao valor do nosso estudo.

A inomogeneidade entre valores quando se comparam os resultados dos diferentes estudos demonstra que o comportamento de digestibilidade do extrato etéreo pode apresentar variação, possivelmente, tanto com a espécie estudada como com a qualidade do ingrediente utilizado e ainda pode sofrer influência dos métodos utilizados no processamento das dietas.

O amido é um nutriente encontrado em alguns ingredientes de origem vegetal em maior ou menor proporção e é caracterizado como um carboidrato solúvel e altamente digestível com baixo teor de fibras por apresentar arranjo linear (amilose) inferior aos arranjos ramificados (amilopectina) (SOARES *et al.*, 2017). Neste estudo também foram avaliados os coeficientes de digestibilidade aparente do amido (CDA_{Am}) e observou-se que não ocorreram diferenças significativas entre os ingredientes testados. Couto *et al.* (2016), num experimento que avaliou os efeitos de inclusão de farelos de cereais integrais para o crescimento, digestibilidade, perfil glicêmico e morfologia intestinal em dourada (*Sparus aurata*) observaram a ocorrência de diferenças significativas quando comparados os CDA da dieta com milho (69,6%) e com o trigo (94,7%).

O valor muito diferente entre os CDA_{Am} do milho neste estudo ($92,6 \pm 3,1\%$) e na pesquisa de Couto *et al.* (2016) podem ser explicados por possíveis diferenças na qualidade do ingrediente utilizado ou em possíveis métodos diferentes de processamento deste ingrediente no momento do preparo das dietas experimentais. Os autores referenciados ainda explicam que o aproveitamento do amido dietético

pelos peixes pode sofrer influência devido a origem botânica dos ingredientes utilizados, uma vez que as proporções de amilose e amilopectina tem variação de acordo com os ingredientes. A mesma condição, em que o trigo apresentou maior CDA_{Am} que o do milho, também é relatada por Venou *et al.* (2003) ao avaliar os efeitos da extrusão de trigo e milho sobre o crescimento de dourada. Possivelmente os valores apresentados pelos CDA_{Am} neste estudo também foram fortemente influenciados pela espécie utilizada, já que o tambaqui é um peixe onívoro/frugívoro com grande capacidade metabólica de aproveitamento de alimentos amiláceos.

4.2 Parâmetros de Desempenho

No peso final, a dieta que apresentou valor mais elevado foi aquela com inclusão de amido ($206,9 \pm 11,7g$) não apresentando diferença ($p > 0,05$) dos peixes alimentados com as dietas com quirela de arroz, milho, sorgo e farelo de trigo. Já na taxa de eficiência proteica, o valor mais elevado foi observado com a dieta com inclusão de farelo de arroz ($0,6 \pm 0,1\%$), sendo este valor idêntico aos da quirela de arroz, farelo de trigo, sorgo e milho. Nestes dois parâmetros avaliados, observou-se que, mesmo com diferença significativa, os valores numéricos absolutos foram muito parecidos para todos os ingredientes incluídos nas dietas experimentais.

Por não terem sido encontradas diferenças significativas entre os parâmetros CF, GP, CON e CA (além da proximidade dos valores de PF e TEP, apesar das diferenças significativas), esta pesquisa demonstra que o tambaqui, por ser uma espécie onívora/frugívora muito bem adaptada ao aproveitamento de amido, apresenta bom desempenho produtivo quanto submetida a diferentes ingredientes energéticos de origem vegetal em suas dietas. O fato de não ter ocorrido diferença significativa na maioria dos resultados de desempenho neste estudo pode ser explicada ao se observar os altos índices dos CDA_{AM} , já que em todos os valores demonstrados, os resultados ficaram acima de 90% de aproveitamento do amido, confirmando a grande capacidade metabólica do tambaqui para utilizá-lo.

4.3 Parâmetros sanguíneos, relações somáticas e de carcaça

Não foram observadas diferenças significativas na concentração de glicose plasmática entre os ingredientes testados. Corrêa *et al.* (2007), ao avaliar as respostas enzimáticas frente a inclusão de amido de milho em dietas para o tambaqui, observaram comportamento idêntico para esta variável. Esta resposta pode estar

relacionada com a velocidade de regulação dos níveis de glicose sanguínea, pois os animais permaneceram em jejum por 15 horas antes da coleta de sangue e, possivelmente, neste período de tempo, os peixes tenham regulado a homeostase glicêmica retornando aos níveis basais e, assim, demonstrando utilização eficiente das fontes energéticas.

Estudos afirmam que a concentração de glicose plasmática de peixes é influenciada diretamente pelo horário da última ingestão de alimento (CARLI, 2021), em que a dinâmica da glicose reflete a capacidade das espécies em buscar a homeostase glicêmica e, em peixes onívoros e herbívoros, esta capacidade de regulação da concentração de glicose sanguínea ocorre em poucas horas, sendo, inclusive, mais rápida que em espécies carnívoras (POLAKOF *et al.*, 2012; KAMALAM, MEDALE e PANSERAT, 2017). Takahashi *et al.* (2018) revelaram que o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) tem a capacidade de metabolizar uma carga de 500 mg/kg de glicose de forma relativamente rápida (pico de glicose em 4 horas e retorno à condição basal em 6 horas), como também observado em robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de amido, não obtendo diferenças significativas nos níveis de glicêmicos avaliados (ENES *et al.*, 2006). Ferrari *et al.* (2022) constataram a ocorrência de picos glicêmicos (13,8 mM) 6 horas após injeção intraperitoneal de glicose e retorno a condição basal (5,5 mM) em menos de 24 horas em juvenis de tambaqui.

Quando os carboidratos das dietas se encontram em excesso, são armazenados na forma de gordura (lipogênese), ou glicogênio (glicogênese). O excesso de carboidratos dietéticos é convertido em açúcar simples por digestão e, posteriormente, em piruvato pela via glicolítica onde este é oxidado para produzir energia ou direcionado para as vias de síntese de ácidos graxos (lipogênese) quando a energia está disponível (UYEDA e REPA, 2006). Quando as concentrações de triglicerídeos séricos nos peixes alimentados com carboidratos são altas, sugerem a ocorrência de lipogênese, pela síntese de triglicerídeos hepáticos.

Neste estudo foi observado que os animais alimentados com a dieta com amido tiveram resultados superiores nos triglicerídeos séricos, colesterol sérico e IHS em relação aos demais tratamentos. Isso demonstra que o amido (polissacarídeo com alta disponibilidade de glicose) é mais facilmente digerido pelos peixes, permitindo assim sua maior absorção e utilização. Esses resultados, quando relacionados com os níveis de glicose plasmática, demonstram que a rápida homeostase da glicose no

sangue de tambaquis relaciona-se com o aumento da lipogênese, confirmado pelos teores de triglicerídeos séricos, bem como possível ausência de alteração na gliconeogênese (LI *et al.*, 2019). Esse resultado também pode explicar a variação entre os índices hepatossomáticos identificados nestes grupos alimentados com ingredientes com alta concentração de carboidratos como o amido sendo que este, especificamente, pode ser atribuído ao aumento da deposição de lipídios e glicogênio hepático (RAWLES, SMITH e GATLIN, 2008; ENES *et al.*, 2010). Entretanto na composição da carcaça, não foram observadas diferenças significativas para as variáveis de matéria seca, proteína bruta e energia bruta.

5. Conclusão

A partir do conjunto de resultados, conclui-se que o tambaqui por ser uma espécie onívora oportunista, tem capacidade elevada para digerir alguns alimentos energéticos de origem vegetal. A dieta com inclusão de milho foi a que apresentou uma das melhores digestibilidades (CDA_{PB} de $82,0 \pm 2,9\%$ e CDA_{EB} de $72,6 \pm 4,0\%$), e a quirela de arroz (CDA_{PB} de $80,9 \pm 2,3\%$ e CDA_{EB} de $79,2 \pm 1,9\%$) é uma alternativa interessante para substituir o milho justamente por apresentar valores nutritivos para ambas frações com a mesma eficiência. Neste contexto é importante que os fabricantes de rações mantenham um controle elevado de qualidade de sua matéria prima pois estes ingredientes podem apresentar variações de qualidade nutricional, de acordo com os diferentes cultivares destas plantas e períodos do ano.

Referências

ABIMORAD, E.G.; CARNEIRO, D.J. Métodos de coleta de fezes e determinação dos coeficientes de digestibilidade da fração proteica e da energia de alimentos para o pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **R. Bras. Zootec.**, v.33, n.5, p.1101-1109, 2004.

AOAC – Association of Official Analytical Chemistry. Official methods of analysis. 17th ed. Washington: AOAC. 2000.

BARBOSA, A.C.; FERREIRA, P.M.F.; SOUZA, R.N.; BARBOSA, J.M. Avaliação da taxa metabólica do tambaqui (*Colossoma macropomum*) e da tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*). **Rev. Bras. Eng. Pesca** 4(2): 46-55, 2009.

BEUTLER, H. O. **Starch**. In H. U. Bergmeyer (Eds.), *Methods of enzymatic analysis* (pp. 2–10). Basel, Switzerland: Verlag. Chemie Weinheim. 1984.

BOSCOLO, W.R.; HAYASHI, C.; MEURER, F. Digestibilidade Aparente da Energia e Nutrientes de Alimentos Convencionais e Alternativos para a Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). **R. Bras. Zootec.**, v.31, n.2, p.539-545, 2002.

BUZOLLO, H.; NASCIMENTO, T.M.T.D.; SANDRE, L.C.G.D.; NEIRA, L.M.; JOMORI, R.K.; CARNEIRO, D.J. Apparent digestibility coefficients of feedstuff used in tambaqui diets. **Bol. Inst. Pesca**, 547-555. 2018 a. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2018.316>

CARLI, G.C. **Metabolismo de Carboidratos e efeito poupador de proteínas para o tambaqui (*Colossoma macropomum*)**. Dissertação. Jaboticabal, 2021.

CORRÊA, C. F.; AGUIAR, L. H.; LUNDSTEDT, L. M.; MORAES, G. Responses of digestive enzymes of tambaqui (*Colossoma macropomum*) to dietary cornstarch changes and metabolic inferences. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A, v. 147, p. 857-862, 2007.

COUTO, A.; PERES, H.; OLIVA-TELES, A.; ENES, P. Screening of nutrient digestibility, glycaemic response and gut morphology alterations in gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed whole cereal meals. **Aquaculture**, 450 (2016) 31–37.

ENES, P.; PANSERAT, S.; KAUSHIK, S.; OLIVA-TELES, A. Effect of normal and waxy maize starch on growth, food utilization and hepatic glucose metabolism in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. **Comparative Biochemistry and Physiology**. Part A: Molecular & Integrative Physiology, v.143, p.89–96, 2006.

ENES, P.; SANCHEZ-GURMACHES, J.; NAVARRO, I.; GUTIÉRREZ, J.; OLIVA-TELES, A. Role of insulin and IGF-I on the regulation of glucose metabolism in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed with different dietary carbohydrate levels. **Comparative Biochemistry and Physiology** Part A: Molecular & Integrative Physiology, v. 157, n. 4, p. 346-353, 2010.

FERRARI, J.E.C.; PALMA, M.; CARLI, G.C.; SATIRO, T.M.; TAVARES, L.C.; VIEGAS, I.; TAKAHASHI, L.S. Carbohydrate tolerance in Amazon tambaqui (*Colossoma macropomum*) revealed by NMR-metabolomics - Are glucose and fructose different sugars for fruit-eating fish? **Comparative Biochemistry and Physiology** - Part D: Genomics and Proteomics 41 (2022).
<https://doi.org/10.1016/j.cbd.2021.100928>

FERREIRA, C.P.; JARROUGE, M.G.; MARTIN, N.F. **Bioquímica Básica**, São Paulo, 9. Ed, p 356, 2010.

FREIRE, E.S.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; HISANO, H.; GONÇALVES, G.S.; FERRARI, J.E.C. Digestibilidade aparente pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) de rações contendo sorgo (alto e baixo tanino) e metionina. **Acta Scientiarum**. Maringá, v. 24, n. 4, p. 927-934, 2002.

FROESE, R.; PAULY, D. Editors. 2018. FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, (06/2018).

FURUKAWA, A.; TSUKAHARA, H. On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. **Nippon Suisan Gakkaishi**, 32(6): 502-506. 1966.
<http://dx.doi.org/10.2331/suisan.32.502>

GAYLORD, G.; GATLIN III, D.M. Determination of digestibility coefficients of various feedstuffs for red drum (*Sciaenops ocellatus*). **Aquaculture** 139 303-314.1996.

GLENCROSS, B.D.; BOOTH, M.; ALLAN, G.L. A feed is only as good as its ingredients – a review of ingredient evaluation strategies for aquaculture feeds. **Aquaculture Nutrition** 2007 13; 17–34.

GUIMARAES, I.G.; MIRANDA, E.C.; ARAUJO, J.G. Coefficients of total tract apparent digestibility of some feedstuffs for Tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Animal Feed Science and Technology**, 188(1): 150-155. 2014.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.11.007>.

HAJEN, W.E.; HIGGS, D.A.; BEAME, R.M.; DOSANJH, B.S. Digestibility of various feedstuffs by post-juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in sea water. **Aquaculture**, 112. 333-348. 1993.

KAMALAM, B. S.; MEDALE, F.; PANSERAT, S. Utilisation of dietary carbohydrates in farmed fishes: New insights on influencing factors, biological limitations and future strategies. **Aquaculture**, v. 467, p. 3-27, 2017.

KHAN, M.S. Apparent digestibility coefficients for common feed ingredients in formulated diets for tropical catfish, *Mystus nemurus* (Cuvier & Valenciennes). **Aquaculture and Fisheries Management**, v.25, n.2, p.167-174, 1994.

LI, H.; XU, W.; JIN, J.; ZHU, X.; YANG, Y.; HAN, D.; LIU, H.; XIE, S. Effects of dietary carbohydrate and lipid concentrations on growth performance, feed utilization, glucose, and lipid metabolism in two strains of gibelcarp. **Frontiers in**

Veterinary Science, v.6, p.165, 2019.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of fish and shrimp**. THE NATIONAL ACADEMIES PRESS 500 Fiith Street, N.W. Washington, DC. 2011.

NOSE, T. On the digestion of food protein by gold-fish (*Carassius auratus* L.) and rainbow trout (*Salmo irideus* G.). **Bulletin of Freshwater Fisheries Research Laboratory**, 10(1): 11-22. 1960.

OISHI, C.A.; NWANNA, L.C.; PEREIRA-FILHO, M. Optimum dietary protein requirement for Amazonian Tambaqui, *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818, fed fish meal free diets. **Acta Amazonica**. vol. 40(4) 2010: 757 – 762.

PEREIRA JUNIOR, G.; PEREIRA, E.M.O.; PEREIRA FILHO, M.; BARBOSA, P.S.; SOUZA, F.S. Digestibilidade aparente de ração para tambaqui com níveis crescentes de substituição do milho por farinha de crueira de mandioca. **PUBVET**, Londrina, V. 8, N. 14, Ed. 263, Art. 1751, Julho, 2014.

PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C.; BARROS, M.M.; PINTO, L.G.Q.; FURUYA, W.M.; PEZZATO, A.C. Digestibilidade Aparente de Ingredientes pela Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). R. Bras. Zootec., v.31, n.4, p.1595-1604, 2002.

POLAKOF, S.; PANSERAT, S.; SOENGAS, J.; MOON, T.W. Glucose metabolism in fish: a review. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 182, n.8, p. 1015-1045, 2012.

RAWLES, S.D.; SMITH, S.B.; GATLIN, D.M. Hepatic glucose utilization and lipogenesis of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) in response to dietary carbohydrate level and complexity. **Aquac, Nutr.**14: 40-50. 2008. doi: 10.1111/j.1365- 2095.2007.00503.x

SILVA, J.A.M.; PEREIRA FILHO, M.; OLIVEIRA-PEREIRA, M.I. Frutos e sementes consumidos pelo tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) Incorporados em Rações. Digestibilidade e velocidade de trânsito pelo trato gastrointestinal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 32(6): 1815-1824. 2003. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982003000800003>

SILVA, J.A.M.; PEREIRA-FILHO, M.; CAVERO, B.A.S.; OLIVEIRA PEREIRA, M.I. Digestibilidade aparente dos nutrientes e energia de ração suplementada com enzimas digestivas exógenas para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818). **Acta Amazonica**, 37(1): 157-164. 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672007000100021>

SOARES, K.J.A.; RIBEIRO, F.B.; BOMFIM, M.A.D.; MARCHÃO, R.S. Valor nutricional de alimentos alternativos para tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Arch. Zootec.** 66 (256): 491-497. 2017.

STOREBAKKEN, T.; KVIEN, I.S.; HELLAND, G.; HELLAND, S.J.; BERGE, G.M. The apparent digestibility of diets containing fish meal, soybean meal or bacterial meal fed

to Atlantic salmon (*Salmo salar*): evaluation of different faecal collection Methods. **Aquaculture**. 169. 195–210. 1998.

TAKAHASHI, L.S.; HA, N.; PEREIRA, M.M.; BILLER-TAKAHASHI, J.D.; URBINATI, E.C. Carbohydrate tolerance in the fruit-eating fish *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Aquac. Res.** 49, 1182–1188. 2018. <https://doi.org/10.1111/are.13571>.

UYEDA, K.; REPA, J.J. Carbohydrate response element binding protein, ChREBP, a transcription factor coupling hepatic glucose utilization and lipid synthesis. **Cell Metab.** (2006) 4:107–10. doi: 10.1016/j.cmet.2006.06.008.

VENOU, B.; ALEXIS, M.N.; FOUNTOULAKI, E.; NENGAS, I.; APOSTOLOPOULOU, M.; CASTRITSI-CATHARIOU, I. Effect of extrusion of wheat and corn on gilthead seabream (*Sparus aurata*) growth, nutrient utilization efficiency, rates of gastric evacuation and digestive enzyme activities. **Aquaculture** 225, 207–223. 2003.

VIEGAS, I.; RITO, J.; GONZALEZ, J.D.; JARAK, I.; CARVALHO, R.A.; METON, I., PARDAL, M.A.; BAAMANTE, I.V.; JONES, J.G. Effects of food-deprivation and refeeding on the regulation and sources of blood glucose appearance in European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.), 166, 399–405. 2013. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.07.013>.

ZUANON, J.A.S.; SALARO, A.; L.; BALBINO, E.M.; SARAIVA, A.; QUADROS, M.; FONTANARI, R.L. Níveis de proteína bruta em dietas para alevinos de acará-bandeira. **R. Bras. Zootec.**, v.35, n.5, p.1893-1896, 2006.

Capítulo 04

Considerações finais

Peixes são animais ectotérmicos que vivem em ambientes aquáticos variados, em praticamente todas as regiões do planeta, desde pequenos riachos e lagos até as zonas abissais mais profundas dos oceanos. Diferentemente dos animais endotérmicos, como as aves e os mamíferos, e em virtude da influência sofrida de ambientes tão distintos (características ecológicas, qualidade da água, temperatura, além da anatomia, fisiologia e do próprio comportamento) apresentam comportamento metabólico bem distinto entre as diferentes Ordens taxonômicas.

Peixes carnívoros possuem intestino curto e adaptado para o consumo de alimentos proteicos e seu metabolismo apresenta dificuldades em metabolizar alimentos ricos em carboidratos. Já peixes onívoros apresentam intestino relativamente longo, com cecos pilóricos, muito bem adaptado aos aproveitamentos de alimentos ricos em açúcares. Neste contexto, ao longo do processo evolutivo, seus organismos se tornaram bem adaptados para o melhor aproveitamento de carboidratos, tanto em suas dietas naturais quanto em dietas comerciais.

Na atualidade tanto a aquicultura mundial quanto a nacional tem se tornado práticas produtivas de grande expressão econômica. A aquicultura como um todo deixou de ser complementar a outras culturas de produção, passando para o patamar de produção principal de pequenos e médios produtores, além das grandes empresas aquícolas. Além disso, o mercado mundial em geral já mostra valores de queda na pesca predatória e de captura e, em contrapartida, as produções aquícolas cresceram de forma copiosa em todas as partes do mundo.

No Brasil, o aumento gradativo das produções aquícolas tem sido crescentes desde a metade do século XX, sendo que a espécie mais cultivada no país é uma espécie exótica, a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), já bem adaptada ao nosso clima e condições de produção e consolidada no comércio nacional. Porém o tambaqui já é a espécie nativa mais produzida no país.

O tambaqui é uma espécie de peixe que vive, na natureza, na região da bacia amazônica, em ambientes com águas ácidas e que apresentam uma sazonalidade ambiental bem variável ao longo do ano. Neste contexto, tornou-se evolutivamente uma espécie bem adaptada ao consumo de variados tipos de fontes alimentares, que vão desde raízes, moluscos, crustáceos, pequenos peixes, até frutos e sementes, de

acordo com o período do ano. É uma espécie preparada biologicamente à alternância entre períodos de escassez e de abundância alimentar e, por isso, é classificado como peixe onívoro oportunista. Nas produções aquícolas já está bem adaptada, tornando-se a espécie nativa mais cultivada no país porém, apesar de já ser criada a pelo menos três décadas, ainda apresenta dificuldades das mais variadas categorias que incluem custos de investimento ainda elevados, dificuldades logísticas de matéria prima para produção de rações, e de questões de adaptação metabólica aos consumo de rações comerciais, já que o desempenho produtivo ainda não conseguiu atingir um patamar satisfatório que atenda a relação custos de produção/mercado.

Mesmo já existindo muitas informações acerca de sua fisiologia alimentar, o seu comportamento metabólico ainda possui muitas “lacunas” de informações a serem compreendidas. Dentre as atuais discussões, seu comportamento metabólico frente ao consumo de diferentes carboidratos, além das fontes alimentares distintas, são as principais informações ainda em processo de reconhecimento e compreensão.

Os principais avanços no conhecimento acerca do metabolismo da glicose e da frutose, para o tambaqui, demonstram que o arranjo bioquímico específico destes dois carboidratos, provocam diferentes possibilidades relacionadas tanto ao comportamento da glicemia plasmática quanto ao metabolismo em pontos específicos, em diferentes tecidos como fígado e o músculo, afetando tanto o tempo de permanência dos açúcares circulantes como dos aminoácidos de formação dos referidos órgãos, já que sofrem influência de deposição de forma indireta à partir da presença destes diferentes carboidratos. Isso mostra que o simples arranjo bioquímico diferente dos dois carboidratos simples referidos no estudo são suficientes para provocar diferenças interessantes no metaboloma do tambaqui.

Quando ocorre transferência desta análise do comportamento metabólico a partir da indução de carboidratos simples para uma visão fisiológica com administração de diferentes fontes de carboidratos alimentares utilizados comumente na aplicação dietética, as diferenças também apresentam grande variação de comportamento. Numa visão generalizada das respostas frente aos diferentes ingredientes administrados, aqueles que apresentam maior concentração de carboidratos não amiláceos, bem como maior concentração de fibras, apresentam menor aproveitamento e resposta fisiológica positiva pela espécie estudada. Em contrapartida, ingredientes ricos em carboidratos amiláceos demonstram respostas fisiológicas mais apropriadas às necessidades da espécie sendo estas demonstradas

tanto no aproveitamento energético quanto proteico.

Além disso ressalta-se que muitas são as influências que o tambaqui pode sofrer. De ordem biológica as influências já compreendidas remetem à genética, ao comportamento alimentar, ao período do ano e à sazonalidade tanto dos ambientes naturais quando aos de criação. No contexto da produção ressaltam-se, principalmente, a qualidade dos ingredientes utilizados, a disponibilidade de mercado de matérias primas, a logística de toda a cadeia produtiva, dentre outros.

Em termos gerais o tambaqui é uma espécie que, apesar da recente consolidação de mercado, ainda demonstra que possui muito potencial de crescimento, tanto para estudos e pesquisas, quanto para abertura de nossa possibilidades de produção.