

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Efeito do β -glucano nos estoques de lipídios
e enzimas metabólicas hepática em tilápias
do Nilo alimentadas com alto teor de
carboidratos**

Thaise Mota Satiro

Zootecnista

Jaboticabal, São Paulo

2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Efeito do β -glucano nos estoques de lipídios
e enzimas metabólicas hepática em tilápias
do Nilo alimentada com alto carboidrato**

Thaise Mota Satiro

Orientador: Dr. Leonardo Susumu Takahashi

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

Jaboticabal, São Paulo

2021

S253 Satiro, Thaise Mota
Efeito do β -glucano nos estoques de lipídios e enzimas metabólicas hepática em tilápias do Nilo alimentada com alto carboidrato / Thaise Mota Satiro. – – Jaboticabal, 2021
x, 54 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2021
Orientador: Leonardo Susumu Takahashi
Banca examinadora: Cristiéle da Silva Ribeiro, Fábio Sabbadin Zanuzzo
Bibliografia

1. Amido. 2. Lipogênese. 3. Metabolismo intermediário. 4. Nutrição. 5. *Oreochromis niloticus*. I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.3.043

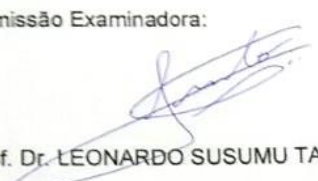
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: Efeito do β -glucano no metabolismo de tilápia do Nilo alimentada com diferentes teores de carboidratos

AUTORA: THAISE MOTA SÁTIRO

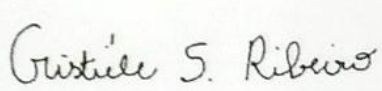
ORIENTADOR: LEONARDO SUSUMU TAKAHASHI

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

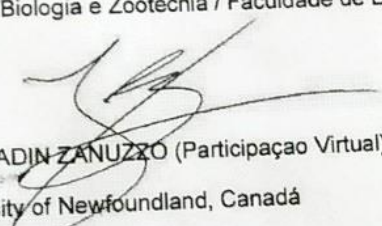


Prof. Dr. LEONARDO SUSUMU TAKAHASHI (Participação Virtual)

Departamento de Produção Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena –
UNESP


Profa. Dra. CRISTIÉLE DA SILVA RIBEIRO (Participação Virtual)

Departamento de Biologia e Zootecnia / Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – UNESP



Dr. FÁBIO SABBADIN ZANUZZO (Participação Virtual)

Memorial University of Newfoundland, Canadá

Jaboticabal, 28 de julho de 2021

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

THAISE MOTA SÁTIRO – nasceu em Petrópolis, Rio de Janeiro, no dia 18 de dezembro de 1994. Filha de Zely de Oliveira Mota Satiro e José Carlos Sátiro. Em 2014, ingressou no curso de Zootecnia do Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais, campus Rio Pomba, MG, realizando cursos, monitorias, estágios, iniciações científicas e trabalho de conclusão de curso na área de piscicultura. Em fevereiro de 2019, graduou-se em Zootecnia. Em março de 2019, ingressou no curso de Mestrado em Aquicultura no Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - CAUNESP, Jaboticabal, São Paulo, sob orientação do Prof. Dr. Leonardo Susumu Takahashi, com bolsa financiada pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), submetendo sua dissertação à banca examinadora em julho de 2021.

"Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa, nunca tem medo e nunca se arrepende."

Leonardo Da Vinci

Dedico,

*este trabalho primeiramente à Deus e
aos meus queridos pais por terem
suportado a distância vivida, mas com
paciência e perseverança muito se
alcança.*

AGRADECIMENTOS

À Deus pela saúde e força concedida para superar os empecilhos que surgem na caminhada da vida, a alcançar meus objetivos, e guiar-me nas escolhas feitas até hoje, tenho certeza que nada é por acaso, e que se estou hoje onde estou também é obra de Deus.

Novamente se encerra um ciclo, não foi fácil, mas lido como um profundo desafio, que com toda certeza contribuiu demasiadamente para meu amadurecimento, evolução pessoal, profissional e pelo que me tornei. A experiência adquirida nesses dois anos de mestrado contribuirá para me tornar ainda mais competente na profissão que escolhi atuar.

A presente dissertação é fruto de muito esforço e dedicação não somente individual, mas de um grupo de pessoas que colaboraram para esse projeto acontecer.

Aos meus pais, José Carlos e Zely Mota, minha gratidão! Eles que não tiveram a oportunidade de estudar, tendo como formação somente o ensino fundamental sempre trabalharam com muito esforço para proporcionar uma boa educação e oferecer o melhor para mim e meu irmão. Sou grata pelo amor incondicional, sacrifício em prol da minha educação e pela confiança depositada. E a todos os meus familiares que apesar da distância estavam permanentemente presentes por meio de mensagens carinhosas.

Agradeço especialmente ao técnico do Laboratório de Tilapicultura Luiz Fernando, pelos incentivos, parceria e ajuda no dia-a-dia, com certeza foi primordial para superação das dificuldades ao decorrer do mestrado. Aos técnicos Valdecir e Marcio por tanta disponibilidade em auxiliar não só a mim, mas a todos do Caunesp.

A nossa equipe de trabalho do Laboratório de Tilapicultura do Centro de Aquicultura da Unesp - CAUNESP, pelo apoio nas coletas de dados e auxílios durante esses dois anos de mestrado. Em especial a Pietra, que executamos juntas todas as atividades relacionadas ao projeto.

Aos amigos que tive o prazer de conhecer em Jaboticabal - SP, meu muito obrigado pelos momentos compartilhados e por tornarem os meus dias mais felizes e descontraídos, pelos consolos e por estarem sempre por perto nos

momentos que eu mais precisava, especialmente a Kamila Meneses, Thayse Michielin, Amanda Myiuki, Aline Reis, Marcio Kishimoto, Carol Vasconcelos e Bernardo Ramos

Quero também agradecer de forma especial a Gabriela Carli, que desde o início nessa caminhada estávamos trabalhando junto para execução dos nossos trabalhos, passamos pelas mesmas dificuldades, mas uma levantando a outra sempre, obrigado por todos os incentivos, parceria e amizade.

Não poderia também deixar de agradecer ao meu orientador prof. Dr. Leonardo Susumu Takahashi por contribuir na minha formação acadêmica, profissional e confiança depositada. Obrigado por todo o suporte, entendimentos e amizade.

Ao Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista por me proporcionar toda estrutura necessária para o desenvolvimento do projeto de pesquisa.

Deixo também meu agradecimento a empresa parceira Biorigin por acreditar no potencial do projeto e doação do produto β -glucano Macrogard®.

A parceria do prof. Dr. João Paulo da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste, pela paciência e pela colaboração nas análises histomorfológicas.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pela bolsa de mestrado concedida.

Por fim deixo meus sinceros agradecimentos a todos que de alguma forma colaboraram para concretizar esse objetivo em minha vida.

"Ó senhor Deus, eu te agradeço de todo o coração; diante de todos os deuses eu canto hinos de louvor a ti" Salmo 138:1.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT	x
CAPÍTULO 1 - Considerações Gerais.....	1
1.1 - Carboidratos na nutrição de peixes.....	2
1.2 - Glucanos	9
1.3 - Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>): aspectos gerais e os carboidratos em sua nutrição	11
2 - Objetivo	15
2.1 - Objetivo Geral.....	15
2.2 - Objetivos Específicos	15
3 - Referências	15
CAPITULO 2 - O β -glucano melhora o crescimento e reduz os distúrbios metabólicos em tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) alimentada com alto carboidrato	25
RESUMO.....	25
CHAPTER 2 - β -glucan improves growth and reduces metabolic disorders in Nile tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>) fed with high carbohydrate	26
ABSTRACT	26
1 - Introdução	27
2 - Material e métodos.....	28
2.1 - Dietas, animais e condições experimentais.....	28
2.2 - Desempenho de crescimento	32
2.3 - Metabolitos sanguíneos.....	32
2.4 - Reservas energéticas teciduais.....	33
2.5 - Atividade hepática de enzimas-chave das vias metabólicas	33
2.6 - Análise estatística.....	34
3 - Resultados	34
3.1 - Desempenho de crescimento	34
3.2 - Metabolitos sanguíneos.....	36
3.3 Reservas energéticas teciduais	38
3.4 - Atividade hepática de enzimas-chave das vias metabólicas	40
4 - Discussão.....	42
5 - CONCLUSÃO	47

6 - REFERÊNCIAS.....	48
----------------------	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Formulação e composição analisada das dietas experimentais.	30
Tabela 2 - Desempenho produtivo de juvenis de tilápia do Nilo após 77 dias de alimentação com diferentes níveis de glucano (β G) e carboidratos (CHO) na dieta.	35
Tabela 3 - Metabolitos sanguíneos de juvenis de tilápia do Nilo após 77 dias de alimentação com diferentes níveis de glucano (β G) / carboidratos (CHO) na dieta.	36
Tabela 4 - Índice somático e reservas energéticas teciduais de juvenis de tilápia do Nilo após 77 dias de alimentação com diferentes níveis de glucano (β G) / carboidratos (CHO) na dieta.....	38
Tabela 5 - Atividades de enzimas glicolíticas e lipogênicas no fígado de juvenis de tilápia do Nilo após 77 dias de alimentação com diferentes níveis de glucano (β G) / carboidrato (CHO) na dieta.	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema simplificado do metabolismo de carboidratos.	4
Figura 2 - Representação da via da glicólise e Lipogênese (Fonte: Glicólise e lipogênese (Adaptado de DENTIN; GIRARD; POSTIC, 2005).	5
Figura 3 - Interação entre os fatores biológicos, ambientais e nutricionais na utilização de carboidratos em dieta de peixes (Adaptado de KAMALAM; MEDALE; PANSERAT, 2017).	7
Figura 4 - Resumo das características biológicas na utilização de carboidratos em tilápia do Nilo.	14
Figura 5. Efeito da interação entre glucano e carboidratos da dieta para desempenho de crescimento de juvenis de tilápia do Nilo. Médias de 4 repetições (n=4). a, b, c: Indicam médias estatisticamente diferentes entre os níveis de glucano pelo teste Tukey ($P < 0,05$). x, y: Indicam médias estatisticamente diferente entre os níveis de carboidratos pelo teste Tukey ($P < 0,05$). PF, peso final (A); GP, ganho de peso (B); CRT, consumo total de ração (C); CAA, conversão alimentar aparente (D).....	36
Figura 6. Efeito da interação entre glucano e carboidratos da dieta para triglicerídeos séricos de juvenis de tilápia do Nilo. Médias de 4 repetições (n=4). a, b, c: Indicam médias estatisticamente diferentes entre os níveis de glucano pelo teste Tukey ($P < 0,05$). x,y: Indicam médias estatisticamente diferente entre os níveis de carboidratos pelo teste Tukey ($P < 0,05$).	37
Figura 7. Efeito da interação entre glucano e carboidratos da dieta para índice hepatossomático, lipídio hepático e lipídio muscular de juvenis de tilápia do Nilo. Médias de 4 repetições (n=4). a, b, c: Indicam médias estatisticamente diferentes entre os níveis de glucano pelo teste Tukey ($P < 0,05$). x,y: Indicam médias estatisticamente diferente entre os níveis de carboidratos pelo teste Tukey ($P < 0,05$).	39
Figura 8. Efeito da interação entre glucano e carboidratos da dieta para enzimas hepáticas da glicólise de juvenis de tilápia do Nilo. Médias de 4 repetições (n=4). a, b, c: Indicam médias estatisticamente diferentes entre os níveis de glucano pelo teste Tukey ($P < 0,05$). x,y: Indicam médias estatisticamente diferente entre os níveis de carboidratos pelo teste Tukey ($P < 0,05$). GK, glicoquinase (A); HK, hexoquinase (B); PK, piruvato quinase (C).	41
Figura 9. Efeito da interação entre glucano e carboidratos da dieta para enzimas hepáticas da lipogênese de juvenis de tilápia do Nilo. Médias de 4 repetições (n=4). a, b, c: Indicam médias estatisticamente diferentes entre os níveis de glucano pelo teste Tukey ($P < 0,05$). x,y: Indicam médias estatisticamente diferente entre os níveis de carboidratos pelo teste Tukey ($P < 0,05$): G6PDH, glicose-6-fosfato desidrogenase (A); EM, enzima málica (B).	41

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



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 "**Efeito do β -glucano no acúmulo de lipídio corporal em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentadas com baixo e alto teor de carboidratos**", protocolo nº 3554/20, 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 23 de junho de 2020

Vigência do Projeto	20/07/2020 a 20/12/2021
Espécie / Linhagem	Tilápia do Nilo (<i>Oreochromis Niloticus</i>)
Nº de animais	384
Peso / Idade	20g / 90 dias
Sexo	Macho
Origem	Laboratório de Tilapicultura do Centro de Aquicultura da Unesp

Jaboticabal, 23 de junho de 2020.


Profª Drª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

O β -glucano melhora o crescimento e reduz os distúrbios metabólicos em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentada com alto carboidrato

RESUMO - O objetivo deste estudo foi investigar se o β -glucano apresentaria a capacidade de atuar no crescimento e na redução dos distúrbios metabólicos em tilápia do Nilo alimentada com alto carboidrato. 300 juvenis de tilápia do Nilo ($25,39 \pm 0,83$ g) foram alimentados com dietas isoproteicas (28% PD) e isoenergéticas ($3130 \text{ kcal kg}^{-1}$) contendo dois níveis de carboidratos (CHO-L 270 e CHO-H 620 g kg^{-1}) e quatro níveis de β -glucano (β G, 0, 1, 3 e 6 g kg^{-1}). Peixes alimentados com CHO-H apresentaram melhor desempenho de crescimento em relação ao CHO-L, sugerindo que as tilápias estavam utilizando o amido para energia e a proteína para crescimento, por outro lado apresentaram maior ingestão da dieta e pior conversão alimentar. Quando houve a inclusão do β G o desempenho dos peixes alimentados com ambos CHOs se potencializou. Os juvenis de tilápia que receberam a dieta CHO-H apresentando maiores concentrações de triglicerídeos, glicogênio hepático, lipídio hepático e muscular, além de apresentarem maior atividade das enzimas glicose-6-fosfato desidrogenase e enzima málica em relação a dietas CHO-L, indicando que a tilápia direciona os carboidratos para a lipogênese e consegue regular os índices glicêmicos. Contudo, o β G foi capaz de atuar na redução dos níveis de triglicerídeos, índice hepatossômico, lipídio muscular, enzimas glicolíticas (hexoquinase e piruvato quinase) e enzimas lipogênicas (glicose-6-fosfato desidrogenase e enzima málica). Em suma, os resultados mostram que é possível obter um bom crescimento de peixes alimentados com elevado carboidrato. E que o β -glucano se mostrou capaz de proporcionar maior eficiência na utilização das dietas intensificando o crescimento dos peixes e reduzindo as atividades lipogênicas, resultando em menores distúrbios metabólicos causados pelo alto teor de carboidrato da dieta.

Palavras-chave: amido, lipogênese, metabolismo intermediário, nutrição, *Oreochromis niloticus*.

**β -glucan improves growth and reduces metabolic disorders in Nile tilapia
(*Oreochromis niloticus*) fed with high carbohydrate**

ABSTRACT - The aim of this study was to investigate whether β -glucan could act on the growth and reduction of metabolic disorders in Nile tilapia fed with high carbohydrate. 300 Nile tilapia juveniles (25.39 ± 0.83 g) were fed isoprotein (28% PD) and isoenergetic (3130 kcal kg⁻¹) diets containing two levels of carbohydrates (CHO-L 270 and CHO-H 620 g kg⁻¹) and four levels of β -glucan (β G, 0, 1, 3 and 6 g kg⁻¹). Fish fed with CHO-H showed better growth performance compared to CHO-L, suggesting that tilapia were using starch for energy and protein for growth, on the other hand they had higher dietary intake and worse feed conversion. When there was the inclusion of β G, the performance of fish fed with both CHOs was enhanced. Tilapia juveniles that received the CHO-H diet showed higher concentrations of triglycerides, liver glycogen, liver and muscle lipids, in addition to showing higher activity of the enzymes glucose-6-phosphate dehydrogenase and malic enzyme in relation to CHO-L diets, indicating that tilapia directs carbohydrates to lipogenesis and manages to regulate glycemic indices. However, β G was able to act in the reduction of triglyceride levels, hepatosomatic index, muscle lipid, glycolytic enzymes (hexokinase and pyruvate kinase) and lipogenic enzymes (glucose-6-phosphate dehydrogenase and malic enzyme). In summary, the results show that it is possible to obtain good growth from fish fed with high carbohydrates. And that β -glucan was able to provide greater efficiency in the use of diets, intensifying fish growth and reducing lipogenic activities, resulting in less metabolic disturbances caused by the high carbohydrate content in the diet.

Keywords: starch, lipogenesis, intermediary metabolism, nutrition, *Oreochromis niloticus*.

CAPÍTULO 1 - Considerações Gerais

A aquicultura é a produção animal que mais cresce no Brasil e que possui papel fundamental no suprimento das necessidades alimentares atuais e futuras do mundo (BERNATCHEZ et al., 2017), sendo importante fonte de proteínas, lipídios e micronutrientes essenciais à saúde humana (CARBONE; FAGGIO, 2016). Nesse sentido, Haygood e Jha (2018) relataram que a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma das espécies mais difundidas, sendo esperado uma produção de cerca de 62% da produção total da aquicultura mundial em 2030 para atender à crescente demanda por peixe pela população humana. Embora a tilápia tenha um pacote tecnológico bem desenvolvido, ainda são necessárias pesquisas em diversas áreas para aumentar sua produtividade com baixos custos de produção, contribuindo para alcançar a estabilidade ou redução dos preços, expandindo assim o mercado global da espécie (BOONANUNTANASARN et al., 2018a).

A alimentação de peixes em sistemas intensivos de produção é feita exclusivamente com rações, podendo representar até 70% dos custos totais de produção (BOLIVAR et al., 2010), sendo os ingredientes proteicos o componente mais oneroso. A partir disso, afim de reduzir os níveis de proteína, a utilização de ingredientes energéticos não proteicos, como os carboidratos, se torna uma alternativa interessante por serem considerados fontes mais baratas de energia, além da tilápia do Nilo utiliza-la eficientemente como principal fonte de energia (KAMALAM; MEDALE; PANSEERAT, 2017). Quando a taxa de conversão de proteínas em energia diminui, a proteína da dieta pode ser usada para o crescimento e a formação de tecidos, em um processo conhecido como efeito poupador de proteína (HEMRE; MOMMSEN; KROGDAHL, 2002).

Contudo, a ingestão excessiva de carboidratos pode acarretar no acúmulo de gordura hepática e corporal em peixes, acompanhada por crescimento deficiente, baixa sobrevivência e menor resistência a patógenos (LI et al., 2016; TIAN et al., 2012; ZAMORA-SILLERO et al., 2013). O excesso de gordura não é uma característica desejável, sendo importante manter níveis que não afetem as propriedades organolépticas da carne e o rendimento de filé, e consequentemente não comprometam o valor comercial do peixe (MEURER et al., 2002).

O acúmulo de lipídios hepáticos é um processo complexo, que envolve transporte de lipídios, captação, síntese e catabolismo (SHEARER et al., 2012), assim, qualquer desequilíbrio que ocorra em relação aos níveis de carboidratos e lipídios na dieta, e suas proporções, podem ter efeito direto nas vias metabólicas (XIE et al., 2017), representando perdas econômicas significativas na aquicultura.

Alguns estudos encontraram uma associação entre altos níveis de carboidratos na dieta e aumento na expressão ou atividades de algumas enzimas relacionadas a lipogênese em peixes (CASTRO et al., 2016; DIAS et al., 2004; VIEGAS et al., 2016). A crescente incidência de doença hepática gordurosa em criação de peixes despertou investigações sobre os mecanismos subjacentes da doença e sobre os possíveis meios para solucionar esse problema (HUANG et al., 2018).

Nessa tentativa, propomos o uso de um dos principais aditivos utilizados na aquicultura e que possui efeito prebiótico e imunomodulador, o β -glucano. Este é um polissacarídeo obtido através da parede celular de levedura, fungos, algas e alguns cereais, que se diferenciam pelo tipo de ligação entre as unidades de glicose da cadeia principal e pelas ramificações que se aderem a essa cadeia (MAGNANI; CASTRO-GOMEZ, 2008). Os efeitos benéficos da dieta com prebióticos na saúde hepática e obesidade foram demonstrados em humanos (PARNELL et al., 2012; KONDEPUDI et al., 2015) e em peixe (*Micropterus salmoides*) (YU et al., 2019).

Os resultados utilizando o β -glucano demonstram que o seu uso atua de maneira positiva no crescimento (PILARSKI et al., 2017; DO HUU; SANG; THUY, 2016; SELIM; REDA, 2015), resistência à patógenos e sobrevivência (AMPHAN et al., 2019; SANG; FOTEDAR, 2010) em várias espécies de peixes. Entretanto, informações sobre seus efeitos para regulação do metabolismo de carboidratos e lipídios em peixes é atualmente desconhecido. Portanto, considerando o seu efeito potencial é necessário explorar melhor seu papel metabólico na redução de lipogênese e outros fatores subjacentes em peixes cultivados.

1.1 - Carboidratos na nutrição de peixes

Os carboidratos são compostos orgânicos de ocorrência natural, que contém carbono, hidrogênio e oxigênio em proporções que podem ser representados pela fórmula empírica $(CH_2O)^n$ (KAMALAM; MEDALE; PANSEERAT, 2017). É considerado o principal componente energético das dietas, e entre as diferentes formas que são abundantes em fontes vegetais, apenas açúcares e amidos possuem valor nutritivo aos peixes (KAUSHIK, 2001; NRC, 2011; STONE, 2003). Os monossacarídeos são os carboidratos mais simples, representados pela glicose e frutose, os oligossacarídeos se caracterizam por carboidratos de cadeia curta, cujo principal representante é a sacarose e a celobiose, e os polissacarídeos incluem carboidratos com cadeias maiores, constituídos pelo amido e pelos polissacarídeos não amiláceos (FORTES; ROSA, 2016).

Nos peixes, a digestão dos carboidratos se inicia no intestino e cecos pilóricos quando presentes, em razão da presença de enzimas como α -amilase, quitinase, lisozima, celulase e outras polissacaridases (KROGDAHL; HEMRE; MOMMSEN, 2005), dependendo do hábito alimentar. A α -amilase é encontrada em diversas partes do sistema digestório de distintas espécies de peixes, sendo o pâncreas exócrino o principal local de produção (KROGDAHL; HEMRE; MOMMSEN, 2005). Esta enzima hidrolisa ligações glicosídicas α -1,4 presentes no amido (KROGDAHL; HEMRE; MOMMSEN, 2005), liberando dissacarídeos como maltose, maltotriose e dextrina. As dissacaridases como maltase e isomaltase, localizadas na borda em escova dos enterócitos, continuam o processo de digestão dos carboidratos, hidrolisando dissacarídeos em monossacarídeos (KROGDAHL; HEMRE; MOMMSEN, 2005).

A absorção dos monossacarídeos através da borda em escova acontece por difusão facilitada, por meio de transportadores de membrana, com características diferentes ao longo do intestino (KROGDAHL; HEMRE; MOMMSEN, 2005). Estas proteínas transportadoras de D-glicose nos peixes são similares às encontradas nos mamíferos, isto é, dependentes de sódio (Na^+) com gasto indireto de energia (COLLIE; FERRARIS, 1995). O transporte de glicose através da membrana basolateral (do enterócito para o sangue) é facilitado e independente do sódio, assim como em mamíferos (COLLIE; FERRARIS, 1995). Modificações na dependência do sódio podem mostrar que as partes distais do

intestino são mais eficientes na absorção de glicose do que nos cecos pilóricos e parte proximal do intestino (KROGDAHL; HEMRE; MOMMSEN, 2005).

Ao ser ingerido pelos peixes é absorvido como glicose, aumentando imediatamente seu nível no sangue (WILSON; POE, 1987; GOUVEIA; DAVIES, 2004), a glicose, por sua vez, pode ser utilizada pelo peixe como fonte imediata de energia, armazenada na forma de glicogênio hepático, utilizada para a síntese de compostos como triacilgliceróis e aminoácidos não essenciais, ou ainda, ser excretada (DENG; REFSTIE; HUNG, 2001).

Quando há o excesso de glicose, esta é armazenada no organismo dos animais na forma de glicogênio (CAMPBELL, 2005), assim, as moléculas de glicose se unem formando polímero de glicogênio (polissacarídeo), ocorrendo o processo chamado de glicogênese (PRATT, 2014). O glicogênio hepático atua na manutenção dos níveis de glicose no sangue entre as refeições (SILVA, 1999), sendo fundamental um suprimento constante de glicose (PRATT, 2014). Quando os níveis de energia estão baixos, ocorre a glicogenólise, que é a quebra de glicogênio (GUYTON; HALL, 2017), conforme representação na Figura 1.

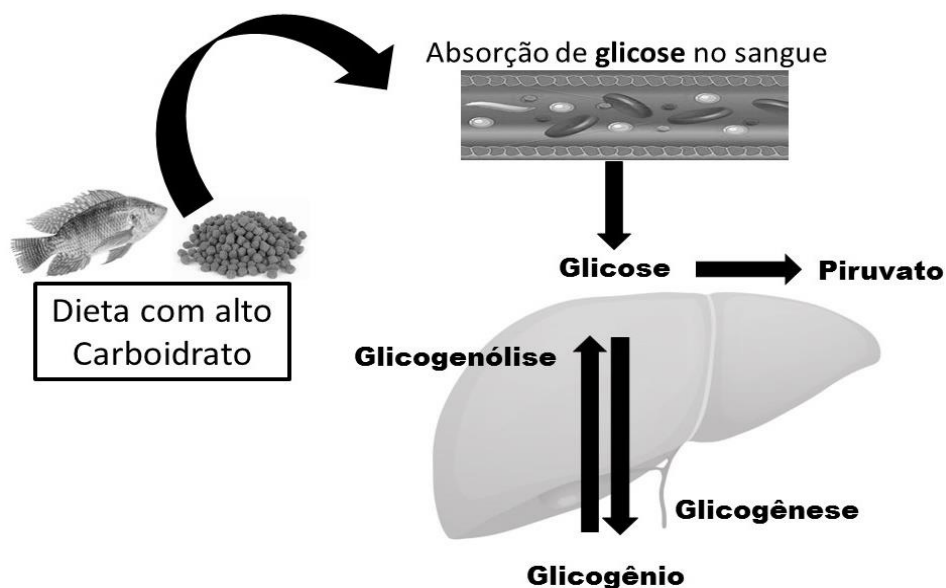


Figura 1 - Esquema simplificado do metabolismo de carboidratos.

O fígado desempenha importante função no metabolismo de carboidratos, a de regulação da glicemia. Tais processos são controlados enzimas através de mecanismos específicos de curto e longo prazo (PILKIS; CLAUS, 1991). Em

suma, a glicólise é o processo de catabolismo da glicose, em que uma molécula de glicose (6C) é convertida em duas moléculas de piruvato (3C). A regulação da via glicolítica é dependente de enzimas chaves como a hexoquinase (HK; EC 2.7.1.1), ou glicoquinase (GK; EC 2.7.1.2), enzimas responsáveis por catalisar a primeira reação da glicólise, originando a glicose-6-fosfato, molécula que pode ser utilizada na via glicolítica ou na glicogênese e via das pentoses fosfato. A enzima fosfo-hexose-isomerase (PFK; EC 2.7.1.11) catalisa a fosforilação da frutose-6-fosfato em frutose-1,6-bifosfato e a piruvato quinase (PK; EC 2.7.1.40), enzima glicolítica que catalisa a última etapa da glicólise, a conversão de fosfoenolpiruvato em piruvato (ENES et al., 2009). Todo esse processo da via da glicólise está representado na Figura 2.

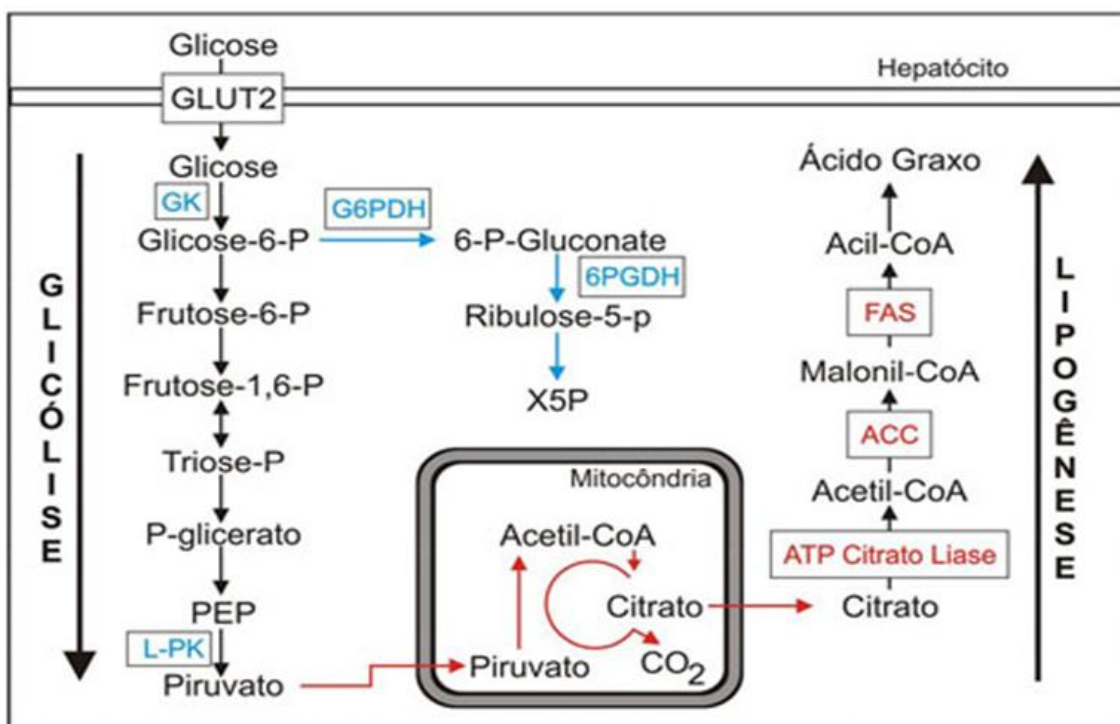


Figura 2 - Representação da via da glicólise e lipogênese (Fonte: Glicólise e lipogênese (Adaptado de DENTIN; GIRARD; POSTIC, 2005).

A enzima chave GK é caracterizada por uma baixa afinidade pela glicose (K_m alto) e sua atividade é induzida em várias espécies de peixes (ENES et al., 2009). Estudos mostraram aumento da atividade da GK hepático com o aumento de carboidrato na dieta (PEREIRA et al., 2020; CHENG et al., 2017; AZAZA et al., 2015; ENES et al., 2008). Por outro lado, a atividade de HK que apresenta baixo K_m , não foi afetada pelo amido da dieta em diversos estudos (COUTINHO

et al., 2016; LI et al., 2016; ENES et al., 2008; ENES et al., 2006; MOREIRA et al., 2008; PANSERAT et al., 2000), provavelmente por causa de seu Km baixo e saturação resultante mesmo no nível de glicose sanguínea basal (ENES et al., 2009, WILSON, 1994).

O aumento da glicólise e a inibição da gliconeogênese podem promover a utilização de carboidratos, é o que Boonanuntanasarn et al. (2018) constatou em estudo a longo prazo com tilápia do Nilo alimentada com alto carboidrato. Segundo eles, a ingestão de carboidratos está associada à diminuição da gliconeogênese hepática, indução da lipogênese hepática e regulação da última etapa da glicólise no tecido muscular. Esta capacidade de adaptação das enzimas hepáticas ao aumento dos níveis de carboidratos na dieta foi relatada por espécies de peixes herbívoros e onívoros, como carpa (SHIMENO et al., 1981), bagre do canal, (LIKIMANI; WILSON 1982) e tilápia do Nilo (AZAZA et al., 2015).

Contudo, como em outros vertebrados, os peixes podem sobreviver e crescer quando alimentados com dietas sem carboidratos, isto é, eles não possuem uma exigência dietética para este nutriente devido à sua capacidade de sintetizar glicose a partir de outros precursores, como lactato, piruvato e aminoácidos (NRC, 2011). Por outro lado, foi relatado que peixes alimentados em níveis adequados de carboidratos apresentaram melhor desempenho em relação aos que não receberam dieta contendo esse nutriente (HEMRE; MOMMSEN; KROGDAHHL, 2002).

O aumento do teor de energia da dieta, seja por meio da suplementação de lipídios ou carboidratos, é possível reduzir o teor de proteína sem prejudicar o desenvolvimento, reprodução e saúde dos peixes processo esse, denominado de efeito poupador de proteína (OVIE et al., 2005; GARCÍA-MEILÁN et al., 2014; ZHENYAN et al., 2017). Entretanto, a inclusão de carboidratos na dieta deve ser limitada para algumas espécies, devido ao não aproveitamento desta fonte de maneira eficiente para produção de energia. A extensão em que os carboidratos podem ser utilizados para atender as necessidades de energia varia muito entre as espécies, dependendo de inúmeros fatores relacionados a biologia, dieta e ambiente. A representação diagramática (Figura 3) mostra a interação complexa de todos esses fatores que desempenha papel importante na capacidade do

peixe em usar uma dieta rica em carboidratos (KAMALAM; MEDALE; PANSERAT, 2017).



Figura 3 - Interação entre os fatores biológicos, ambientais e nutricionais na utilização de carboidratos em dieta de peixes (Adaptado de KAMALAM; MEDALE; PANSERAT, 2017).

Estudos anteriores demonstraram que a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), espécie carnívora, possui limitações metabólicas em utilizar eficientemente os carboidratos na dieta (KAMALAM; MEDALE; PANSERAT, 2017; POLAKOF et al., 2012). A espécie apresenta uma regulação molecular atípica das vias metabólicas que explicam a baixa eficiência na utilização dos carboidratos, como: inibição molecular da gliconeogênese hepática (PANSERAT et al., 2000; MARANDEL et al., 2015) e baixa indução molecular da lipogênese hepática (PANSERAT et al., 2009). O melhor uso de carboidratos na dieta é verificado em peixes de hábito alimentar onívoro, como a carpa comum (*Cyprinus carpio*) (LI et al., 2013), tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (BOONANUNTANASARN et al., 2018a) e pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (TAKAHASHI et al., 2018).

A partir disso, devido a tendência de se utilizar altos níveis de carboidratos em dietas para peixes, houve aumento de distúrbios metabólicos, como a deposição de lipídios no fígado e na carcaça, que geralmente resultam em

sistema imunológico enfraquecido, alta mortalidade e baixa qualidade dos peixes cultivados, consequentemente causando perdas econômicas para a indústria (HUANG et al., 2018).

A gordura utilizada como forma de armazenamento de energia nos organismos aquáticos é procedente dos ácidos graxos e estes, por sua vez, são ácidos carboxílicos com cadeias hidrocarbonadas de comprimento variado de C₄ a C₃₆ carbonos em que as cadeias podem ser totalmente saturadas e não ramificadas, com ligações duplas, com anéis de três carbonos, grupos hidroxila ou ramificações do grupo metila (NELSON; COX, 2014). As características organolépticas e nutricionais da carne são dependentes da composição química dos peixes que, por sua vez depende da composição da dieta e do manejo alimentar (GRIGORAKIS, 2007; CORRÊA et al., 2013).

O excesso de gordura corporal e visceral contribuí para perda da qualidade da carne devido ao processo de rancificação provocado pela oxidação de ácidos graxos durante o armazenamento e consequentemente, menor tempo de prateleira do peixe e seus derivados, além de alterar sua textura (CHOU; SHIAU, 1996; HAYASHI et al., 2002). Outro ponto negativo é que a gordura ao acumular-se principalmente na cavidade abdominal, reduz a porcentagem do rendimento de filé, afetando o valor comercial do peixe (MEURER et al., 2009). Isto decorre, pelo excesso de glicose resultante do suprimento excessivo de carboidratos na dieta que pode estar relacionado à síntese de glicogênio ou à lipogênese para armazenar energia (WANG et al., 2017).

Estudos têm demonstrado que a atividade de enzimas lipogênicas hepáticas é modificada em peixes que recebem dietas com altos teores de lipídios e/ou carboidratos (SULAIMAN et al., 2020; AZAZA et al., 201; LU et al., 2016). O aumento da glicose circulante produz excesso de energia (ATP e NADH) e, também, de acetil-CoA, inibindo o ciclo de Krebs e promovendo a lipogênese (NELSON; COX, 2002).

O acetil-CoA se liga ao oxaloacetato formando citrato, que é permeável à membrana da mitocôndria. No citosol, o citrato sofre clivagem, produzindo oxaloacetato novamente, e então é reduzido a malato. Em seguida, a enzima málica faz a catalização da oxidação a piruvato. O NADPH é um substrato com ação redutora importante na síntese de ácidos graxos. Ele é fornecido pela ação da enzima málica e na via das pentoses, sendo esta última dependente da

enzima glicose-6- fosfato desidrogenase (G6PD) (NELSON; COX, 2002), sendo essas enzimas essenciais para a biossíntese de ácidos graxos (LIN; SHIAU 1995; ENES et al., 2009; LU et al., 2018).

A FAS (ácido graxo sintetase) é uma enzima que também desempenha um importante papel no processo da lipogênese, convertendo o acetil-CoA e malonil-CoA no produto final, palmitato, e posteriormente esterificado em triacilglicerol e armazenado no tecido adiposo (TIAN et al., 2013).

1.2 - Glucanos

Atualmente, uma atenção crescente tem sido focada no uso de suplementos alimentares funcionais, como prebióticos, probióticos e imunoestimulantes na aquicultura (CARBONE; FAGGIO, 2016). Esses compostos promovem a melhoria do estado imunológico, a eficiência alimentar e o desempenho de peixes (MEENA et al., 2013). Entre esses aditivos, os β -glucanos vem obtendo destaque na piscicultura. Podem ser distinguidos pela forma como as moléculas de glicose estão ligadas entre si. Na maior parte dos polissacarídeos, as moléculas de glicose estão unidas por ligações α -1,4, atribuindo-lhes uma estrutura linear, já nos β -glucanos estas moléculas unem-se por ligações β -1,3 e β -1,6 o que lhes confere uma estrutura helicoidal (ROBERTSEN et al., 1990). É formado por uma cadeia linear de poliglicoses, oriundo de leveduras, algas e fungos podendo também ser encontrado em cereais, principalmente, aveia e cevada (ROBERTSEN, 1999; MEENA et al., 2013). Uma importante fonte de β -glucano é a parede celular de levedura *Saccharomyces cerevisiae*, sendo o imunoestimulante mais utilizado na aquicultura (THOMPSON, 2017), e que para as condições brasileiras possui grande disponibilidade devido a produção de cana-de-açúcar para obtenção do etanol, sendo a levedura um subproduto (SILVA, 2009). De acordo com Hough (1990) a parede celular de levedura é composta por 40,0% de β -glucana, 40,0% de α -manana, 8,0% de proteína, 7,0% de lipídio e 3,0% de substância inorgânica.

Nos peixes, eles atuam sobre mecanismos de defesa inespecíficos, promovendo a atividade fagocítica dos macrófagos (PAULSEN; ENGSTAD; ROBERTSEN, 2001; GOPALAKANNAN; ARUL, 2010), assim como, a liberação

de lisozimas e citocinas (SECOMBES; FLETCHER, 1992). Além disso, Selim e Reda (2015) relatam que a inclusão de β -glucano resulta em melhor altura das vilosidades intestinais e na densidade de microvilos. Segundo Zhu et al. (2012), o intestino possui papel fundamental na digestão e absorção de nutrientes, e a função digestiva se correlaciona com o desenvolvimento intestinal para absorção de nutrientes, aumentando a altura da vilosidade intestinal.

Devido às suas características como potente imunoestimulante, o β -glucano vem sendo alvo de muitos estudos, e os resultados demonstram que ele atua no crescimento e saúde de tilápias do Nilo. Welker et al. (2012) ao adicionar 1% de β -glucano para juvenis de tilápias obtiveram melhorias no desempenho zootécnico. Dawood et al. (2019) também obtiveram resultados positivos na inclusão dietética de β -glucano a 1%, promovendo melhor desempenho, atividade de enzimas digestivas e comprimento das vilosidades em relação aos peixes não suplementados. Whittington, Lim e Klesius (2005) ao determinar o efeito dos níveis de β -glucano (0,0; 0,05; 0,1 e 0,2%) no desempenho, resposta imune e resistência da tilápia a *Streptococcus iniae*, observaram que os níveis avaliados não influenciaram no ganho de peso e sobrevivência, bem como, não tiveram efeito sobre a estimulação da resposta inespecífica ao anticorpo de *S. iniae* e resistência da tilápia do Nilo contra a infecção por *S. iniae*. Dawood et al. (2020) analisaram o papel protetor do β -glucano na função hepática, histopatologia, genes relacionados a imunologia e expressões antioxidantes em tilápia expostas a deltametrina subaguda. Os peixes expostos a deltametrina apresentaram danos no intestino, baço, fígado e brânquias, mas o glucano mostrou alívio significativo de danos nos mesmos tecidos.

Um número crescente de evidências também sugere que os β -glucanos podem afetar profundamente o metabolismo de carboidratos em humanos e possuem importante papel em doenças relacionadas as síndromes metabólicas (CORREDOR-CASTILHO, 2016). Do ponto de vista da absorção intestinal, estudos em humanos relatam que os β -glucanos podem ser fermentados pela microbiota intestinal, aumentando a taxa de crescimento e a produção de microrganismos ácido-lácticos (KEDIA; VÁZQUEZ; PANDIELLA et al., 2008).

Segundo El Khoury et al. (2012), os β -glucanos formam soluções extremamente viscosas no intestino humano, e retardam a taxa de esvaziamento gástrico, o que seria a base dos efeitos benéficos do imunoestimulante. Além do

mais, em ratos o β -glucano foi capaz de reduzir os níveis de triglicerídeos e o acúmulo de colesterol no fígado (WASZKIEWICZ-ROBAK; BARTNIKOWSKA, 2009). De Araújo et al. (2017) investigaram os efeitos dos β -glucanos (*Saccharomyces cerevisiae*) nos parâmetros metabólicos de ratos Wistar recebendo dieta hiperlipídica. O β -glucano promoveu efeitos metabólicos benéficos nos ratos. Estudos relacionados ao uso de β -glucano nas respostas metabólicas de carboidratos, no acúmulo de gordura corporal e esteatose hepática em tilápia do Nilo são inexistentes na literatura, contudo, diante do exposto, há indícios de que o aditivo em questão pode alterar a dinâmica dos estoques lipídicos em peixes.

1.3 - Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*): aspectos gerais e os carboidratos em sua nutrição

A tilápia do Nilo, originária de rios e lagos africanos, pertence à família dos ciclídeos, e é um dos peixes mais importante para o consumo humano no mundo. É conhecida popularmente por apresentar excelentes características favoráveis a criação comercial, além de possuir uma carne branca com boas características organolépticas e não apresentar espinhos em forma de “Y”, facilitando o processamento do seu filé (SIMÕES et al., 2007). Seu ciclo de vida é rápido e se adapta às inúmeras condições de criação, desde tanques escavados, tanque-rede até “raceways”, nas diferentes regiões do país (TURRA et al., 2010).

Além de diversas outras características benéficas a sua criação, estes atributos contribuem para a espécie ser uma das mais produzidas no mundo, ocupando o terceiro lugar de produção, atingindo o valor de 4,5 milhões de toneladas produzidas mundialmente em 2018 (FAO, 2020). Cerca de 22 espécies são cultivadas globalmente, e as tilápias do gênero *O. niloticus* são as mais utilizadas na piscicultura representando 90% das tilápias criadas comercialmente (EL-SAYED, 2006; WANG; LU, 2016). No Brasil, este peixe representa a principal espécie cultivada, apresentando em 2017 aumento de 14,2% comparado com 2016 (IBGE, 2017). Em 2020, se destacou com uma produção de 486.155 toneladas, representando 60,6%, com esse excelente desempenho, a espécie consolidou-se ainda mais no cenário nacional (PEIXE

BR, 2021). A tilapicultura representa papel cada vez mais significativo na economia de muitas regiões brasileiras ao longo das últimas duas décadas, assim, o estudo da nutrição e alimentação de tilápias é, ano após ano, o foco de muitos grupos de pesquisa (FURUYA, 2013).

A tilápia apresenta hábito alimentar onívoro, com pH estomacal baixo, intestino longo e abundante distribuição de enzimas (RUST, 2002; TENGJAROENKUL et al., 2000) que permite assimilar com facilidade os nutrientes da dieta, contribuindo para o rápido crescimento (FURLANETO et al., 2009), inclusive sendo capaz de aproveitar eficientemente o amido como fonte de energia (CHEN et al., 2020). Dessa forma, o bom desempenho da tilápia do Nilo pode ser obtido mesmo com menor teor de proteína na dieta e com níveis suficientes de carboidratos, o que pode ser útil para reduzir o custo da alimentação dos peixes e mitigar os impactos ambientais através da perda de nitrogênio, que por sua vez pode resultar em eutrofização da água (AZAZA et al., 2015). Ademais, com o aumento de amido na dieta, há uma tendência em melhor taxa de eficiência proteica, o que significa que o carboidrato pode poupar proteína da dieta (AZAZA et al., 2015).

Para a tilápia do Nilo, 20% de amido na dieta é o suficiente para obter crescimento normal, pois a suplementação de amido adequada ajuda a promover o crescimento da espécie (WANG et al., 2017). Boonanuntanasarn et al. (2018b) também sugerem que a incorporação de um certo nível de amido na dieta pode beneficiar a tilápia, porém, se a proporção de carboidratos for muito alta e simultaneamente a proteína for muita baixa, não promoverá o máximo crescimento. Em seu estudo com o objetivo de avaliar os efeitos à longo prazo de diferentes níveis de carboidratos e proteína (14 CHO/ 63; 32 CHO/ 45 P e 50 CHO/ 27 P) os dados apontaram que o equilíbrio entre proteínas e carboidratos para melhor desempenho da tilápia do Nilo foi de 45% P/ 33% de CHO. E a dieta com alto carboidrato (50 CHO) exibiu um aumento significativo na deposição lipídica em todo o corpo, tecidos musculares e hepáticos. Isso devido ao aumento da capacidade lipogênica, refletida nos níveis mais altos de mRNA da atividade ácido graxo hepático sintase, assim como níveis mais altos de triglicerídeos plasmáticos (BOONANUNTANASARN et al., 2018b).

Chen et al. (2020) ao avaliar o efeito de três dietas práticas contendo 13,1% de amido e 38,2% proteína; 22,5% de amido e 34,5% de proteína e 32,3%

de amido e 30,5% de proteína em tilápia do Nilo com 23 g durante oito semanas, concluíram que a tilápia se adaptou metabolicamente a um aumento no nível de amido na dieta de 13,1% para 32,3% promovendo o armazenamento e utilização periférica de glicose, consequentemente melhorando a tolerância à glicose e a retenção de proteínas, embora as porcentagens lipídicas e as concentrações de glicogênio no fígado e músculo branco foram elevadas quando o nível de amido na dieta aumentou de 13,1% para 32,3%.

Xie et al. (2017) formularam seis dietas para tilápia do Nilo contendo relações CHO/Lipídio de: 11,22/ 0,52; 20,97/ 1,14; 28,83/ 1,95; 37,54/ 3,41; 45,61/ 6,40 e 54,24/ 20,09. E observaram que altas taxas de CHO/L na dieta (> 3,41) aceleraram a deposição lipídica hepática aumentando a lipogênese *de novo* e reduzindo a β -oxidação de ácidos graxos e depuração de lipoproteínas no fígado, o que pode implicar que os carboidratos da dieta tenham um efeito mais forte no acúmulo de lipídios hepáticos.

Diante do exposto, níveis altos de carboidratos na dieta de tilápia do Nilo indicam que ela se adapta bem metabolicamente, exibindo características que permitem o uso eficiente da glicose como fonte de energia (Figura 4), entretanto, resulta em maior deposição lipídica na carcaça e fígado, maior deposição de glicogênio e índice hepatossomático mais elevado, bem como uma relação positiva entre os níveis plasmáticos de glicose, triglicerídeos e colesterol total, atividades hepáticas, ácidos graxos sintetase (FAS), glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) e da lipoproteína lipase (FERNANDÉZ et al., 2007; ZHOU et al., 2013; ZENG et al., 2015; WANG et al., 2017). A deposição excessiva de gordura constitui em desperdício de energia, visto que, há pouco sentido em fornecer um nutriente que produz energia que é simplesmente depositado no fígado ou na massa visceral (HANSEN et al., 2008).

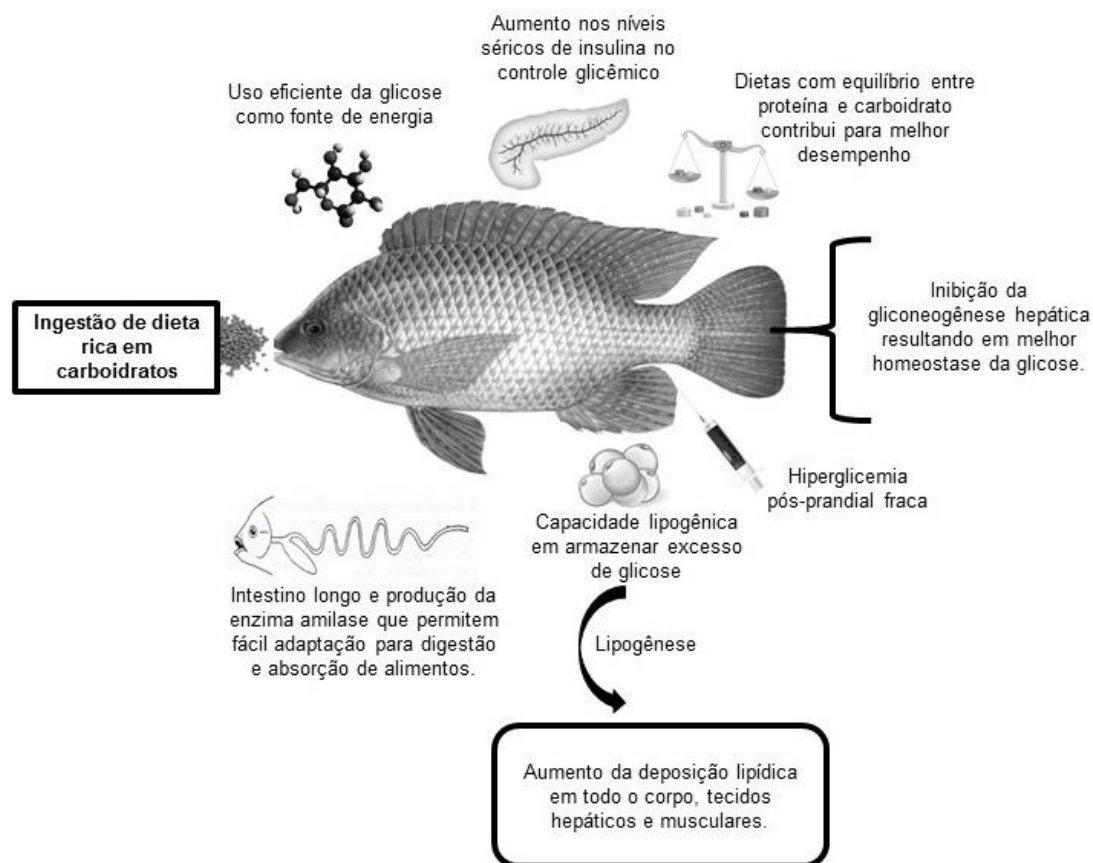


Figura 4 - Resumo das características biológicas na utilização de carboidratos em tilápia do Nilo.

Dessa maneira, a fim de solucionar a disfunção hepática e o acúmulo de gordura corporal em tilápia do Nilo, alguns estudos foram realizados. Junior et al. (2016) fizeram a suplementação de dois níveis de colina (0,0 e 1.000 mg kg⁻¹ da dieta) e cinco níveis de proteína digestível (24, 26, 28, 30 e 32%). Os resultados demonstraram que a colina não foi eficaz na proteção da esteatose hepática em tilápia. Zhang et al. (2019a) alimentaram tilápias com dietas ricas em gordura por seis semanas e em seguida, utilizaram forskolina na dose de 0,0, 0,5 ou 1,5 mg kg⁻¹. O uso da forskolina reduziu o acúmulo de gordura e promoveu o catabolismo lipídico. O uso de aditivos alimentares também tem sido utilizado com o objetivo de diminuir a esteatose hepática, como o óleo de diacilglicerol, no qual Zhang et al. (2019b) utilizaram 0,5% em dietas para tilápia, e observaram redução no acúmulo de gordura e aumento de proteína corporal. Huang et al. (2018) utilizaram um extrato derivado da erva *Sedum sarmentosum* Bunge em tilápias alimentadas com dietas ricas em gordura e obtiveram resultados positivos, em que a erva *Sedum* melhorou os parâmetros da função hepática.

Apesar desses estudos acerca da problemática, até o presente momento nenhum trabalho testou o β -glucano como possível redutor de gordura corporal e hepática em tilápias do Nilo alimentada com dieta rica em carboidrato, esse aditivo pode reduzir a esteatose hepática e contribuir para melhor compreensão da doença na espécie em questão. Ademais, os aditivos utilizados nos estudos acima citados ficariam inviáveis de serem utilizados em dietas práticas por não apresentarem grandes produções que atenderiam fábricas de ração, ao contrário do β -glucano, produto consolidado no mercado.

2 - Objetivo

2.1 - Objetivo Geral

Estudar o efeito do β -glucano nos estoques lipídicos de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com diferentes teores de carboidratos na dieta (*Oreochromis niloticus*).

2.2 - Objetivos Específicos

- Avaliar se o β -glucano reduziria os efeitos adversos causados pelo alto carboidrato da dieta;
- Provocar a lipogênese nas tilápias do Nilo alimentada com alto teor de carboidrato;
- Verificar se o β -glucano atuaria na redução de enzimas chaves hepática do metabolismo intermediário relacionados a via glicolítica e da lipogênese.

3 - Referências

AMPHAN, S. et al. Feeding-regimen of β -glucan to enhance innate immunity and disease resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* Linn., against *Aeromonas hydrophila* and *Flavobacterium columnare*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 87, p. 120-128, 2019.

AZAZA, M. S. et al. Growth performance, oxidative stress indices and hepatic carbohydrate metabolic enzymes activities of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis*

niloticus L., in response to dietary starch to protein ratios. **Aquaculture research**, v. 46, n. 1, p. 14-27, 2015.

BERNATCHEZ, L. et al. Harnessing the power of genomics to secure the future of seafood. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 32, p. 665-680, 2017.

BOONANUNTANASARN, S. et al. Molecular responses of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to different levels of dietary carbohydrates. **Aquaculture**, v. 482, p. 117-123, 2018a.

BOONANUNTANASARN, S. et al. Adaptation of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to different levels of dietary carbohydrates: New insights from a long term nutritional study. **Aquaculture**, v. 496, p. 58-65, 2018b.

BOLIVAR, Remedios B. et al. **Estratégias de redução da alimentação e alimentos alternativos para reduzir os custos de produção da cultura da tilápia**. Relatórios técnicos: Investigações 2007–2009, 2010.

BRITTO, A. C. P. et al. Rendimento corporal e composição química do filé da viola (*Loricariichthys anus*). **Ciência Animal Brasileira**, v. 15, 2014.

CAMPBELL, M. K. **Bioquímica**. 3. ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2005.

CARBONE, D.; FAGGIO, C. Importance of prebiotics in aquaculture as immunostimulants. Effects on immune system of *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 54, p. 172-178, 2016.

CASTRO, C. et al. Regulation of glucose and lipid metabolism by dietary carbohydrate levels and lipid sources in gilthead sea bream juveniles. **British Journal of Nutrition**, v. 116, p. 19-34, 2016.

CHEN, J. X. et al. Starch to protein ratios in practical diets for genetically improved farmed Nile tilapia *Oreochromis niloticus*: Effects on growth, body composition, peripheral glucose metabolism and glucose tolerance. **Aquaculture**, v. 515, p. 734-738, 2020.

CHENG, Z. et al. Verification of protein sparing by feeding carbohydrate to common carp *Cyprinus carpio*. **Chinese journal of oceanology and limnology**, v. 35, p. 251-257, 2017.

CHOU, B. S.; SHIAU, S. Y. Optimal dietary lipid level for growth of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*. **Aquaculture**, v. 143, p. 185-195, 1996.

COLLIE, N. L.; FERRARIS, R. P. Nutrient fluxes and regulation in fish intestine. In: **Biochemistry and molecular biology of fishes**. Elsevier, 1995. p. 221-239.

CORRÊA, C. F. et al. Rendimento de carcaça, composição do filé e análise sensorial do robalo-peva de rio e de mar. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 39, p. 401-410, 2018.

CORREDOR-CASTILLO, A. S. **Efeito do β -glucano dietético na dinâmica metabólica, na resposta imunológica inata e no desempenho do pacu (*Piaractus mesopotamicus*) após ciclos curtos de jejum e realimentação**. 2016. 70 f. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Centro de aquicultura da Unesp, Jaboticabal, 2016.

COUTINHO, F. et al. Metabolic responses to dietary protein/carbohydrate ratios in zebra sea bream (*Diplodus cervinus*, Lowe 1838) juveniles. **Fish physiology and biochemistry**, v. 42, n. 1, p. 343-352, 2016.

DAWOOD, M. A. O et al. The influence of dietary β -glucan on immune, transcriptomic, inflammatory and histopathology disorders caused by deltamethrin toxicity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 98, p. 301-311, 2020.

DAWOOD, M. A. O et al. Synbiotic Effects of *Aspergillus oryzae* and β -Glucan on Growth and Oxidative and Immune Responses of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Probiotics and antimicrobial proteins**, p. 1-12, 2019.

DE ARAÚJO, T. V. et al. Effects of beta-glucans ingestion (*Saccharomyces cerevisiae*) on metabolism of rats receiving high-fat diet. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 101, p. 349-358, 2017.

DENG, D. F.; REFSTIE, S.; HUNG, S. S. O. Glycemic and glycosuric responses in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) after oral administration of simple and complex carbohydrates. **Aquaculture**, v. 199, p. 107-117, 2001.

Dentin, R.; Girard, J.; Postic, C. Carbohydrate responsive element binding protein (ChREBP) and sterol regulatory element binding protein-1c (SREBP-1c): two key regulators of glucose metabolism and lipid synthesis in liver. *Biochimie*, v.87, 81-86, 2005.

DIAS, J. et al. Effect of dietary carbohydrate-to-lipid ratios on growth, lipid deposition and metabolic hepatic enzymes in juvenile Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup). **Aquaculture Research**, v. 35, p. 1122-1130, 2004.

DO HUU, H.; SANG, H. M.; THUY, N. T. T. Dietary β -glucan improved growth performance, *Vibrio* counts, haematological parameters and stress resistance of pompano fish, *Trachinotus ovatus* Linnaeus, 1758. **Fish & shellfish immunology**, v. 54, p. 402-410, 2016

EL KHOURY, D. et al. Beta glucan: health benefits in obesity and metabolic syndrome. **Journal of nutrition and metabolism**, v. 2012, 2011.

EL-SAYED, A. F. M. Intensive Culture. In: Abdel-Fattah M. El-Sayed (Ed.) **Tilapia Culture**, London, Cap.5, p.70-94. 2006.

ENES, P. et al. Nutritional regulation of hepatic glucose metabolism in fish. **Fish physiology and biochemistry**, v. 35, p. 519-539, 2009.

ENES, P. et al. Growth performance and metabolic utilization of diets with native and waxy maize starch by gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles. **Aquaculture**, v. 274, p. 101-108, 2008.

ENES, P. et al. 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.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture. **Sustainability in Action** Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, 2020.

FERNÁNDEZ, F. et al. Effects of diets with distinct protein-to-carbohydrate ratios on nutrient digestibility, growth performance, body composition and liver

intermediary enzyme activities in gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) fingerlings. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 343, p. 1-10, 2007.

FURUYA, W. M. Nutrição de tilápias no Brasil. **Varia Scientia Agrárias**, v. 3, p. 133-150, 2013.

FORTES, C. M. L. S.; ROSA, A. M. C. Processamento de Ração. In: CAMARGO, A. C. S.; NOGUEIRA, W. C. L.; TORRES, A. F. B.; ALMEIDA, A. C.; STEFANELLO, C. M. (Ed.). **Piscicultura**: aspectos relevantes. [S.l.: s.n.], 2016. cap. 7, p. 187- 198.

FURLANETO, F. de P. B. et al. Estudo da viabilidade econômica de projetos de implantação de piscicultura em viveiros escavados. **Informações Econômicas**, v. 2, p. 511, 2009.

GARCÍA-MEILÁN, I.; ORDÓÑEZ-GRANDE, B.; GALLARDO, M. A. Meal timing affects protein-sparing effect by carbohydrates in sea bream: Effects on digestive and absorptive processes. **Aquaculture**, v. 434, p. 121-128, 2014.

GOPALAKANNAN, A.; ARUL, V. Enhancement of the innate immune system and disease-resistant activity in *Cyprinus carpio* by oral administration of β -glucan and whole cell yeast. **Aquaculture research**, v. 41, p. 884-892, 2010.

GRIGORAKIS, K. Compositional and organoleptic quality of farmed and wild gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and factors affecting it: a review. **Aquaculture**, v. 272, p. 55-75, 2007.

GOUVEIA, A.; DAVIES, S. J. Modulation of the Post-Prandial Plasma Glucose Profile in Juvenile European Sea Bass *Dicentrarchus labrax* Fed Diets Varying in Starch Complexity. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 35, p. 392-400, 2004.

GUYTON, A. C., HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 13. ed., Rio de Janeiro: Elsevier, 2017.

HANSEN, J. Ø. et al. Apparent digestion and apparent retention of lipid and fatty acids in Atlantic cod (*Gadus morhua*) fed increasing dietary lipid levels. **Aquaculture**, v. 284, p. 159-166, 2008.

HAYASHI, C. et al. Exigência de proteína digestível para larvas de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), durante a reversão sexual. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, p. 823-828, 2002.

HAYGOOD, A. M.; JHA, R. Strategies to modulate the intestinal microbiota of Tilapia (*Oreochromis* sp.) in aquaculture: a review. **Reviews in Aquaculture**, v. 10, p. 320-333, 2018.

HEMRE, G.-I.; MOMMSEN, T. P.; KROGDAHL, Å. Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes. **Aquaculture nutrition**, v. 8, n. 3, p. 175-194, 2002.

HOUGH, J. S. Biotecnología de la cerveza y de la malta. Editorial Acriba. **Zaragoza, España**, p. 1-45, 1990.

HUANG, L. et al. Ameliorative effect of *Sedum sarmentosum* Bunge extract on Tilapia fatty liver via the PPAR and P53 signaling pathway. **Scientific reports**, v. 8, p. 1-11, 2018.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento sistemático da produção agrícola**, março 2020. Disponível em <<https://sidra.ibge.gov.br/home/lspa/brasil>>. Acesso em: 09 abr. 2020.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa da pecuária municipal**, 2017. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2017_v45_br_informativo.pdf>. Acesso em: 09 abr. 2020.

JUNIOR, A. C. F. et al. The effect of digestible protein to digestible energy ratio and choline supplementation on growth, hematological parameters, liver steatosis and size-sorting stress response in Nile tilapia under field condition. **Aquaculture**, v. 456, p. 83-93, 2016.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014. 1298p.

LI, X. et al. Carbohydrate utilization by herbivorous and omnivorous freshwater fish species: a comparative study on gibel carp (*C. arassius auratus gibelio*. var CAS III) and grass carp (*C. tenopharyngodon idellus*). **Aquaculture research**, v. 47, p. 128-139, 2016.

MARANDEL, L. et al. New insights into the nutritional regulation of gluconeogenesis in carnivorous rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): a gene duplication trail. **Physiological genomics**, v. 47, p. 253-263, 2015.

MEENA, D. K. et al. Beta-glucan: an ideal immunostimulant in aquaculture (a review). **Fish physiology and biochemistry**, v. 39, p. 431-457, 2013.

MEURER, F. et al. Brown propolis extract in feed as a growth promoter of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1758) fingerlings. **Aquaculture Research**, v. 40, p. 603-608, 2009.

MEURER, F. et al. Lipídeos na alimentação de alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, p. 566-573, 2002.

MORO, G. V.; RODRIGUES, A. P. O. Rações para organismos aquáticos: tipos e formas de processamento. **Embrapa Pesca e Aquicultura-Documents (INFOTEC-A-E)**, 2015. p.32.

KAMALAM, B. S.; MEDALE, F.; PANSEERAT, 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.

KAMALAM, B. J.; PANSEERAT, S. Carbohydrates in fish nutrition. **International Aquafeed**, p. 20-23, 2016.

KATHANE, Y. M. et al. Protein sparing capability of carbohydrate in fringed-lipped carp *Labeo fimbriatus* (Bloch, 1795). **Cellulose**, v. 256, p. 239, 2017.

KAUSHIK, S. Carbohydrate nutrition: importance and limits of carbohydrate supplies. In: **Nutrition and feeding of fish and crustaceans**. Praxis Publishing Ltd. Chichester, 2001. p. 131-144.

KEDIA, G.; VÁZQUEZ, J. A.; PANDIELLA, S. S. Evaluation of the fermentability of oat fractions obtained by debranning using lactic acid bacteria. **Journal of applied microbiology**, v. 105, p. 1227-1237, 2008.

KONDEPUDI, K. K. et al. Role of Probiotics and Prebiotics in the Management of Obesity, in Khardori, N (Eds), Food Microbiology: In Human Health and Disease. CRC Press, Boca Raton, p. 157-186, 2016.

LI, X. et al. Carbohydrate utilization by herbivorous and omnivorous freshwater fish species: a comparative study on gibel carp (*C. arassius auratus gibelio*. var CAS III) and grass carp (*C. tenopharyngodon idellus*). **Aquaculture Research**, v. 47, n. 1, p. 128-139, 2016.

LI, Y. et al. Protein: energy ratio in practical diets for Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture international**, v. 21, p. 1109-1119, 2013.

LIN, J.-H.; SHIAU, S.-Y. Hepatic enzyme adaptation to different dietary carbohydrates in juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 14, p. 165-170, 1995.

LIKIMANI, T. A.; WILSON, R. P. Effects of Diet on Lipogenic Enzyme Activities in Channel Catfish Hepatic and Adipose Tissue. **The Journal of nutrition**, v. 112, p. 112-117, 1982.

LU, S. et al. Effects of dietary carbohydrate sources on growth, digestive enzyme activity, gene expression of hepatic GLUTs and key enzymes involved in glycolysis-gluconeogenesis of giant grouper *Epinephelus lanceolatus* larvae. **Aquaculture**, v. 484, p. 343-350, 2018.

MAGNANI, M.; CASTRO-GÓMEZ, R. J. H. B-glucana de *Saccharomyces cerevisiae*: constituição, bioatividade e obtenção. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 29, p. 631-649, 2008.

MOREIRA, I. S. et al. Temperature and dietary carbohydrate level effects on performance and metabolic utilisation of diets in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. **Aquaculture**, v. 274, p. 153-160, 2008.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Princípios de Bioquímica de Lehninger, 5ª edição. **São Paulo: Editora Artmed**, v. 6, 2011.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Lehninger-Princípios da Bioquímica. 3ª. **Edição, Sarvier, SP**, 2002.

NRC, Nutrient requirements of fish and shrimp. Washington, DC: National Academy Press, 2011.

OVIE, S. O.; SADIKU, S. O. E.; OVIE, S. I. Protein-sparing activity of lipid and carbohydrate in the Giant African Mudfish, *H. longifilis* diets. **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, v. 9, n. 3, p. 108-112, 2005.

PANSERAT, S. et al. Metformin improves postprandial glucose homeostasis in rainbow trout fed dietary carbohydrates: a link with the induction of hepatic lipogenic capacities? **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 297, p. R707-R715, 2009.

PANSERAT, S. et al. Lack of significant long-term effect of dietary carbohydrates on hepatic glucose-6-phosphatase expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 11, p. 22-29, 2000.

PANSERAT, S. et al. Hepatic glucokinase is induced by dietary carbohydrates in rainbow trout, gilthead seabream, and common carp. **American Journal of**

Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, v. 278, p. R1164-R1170, 2000.

PARNELL, J. A.; REIMER, R. A. Prebiotic fibres dose-dependently increase satiety hormones and alter Bacteroidetes and Firmicutes in lean and obese JCR: LA-cp rats. **British Journal of Nutrition**, v. 107, p. 601-613, 2012.

PAULSEN, S. M.; ENGSTAD, R. E.; ROBERTSEN, B. Enhanced lysozyme production in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) macrophages treated with yeast β -glucan and bacterial lipopolysaccharide. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 11, p. 23-37, 2001.

PEIXE BR - Associação Brasileira da Piscicultura. **Anuário PeixeBR da Piscicultura 2019**. Ed. Texto Comunicação Corporativa, São Paulo. 2019.

PEREIRA, M. de M. et al. Growth performance and metabolic responses to dietary protein/carbohydrate ratios in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles. **Aquaculture Research**, v. 51, p. 5203-5211, 2020.

PILARSKI, F. et al. Different β -glucans improve the growth performance and bacterial resistance in Nile tilapia. **Fish & shellfish immunology**, v. 70, p. 25-29, 2017.

PILKIS, S. J.; CLAUS, T. H. Hepatic gluconeogenesis/glycolysis: regulation and structure/function relationships of substrate cycle enzymes. **Annual review of nutrition**, v. 11, p. 465-515, 1991.

POLAKOF, S. et al. Glucose metabolism in fish: a review. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 182, p. 1015-1045, 2012.

PRATT, C. W., VOET, J. G., VOET, D. **Fundamentos de bioquímica: A Vida em Nível Molecular**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

RAHMAN, M. L. et al. Protein-Sparing Ability of Carbohydrates from Different Sources in Diets for Fry of Stinging Catfish *Heteropneustes fossilis*. **Sains Malaysiana**, v. 46, p. 239-244, 2017.

RASOOL, I. et al. Evaluation of dietary protein to carbohydrate ratio on the growth, conversion efficiencies and body composition of Zebrafish. **Journal of entomology and Zoology study**, v. 6, p. 2254-2258, 2018.

ROBERTSEN, B. Modulation of the non-specific defence of fish by structurally conserved microbial polymers. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 9, p. 269-290, 1999.

ROBERTSEN, B. et al. Enhancement of non-specific disease resistance in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., by a glucan from *Saccharomyces cerevisiae* cell walls. **Journal of fish diseases**, v. 13, p. 391-400, 1990.

RUST, M. B. Fisiologia nutricional. In: Fish Nutrition (JE Halver & RW Hardy eds.), 3^a edn. p. 393 - 412. Academic Press, Califórnia, 2002

SANG, H. M.; FOTEDAR, R. Effects of dietary β -1, 3-glucan on the growth, survival, physiological and immune response of marron, *Cherax tenuimanus* (smith, 1912). **Fish & shellfish immunology**, v. 28, p. 957-960, 2010.

SECOMBES, C. J.; FLETCHER, T. C. The role of phagocytes in the protective mechanisms of fish. **Annual Review of Fish Diseases**, v. 2, p. 53-71, 1992.

SELIM, K. M.; REDA, R. M. Beta-glucans and mannan oligosaccharides enhance growth and immunity in Nile tilapia. **North American Journal of Aquaculture**, v. 77, p. 22-30, 2015.

SHEARER, G. C.; SAVINOVA, O. V.; HARRIS, W. S. Fish oil—how does it reduce plasma triglycerides?. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1821, p. 843-851, 2012.

SHIMENO, S. et al. Adaptation of hepatopancreatic enzymes to dietary carbohydrate in carp [*Cyprinus carpio*]. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, 1981.

SILVA, C. C. da. **Avaliação do uso de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) inativas e hidrolizadas nas dietas iniciais de leitões**. 2009. 111 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, 2009.

SIMÕES, M. R. et al. Composição físico-química, microbiológica e rendimento do filé de tilápia tailandesa (*Oreochromis niloticus*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 608-613, 2007.

STONE, D. A. J. Dietary carbohydrate utilization by fish. **Reviews in Fisheries Science**, v. 11, p. 337-369, 2003.

SULAIMAN, M. A. et al. Effects of increasing dietary carbohydrate level on feed utilisation, body composition, liver glycogen, and intestinal short chain fatty acids of hybrid lemon fin barb (*Barbonymus gonionotus*♀ X *Hypsibarbus wetmorei* male♂). **Aquaculture Reports**, v. 16, p. 100250, 2020.

TAKAHASHI, L. S. et al. Carbohydrate tolerance in the fruit-eating fish *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Aquaculture Research**, v. 49, p. 1182-1188, 2018.

TENGJAROENKUL, B. et al. Distribution of intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. **Aquaculture**, v. 182, p. 317-327, 2000.

TIAN, J. et al. Changes in the activities and mRNA expression levels of lipoprotein lipase (LPL), hormone-sensitive lipase (HSL) and fatty acid synthetase (FAS) of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) during fasting and re-feeding. **Aquaculture**, v. 400, p. 29-35, 2013.

TIAN, L. X. et al. Effects of different dietary wheat starch levels on growth, feed efficiency and digestibility in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Aquaculture international**, v. 20, p. 283-293, 2012.

THOMPSON, K. D. Immunology: improvement of Innate and Adaptive Immunity. In: **Fish Diseases**. Academic Press, 2017. p. 1-17.

TURRA, E. M. et al. Uso de medidas morfométricas no melhoramento genético do rendimento de filé da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 34, p. 29-36, 2010.

VIEGAS, I. et al. Effects of dietary carbohydrate on hepatic de novo lipogenesis in European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.). **Journal of lipid research**, v. 57, p. 1264-1272, 2016.

- WANG, M.; LU, M. Tilapia polyculture: a global review. **Aquaculture research**, v. 47, p. 2363-2374, 2016.
- WANG, X. X. et al. Growth and metabolic responses in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) subjected to varied starch and protein levels of diets. **Italian Journal of Animal Science**, v. 16, p. 308-316, 2017.
- WASZKIEWICZ-ROBAK, B.; BARTNIKOWSKA E. Effects of spent brewer's yeast and biological β -glucans on selected parameters of lipid metabolism in blood and liver in rats. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v. 18, 2009.
- WELKER, T. L. et al. Use of diet crossover to determine the effects of β -glucan supplementation on immunity and growth of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 43, p. 335-348, 2012.
- WILSON, R. P. Utilization of dietary carbohydrate by fish. **Aquaculture**, v. 124, p. 67-80, 1994.
- WILSON, R. P.; POE, W. E. Apparent inability of channel catfish to utilize dietary mono-and disaccharides as energy sources. **The Journal of nutrition**, v. 117, p. 280-285, 1987.
- WHITTINGTON, R.; LIM, C.; KLESIOUS, P. H. Effect of dietary β -glucan levels on the growth response and efficacy of Streptococcus iniae vaccine in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v. 248, p. 217-225, 2005.
- YEO, M. G. et al. Effect of dietary gelatinized starch on growth performance, feed utilization and body composition of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). **Internacional Journal of Food Science and Nutrition**, v. 2, p. 125-9, 2017.
- XIE, D. et al. Effects of dietary carbohydrate and lipid levels on growth and hepatic lipid deposition of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v. 479, p. 696-703, 2017.
- ZAMORA-SILLERO, J. et al. Effect of dietary dextrin levels on the growth performance, blood chemistry, body composition, hepatic triglycerides and glycogen of Lebranche mullet juveniles (*Mugil liza* Valenciennes 1836, Mugilidae). **Journal of Applied Ichthyology**, v. 29, p. 1342-1347, 2013.
- ZENG, L. et al. Protein-sparing effect of carbohydrate in diets for juvenile turbot *Scophthalmus maximus* reared at different salinities. **Chinese journal of oceanology and limnology**, v. 33, p. 57-69, 2015.
- ZHANG, H. et al. Forskolin reduces fat accumulation in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) through stimulating lipolysis and beta-oxidation. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 230, p. 7-15, 2019.
- ZHANG, H. et al. Diacylglycerol oil reduces fat accumulation and increases protein content by inducing lipid catabolism and protein metabolism in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 510, p. 90-99, 2019b.
- ZHOU, C. P. et al. Effect of high dietary carbohydrate on the growth performance and physiological responses of juvenile wuchang bream, *Megalobrama amblycephala*. **Asian-Australasian journal of animal sciences**, v. 26, p. 1598, 2013.

ZHU, H. et al. Effect of yeast polysaccharide on some hematologic parameter and gut morphology in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Fish physiology and biochemistry**, v. 38, p. 1441-1447, 2012.

YARNPAKDEE, S. et al. Chemical compositions and muddy flavour/odour of protein hydrolysate from Nile tilapia and broadhead catfish mince and protein isolate. **Food chemistry**, v. 142, p. 210-216, 2014.

YU, H. H. et al. Dietary supplementation of Grobiotic®-A increases short-term inflammatory responses and improves long-term growth performance and liver health in largemouth bass (*Micropterus salmoides*). **Aquaculture**, v. 500, p. 327-337, 2019.

CAPITULO 2 - O β -glucano melhora o crescimento e reduz os distúrbios metabólicos em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentada com alto carboidrato

RESUMO

O objetivo deste estudo foi investigar se o β -glucano apresentaria a capacidade de atuar no crescimento e na redução dos distúrbios metabólicos em tilápia do Nilo alimentada com alto carboidrato. 300 juvenis de tilápia do Nilo ($25,39 \pm 0,83$ g) foram alimentados com dietas isoproteicas (28% PD) e isoenergéticas ($3130 \text{ kcal kg}^{-1}$) contendo dois níveis de carboidratos (CHO-L 270 e CHO-H 620 g kg^{-1}) e quatro níveis de β -glucano (β G, 0, 1, 3 e 6 g kg^{-1}). Peixes alimentados com CHO-H apresentaram melhor desempenho de crescimento em relação ao CHO-L, sugerindo que as tilápias estavam utilizando o amido para energia e a proteína para crescimento, por outro lado apresentaram maior ingestão da dieta e pior conversão alimentar. Quando houve a inclusão do β G o desempenho dos peixes alimentados com ambos CHOs se potencializou. Os juvenis de tilápia que receberam a dieta CHO-H apresentando maiores concentrações de triglicerídeos, glicogênio hepático, lipídio hepático e muscular, além de apresentarem maior atividade das enzimas glicose-6-fosfato desidrogenase e enzima málica em relação a dietas CHO-L, indicando que a tilápia direciona os carboidratos para a lipogênese e consegue regular os índices glicêmicos. Contudo, o β G foi capaz de atuar na redução dos níveis de triglicerídeos, índice hepatossômico, lipídio muscular, enzimas glicolíticas (hexoquinase e piruvato quinase) e enzimas lipogênicas (glicose-6-fosfato desidrogenase e enzima málica). Em suma, os resultados mostram que é possível obter um bom crescimento de peixes alimentados com elevado carboidrato. E que o β -glucano se mostrou capaz de proporcionar maior eficiência na utilização das dietas intensificando o crescimento dos peixes e reduzindo as atividades lipogênicas, resultando em menores distúrbios metabólicos causados pelo alto teor de carboidrato da dieta.

Palavras-chave: amido, lipogênese, metabolismo intermediário, nutrição, *Oreochromis niloticus*.

CHAPTER 2 - β -glucan improves growth and reduces metabolic disorders in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed with high carbohydrate

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate whether β -glucan could act on the growth and reduction of metabolic disorders in Nile tilapia fed with high carbohydrate. 300 Nile tilapia juveniles (25.39 ± 0.83 g) were fed isoprotein (28% PD) and isoenergetic (3130 kcal kg⁻¹) diets containing two levels of carbohydrates (CHO-L 270 and CHO-H 620 g kg⁻¹) and four levels of β -glucan (β G, 0, 1, 3 and 6 g kg⁻¹). Fish fed with CHO-H showed better growth performance compared to CHO-L, suggesting that tilapia were using starch for energy and protein for growth, on the other hand they had higher dietary intake and worse feed conversion. When there was the inclusion of β G, the performance of fish fed with both CHOs was enhanced. Tilapia juveniles that received the CHO-H diet showed higher concentrations of triglycerides, liver glycogen, liver and muscle lipids, in addition to showing higher activity of the enzymes glucose-6-phosphate dehydrogenase and malic enzyme in relation to CHO-L diets, indicating that tilapia directs carbohydrates to lipogenesis and manages to regulate glycemic indices. However, β G was able to act in the reduction of triglyceride levels, hepatosomatic index, muscle lipid, glycolytic enzymes (hexokinase and pyruvate kinase) and lipogenic enzymes (glucose-6-phosphate dehydrogenase and malic enzyme). In summary, the results show that it is possible to obtain good growth from fish fed with high carbohydrates. And that β -glucan was able to provide greater efficiency in the use of diets, intensifying fish growth and reducing lipogenic activities, resulting in less metabolic disturbances caused by the high carbohydrate content in the diet.

Keywords: starch, lipogenesis, intermediary metabolism, nutrition, *Oreochromis niloticus*.

1 - Introdução

Formular dietas para peixes com proporções reduzidas de proteína digestível/energia digestível é uma forma de reduzir os custos de alimentação (NRC, 2011), pois, enquanto reduz a proporção de proteína/ energia, a energia não proteica na dieta aumenta, e esta pode vir de lipídios ou carboidratos (CHO). Entretanto, as principais fontes de lipídios são mais onerosas do que os CHO e podem comprometer o processamento e armazenamento das dietas. Portanto, a redução dos níveis de proteínas e lipídios na ração e a substituição parcial por CHO podem tornar a ração mais acessível (KABIR et al., 2020).

O amido é um polissacarídeo com alta disponibilidade, e preço relativamente baixo, utilizado em dietas para peixes como fonte de energia (KAMALAM; MEDALE; PANSEERAT, 2017) objetivando estimular a ação poupadora de proteínas e lipídios do catabolismo (MA et al., 2019), tal como melhor estabilidade dos peletes na água (DE CRUZ et al., 2015). Embora o amido possua benefícios na alimentação de organismos aquáticos, do ponto de vista nutricional algumas espécies de peixes têm capacidade limitada de digerir, absorver e assimilar o amido (KAMALAM, MEDALE; PANSEERAT, 2017). Geralmente, peixes de hábito alimentar onívoro e herbívoros apresentam maior tolerância a dieta rica em CHO (JOBLING, 2012), como é o caso da tilápia do Nilo.

A tilápia do Nilo é considerada espécie economicamente importante, capaz de utilizar os carboidratos de forma eficiente como fonte de energia primária (KAMALAM; MEDALE; PANSEERAT, 2017). Respostas metabólicas a diferentes níveis de CHOs dietéticos foram recentemente apresentadas para a espécie (BOONANUNTANASARN et al., 2018), demonstrando que a habituação da tilápia a altos níveis de carboidratos está relacionada à diminuição da gliconeogênese hepática e aumento da lipogênese hepática (SEILIEZ et al., 2011; POLAKOF et al., 2012; FIGUEIREDO-SILVA et al., 2013; MARANDEL et al., 2015). Relatos anteriores confirmam que dietas ricas em CHOs induzem a doença hepática gordurosa em peixes (LE; BORTOLOTTI, 2008; MALIK; HU, 2015), aumenta o acúmulo de lipídios na tilápia do Nilo, altera a histomorfologia do fígado, exibindo uma alta vacuolização de lipídios nos hepatócitos, aumento

nos índices hepatossomático e gorduroviscerossomático, lipídios na carcaça, triglicerídeos plasmáticos e tecidos adiposos (LUO et al., 2020).

A partir da crescente utilização de dietas com altos níveis de CHOs, os aditivos alimentares passaram a ser usados para melhorar o estado de saúde e aliviar os distúrbios metabólicos causados pelos CHOs. O β -glucano (β G) naturalmente encontrado na parede celular de leveduras, fungos e algas (RINGØ et al., 2010), está entre os prebióticos comumente utilizados na aquicultura, reconhecido pelo efeito no crescimento dos peixes e melhora das respostas imunológicas (DAWOOD et al., 2017a; DAWOOD et al., 2017b; JI et al., 2017), incluindo efeitos antimicrobianos, antioxidantes e anti-inflamatórios (DAWOOD et al., 2020).

Ainda que, nenhum estudo tenha relatado seu uso potencial como possível redutor nos estoques de lipídios, bem como, seus efeitos nas enzimas metabólicas ligados à ingestão de carboidratos em peixes, o β G apresentou resultados positivos como auxiliares na redução de colesterol, glicemia e triglicerídeos em ratos recebendo dieta rica em gordura (DE ARAUJO et al., 2016). Portanto, nosso objetivo foi investigar se o β -glucano apresentaria a capacidade de atuar no crescimento e na redução dos distúrbios metabólicos em tilápia do Nilo alimentada com alto carboidrato, por meio de análise de desempenho produtivo, metabolitos sanguíneos, reservas energéticas teciduais e enzimas chaves hepática do metabolismo intermediário da via glicolítica e lipogênica.

2 - Material e métodos

2.1 - Dietas, animais e condições experimentais

O experimento foi realizado no Laboratório de Tilapicultura do Centro de Aquicultura da Unesp, campus Jaboticabal. Todos os procedimentos experimentais foram revisados e aprovados pela Comissão de Ética em Uso de Animais – CEUA da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP – Campus de Jaboticabal - SP e protocolados sob o nº 3554/20.

Um arranjo fatorial 2 x 4 foi usado em um delineamento inteiramente casualizados, com dois níveis de amido (CHO-L 270 g kg⁻¹ e CHO-H 620 g kg⁻¹)

e quatro níveis de β -glucano Macrogard® (Biorigin, Lençóis Paulista, São Paulo, Brasil) (0,0; 1,0; 3,0 e 6,0 g kg⁻¹), com quatro repetições por tratamento.

As dietas experimentais foram formuladas para serem isoenergéticas (3.130 kcal kg⁻¹) e isoprotéicas (28% PD) atendendo as exigências nutricionais para tilápia do Nilo (FURUYA et al., 2010) (Tabela 1). Os nutrientes e energia das dietas foram calculados com base nas análises bromatológicas e nos coeficientes de digestibilidade descritos por Rostagno et al. (2017) e Furuya et al. (2010) para a espécie. Para aumentar o nível de amido e manter as dietas isoprotéicas foi necessário usar o concentrado proteico de soja, por ser um ingrediente com maior teor de proteína do que o farelo de soja. Além disso, para manter as dietas isoenergéticas foi necessário alterar os níveis de lipídios da dieta.

No processamento das dietas, estes ingredientes foram moídos em moinho de martelo, peneira 0,8 mm, pesados e separados de acordo com a formulação de cada dieta. Após os ingredientes serem misturados em misturador tipo “Y” as dietas foram peletizadas em moedor de carne com adição de água (30%) e 0,1% de gelatina incolor e os grânulos secos em estufa com circulação forçada a 40° C por 48 horas, armazenados em sacos plásticos e conservados em freezer -20° C durante todo o experimento.

Ingredientes e dietas foram analisados quanto a matéria seca (MS, método 934.01), proteína bruta (PB, método 984.13), extrato etéreo (EE, método 954.02) e matéria mineral (MM, método 942.15) de acordo com AOAC (2006). Foram utilizados os seguintes procedimentos: para MS, amostras de ingredientes e dietas foram secas em estufa sem circulação forçada de ar a 105° C por 24 h; conteúdo de PB foi calculado a partir do análise de nitrogênio pelo método Kjeldahl (% nitrogênio em MS $\times$ 6,25); conteúdo de EE foi obtido por extração com solvente orgânico (éter de petróleo); conteúdo de MM foi obtido por incineração a 600° C durante 4 h. Além disso, ingredientes e dietas foram analisados para fibra em detergente neutro (aNDF) e fibra em detergente ácido (FDA) de acordo com Detmann et al. (2012). Também foi determinado o teor de carboidratos não estruturais das dietas, considerando o valor de extrativo não nitrogenado estimado pelo método de análise aproximativa de Weende [CHO = MS – (PB + EE + FB + MM)]. A energia bruta das dietas foi determinada por meio de bomba calorimétrica (IKA 2000, China), realizada no Laboratório de Ciências

Avícolas – AVINESP da Unesp de Jaboticabal. A concentração de amido foi determinada pelo método da amilase e glicose-oxidase (BEUTLER; BERGMAYER, 1984). A composição analisada das dietas se encontra na Tabela 1.

Tabela 1 - Formulação e composição analisada das dietas experimentais.

Ingredientes (%)	Dietas (g Kg ⁻¹)							
	CHO-L 270				CHO-H 620			
	βG 0,0	βG 1,0	βG 3,0	βG 6,0	βG 0,0	βG 1,0	βG 3,0	βG 6,0
Con. proteico de soja ¹	100,0	100,0	100,0	100,0	199,9	199,9	199,9	199,9
Farinha de peixe ²	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Farelo de soja ²	290,0	290,0	290,0	290,0	180,0	180,0	180,0	180,0
Farelo de Arroz ²	59,0	59,0	59,0	59,0	8,0	8,0	8,0	8,0
Milho ²	140,0	140,0	140,0	140,0	155,0	155,0	155,0	155,0
Farelo de trigo ²	114,0	114,0	114,0	114,0	50,0	50,0	50,0	50,0
Amido ³	59,0	59,0	59,0	59,0	265,0	265,0	265,0	265,0
Óleo de soja	44,0	44,0	44,0	44,0	15,0	15,0	15,0	15,0
Fosfato Bicálcico	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0
Premix ⁴	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0
Vit. C	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Caolin	72,0	71,0	69,0	66,0	6,0	5,0	3,0	0,0
β-glucano ⁵	0,0	1,0	3,0	6,0	0,0	1,0	3,0	6,0

*Composição analisada **

Matéria seca %	93.4	93.4	93.4	93.4	92.5	92.5	92.5	92.5
Proteína bruta %	31.6	31.6	31.6	31.6	31.2	31.2	31.2	31.2
Proteína digestível** %	28.8	28.8	28.8	28.8	28.9	28.9	28.9	28.9
Extrato etéreo %	9.9	9.9	9.9	9.9	5.3	5.3	5.3	5.3
Fibra bruta %	3.4	3.4	3.4	3.4	2.3	2.3	2.3	2.3
Matéria mineral %	14.0	14.0	14.0	14.0	8.0	8.0	8.0	8.0

Extrato não nitrogenado*** %	41.1	41.1	41.1	41.1	53.7	53.7	53.7	53.7
Energia bruta kcal kg ⁻¹	4032.0	4032.0	4032.0	4032.0	4067.2	4067.2	4067.2	4067.2
Energia digestível kcal kg ⁻¹	3130.0	3130.0	3130.0	3130.0	3152.0	3152.0	3152.0	3152.0
Amido	27	27	27	27	62	62	62	62

¹CJ Selecta (São Paulo, SP, Brasil). ²Raguife Ind. Com. de Rações LTDA (Santa Fé do Sul, SP, Brasil). ³Ingredion Brasil (São Paulo, SP, Brasil). ⁴O premix vitamínico e mineral forneceu por Kg⁻¹: manganês (2.000,00 mg); ferro (7.500,00 mg); zinco (7.500,00 mg); cobre (1.000,00 mg); cobalto (30,00 mg); selênio (70 mg); iodo (250 mg); potássio (2.000,00 mg); magnésio (600,00 mg); Vit. A (2.000.000,00 U.I); Vit. D3 (600.000,00 U.I); Vit. K3 (700,00 mg); biotina (50,00 mg); ac. fólico (250,00 mg); colina (80.000,00 mg); Vit. B1 (2.000,00 mg); Vit. B12 (10.000,00 mcg); Vit. B2 (4.000,00 mg); Vit. B6 (5.000,00 mg); Vit. E (15.000,00 U.I); Ac. pant. (5.000,00 mg); Ac. nicotínico (10.000,00 mg); Vit. C (80.000,00 mg); BHT (20.000,00 mg); Etoxiquin (10.000,00 mg); Inositol (4.000,00). ⁵Biorigin (Lençóis Paulista, SP, Brasil). *Com base na composição avaliada de cada ingrediente. **Dados de digestibilidade obtidos por Furuya et al. (2010). *** ENN: 100% matéria seca - (proteína bruta + extrato étereo + fibra bruta + matéria mineral).

Juvenis de tilápia do Nilo, com peso inicial de $25,39 \pm 0,83$ g foram distribuídos em 32 tanques de polietileno de 200-L (11 peixes / tanque) em sistema fechado de recirculação de água. O sistema de recirculação continha decantador, filtros mecânicos e biológicos. A temperatura foi mantida por um aquecedor e a aeração através de um difusor de ar, que distribuía ar para pedras porosas acopladas em mangueiras siliconadas em cada tanque. Os peixes foram alimentados com as dietas experimentais até a saciedade aparente, em duas refeições diárias, por 77 dias.

Para garantir que a qualidade da água estivesse dentro dos padrões desejados para a criação de tilápia do Nilo, os parâmetros físico-químicos da água foram monitorados. O oxigênio dissolvido e temperatura foram mensurados diariamente por meio do oxímetro Handy Polaris (OxyGuard®, Marine equipment, Santa Catarina, Brasil) e termômetro analógico e digital, respectivamente. As concentrações de pH e amônia foram determinadas semanalmente pelo método colorimétrico, através de kits para análise de água doce (LabconTest, AlconTest, Camboriú, Brasil). A temperatura da água foi mantida a $26,45 \pm 1,26$ °C durante todo o experimento, o que corresponde à temperatura ótima para o crescimento da espécie (AZAZA et al., 2008a, AZAZA et al., 2008b). Nenhum valor crítico foi detectado para oxigênio dissolvido (6,28

$\pm 0,47 \text{ mg L}^{-1}$) e amônia - N total ($\text{NH}_3\text{-N} + \text{NH}_4^+\text{-N}$: $0,25 \pm 0,03 \text{ mg L}^{-1}$) que permaneceram dentro de faixas aceitáveis para tilápia do Nilo (POPMA; MASSER, 1999; ROSS, 2000) e o pH apresentou valor de $7,94 \pm 0,29$. O fotoperíodo foi mantido em 12 horas luz e 12 horas escuro com lâmpadas fluorescentes.

2.2 - Desempenho de crescimento

Ao final do período experimental, os peixes foram mantidos em jejum por 12 horas, coletados, anestesiados em solução de benzocaína (60 mg L^{-1}), individualmente pesados em balança digital semi-analítica (Marte AD2000, Marte Científica, São Paulo, Brasil) e medidos. Com os dados obtidos foram calculados os seguintes parâmetros de desempenho produtivo:

- Peso médio final (PF);
- Ganho em peso:

$$\text{GP (g)} = (\text{peso médio final} - \text{peso médio inicial});$$
- Taxa de crescimento específico:

$$\text{TCE (\% dia}^{-1}\text{)} = 100 \times [(\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial}) / \text{período experimental}];$$
- Consumo alimentar diário:

$$\text{CAD (g dia}^{-1}\text{)} = \text{alimento consumido} / \text{período experimental};$$
- Conversão alimentar aparente:

$$\text{CA} = \text{alimento fornecido} / \text{ganho em peso total};$$
- Sobrevivência:

$$\text{SB (\%)} = 100 \times (\text{número final de peixes}) / (\text{número inicial de peixes}).$$

2.3 - Metabolitos sanguíneos

Foram coletados três peixes por tanque para retirada de amostra de sangue por punção caudal, sendo destinadas algumas alíquotas para separação do soro e outras para separação do plasma ($15 \mu\text{L}$ de fluoreto de potássio + EDTA, Gold Analisa Diagnóstica, Belo Horizonte, Brasil), de acordo com a

análise a que se destinavam. A separação das aliquotas do sangue foi realizada pela centrifugação (Eppendor Centrifuge 5804R, Beckman Coulter, Brea, California, USA) do sangue (3000 RPM, 10 min à 10°C) logo após a coleta, para separação do plasma, e, após uma hora à temperatura ambiente, para separação do soro, que foi armazenado à -18° C. No sangue foram analisados os seguintes metabólitos: glicose plasmática (Método GOD-Trinder, Bioclin, Santa Branca, Minas Gerais, Brasil), triglicerídeos (Método Enzimático-Trinder, Bioclin, Santa Branca, Minas Gerais, Brasil). As determinações dos metabólitos sanguíneos foram realizadas no Laboratório Multiusuários do Centro de Aquicultura da Unesp, Caunesp, Campus Jaboticabal.

2.4 - Reservas energéticas teciduais

Os animais utilizados nas coletas de sangue foram laparotomizados para retirada e pesagem da gordura visceral e do fígado, retirada de um fragmento do músculo esquelético da região caudal. As amostras teciduais, acondicionadas em papel alumínio, foram identificadas, congeladas e armazenadas em nitrogênio líquido. Foram avaliadas as relações somáticas: índice gorduro-viscerossomático (IGVS) e índice hepatossomático (IHS) de acordo com a fórmula: $[100 \times (\text{peso do tecido} / \text{peso vivo})]$. Nos fragmentos de fígado e tecido muscular foram realizadas as análises para determinação do lipídio total hepático e muscular através da metodologia de extração com solvente (BLIGH; DYER, 1959) e do glicogênio hepático (metodologia enzimática colorimétrica; PERRY et al., 1989).

2.5 - Atividade hepática de enzimas-chave das vias metabólicas

As amostras de fígado, previamente armazenadas a -80° C, foram homogeneizadas em tampão Tris-HCl e centrifugadas em centrífuga refrigerada por 15 minutos a 10° C para determinação da atividade hepática das enzimas hexoquinase (HK, EC 2.7.1.1), glicoquinase (GK, EC 2.7.1.2) e piruvato quinase (PK, EC 2.7.1.40). A atividade da HK e a GK foram mensuradas de acordo com as metodologias de Vijayan; Ballantyne; Leatherland (1990), adaptada por

Pérez-Jiménez et al. (2009). A atividade da PK foi determinada pelo método de Carbonell et al. (1973). Também foi determinada a atividade da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH, EC 1.1.1.49) através da metodologia de Lohr e Waller (1960). As atividades de enzima málica (ME, EC 1.1.1.40) e sintetase de ácidos graxos (FAS, EC 2.3.1.38) foram determinados conforme a metodologia de Graeve (1994). Todas as atividades enzimáticas estão expressas por miliunidades por miligrama de proteína solúvel (atividade específica). Uma unidade de atividade enzimática foi definida como a quantidade de enzima necessária para transformar um μmol de substrato por minuto sob as condições de análises acima. Foi determinada a concentração de proteínas totais do homogenato pelo método do biureto, descrito por Reinhold (1953).

2.6 - Análise estatística

Os dados foram verificados quanto à normalidade (teste de Kolmogorov-smirnov) e homocedasticidade (teste de Brown-Forsythe) das variâncias. Posteriormente, os resultados foram analisados usando ANOVA de duas vias com os níveis de CHOs e βG como fatores, seguido pelo teste de Tukey para identificar diferenças entre as médias. Os efeitos dos tratamentos foram considerados significativos em $P < 0,05$. Todas as análises foram realizadas por meio do pacote de software Statistical Analysis Systems versão 1.2 do Rstudio Team (Rstudio, Inc., Boston, MA, 2018).

3 - Resultados

3.1 - Desempenho de crescimento

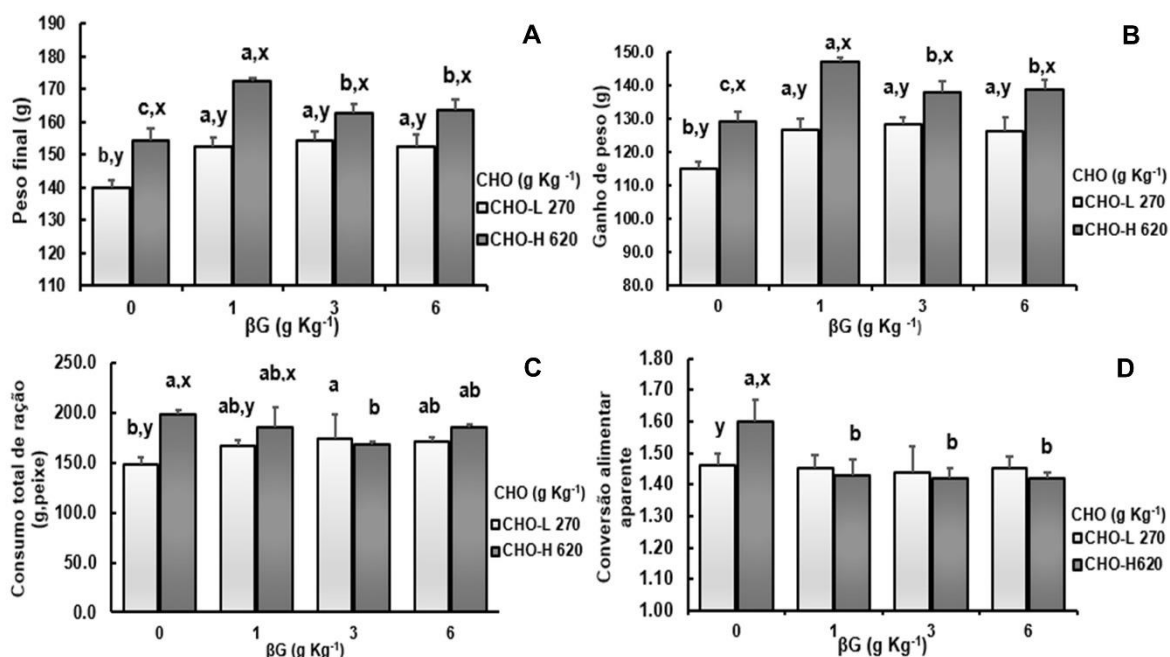
Houve efeito da interação entre βG e CHO para as variáveis de peso final, ganho de peso, consumo de ração total e conversão alimentar aparente ($P < 0,05$), exceto para taxa de crescimento específico e sobrevivência (Tabela 2).

Tabela 2 - Desempenho produtivo de juvenis de tilápia do Nilo após 77 dias de alimentação com diferentes níveis de glucano (β G) e carboidratos (CHO) na dieta.

Níveis dietéticos (g Kg ⁻¹)		Desempenho					
β G	CHO	PF (g)	GP (g)	TCE % dia ⁻¹	CRT, g peixe	CAA	SB %
0.0		147,14 c	122,11 c	2,33 b	173,11	1,53 a	96,60
1.0		162,46 a	136,91 a	2,43 a	176,32	1,44 b	93,18
3.0		158,54 b	133,23 b	2,41 a	171,39	1,43 b	96,60
6.0		158,22 b	132,59 b	2,39 a	177,61	1,44 b	97,73
	CHO-L 270	149,88 y	124,16 y	2,32 y	165,01 y	1,45	96,02
	CHO-H 620	163,31 x	138,25 x	2,46 x	184,12 x	1,47	96,02
SEM		1,68	1,70	0,02	3,11	0,01	0,99
Análise de variância: P valor							
β G		0,001	0,001	0,001	0,695	0,02	0,477
CHO		0,001	0,001	0,001	0,001	0,403	1,000
β G x CHO		0,01	0,005	0,397	0,001	0,04	0,902

Médias de 4 repetições (n=4). a, b, c: Indicam médias estatisticamente diferentes entre os níveis de glucano pelo teste Tukey ($P < 0,05$). x, y: Indicam médias estatisticamente diferente entre os níveis de carboidratos pelo teste Tukey ($P < 0,05$). PF, peso final; GP, ganho de peso; TCE, taxa de crescimento específico; CRT, consumo de ração total; CAA, conversão alimentar aparente; SB, sobrevivência.

Os desdobramentos das interações entre β G e CHO nos parâmetros de desempenho produtivo estão apresentados na Figura 5. É possível observar que os juvenis de tilápia do Nilo que receberam 0 β G / CHO-H apresentaram melhor peso final e ganho de peso em relação aos que receberam 0 β G / CHO-L ($P < 0,05$) (Figura 5A e 5B), ao contrário da conversão alimentar (Figura 5D) que foi afetada pelo alto CHO da dieta, apresentando maior valor, o que já era esperado, pois também fizeram maior ingestão de alimento (Figura 5C). Entretanto, ao incluir 1 g kg⁻¹ do β G em ambos níveis de CHO, os peixes demonstraram aumentar sua performance, apresentando inclusive, redução na conversão alimentar dos peixes alimentados com CHO-H.



3.2 - Metabólitos sanguíneos

Não foram observadas interações significativas entre níveis de βG e CHO para a glicose plasmática e colesterol sérico ($P > 0,05$), apenas para os triglicerídeos ($P < 0,05$). Já as dietas CHO-L resultaram em maiores concentrações de colesterol sérico ($P < 0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3 - Metabólitos sanguíneos de juvenis de tilápia do Nilo após 77 dias de alimentação com diferentes níveis de glucano (βG) / carboidratos (CHO) na dieta.

Níveis dietéticos (g Kg ⁻¹)		Metabólitos sanguíneos		
βG	CHO	Glicose (mmol L ⁻¹)	Triglicerídeos (mmol L ⁻¹)	Colesterol (mmol L ⁻¹)
0.0		3,38	2.24 a	1.95
1.0		3,28	1.36 c	1.96
3.0		3,01	1,61 b	1,91

6.0		3,14	1,63 b	1,93
	CHO-L 270	3,21	1,68	2,05 x
	CHO-H 620	3,20	1,74	1,83 y
SEM		0,05	0,07	0,02

Análise de variância: P valor

β G	0,05	0,001	0,665
CHO	0,802	0,132	0,001
β G x CHO	0,576	0,001	0,396

Médias de 4 repetições (n=4). a, b, c: Indicam médias estatisticamente diferentes entre os níveis de glucano pelo teste Tukey ($P < 0,05$). x,y: Indicam médias estatisticamente diferente entre os níveis de carboidratos pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

A concentração de triglicerídeos mais elevada foi observada nos peixes que receberam a dieta CHO-H sem a inclusão do β G. Porém, a inclusão de 1 g kg^{-1} de β G foi suficiente para atuar na redução das concentrações deste metabólito em ambos teores de CHOs ($P < 0,05$) (Figura 6).

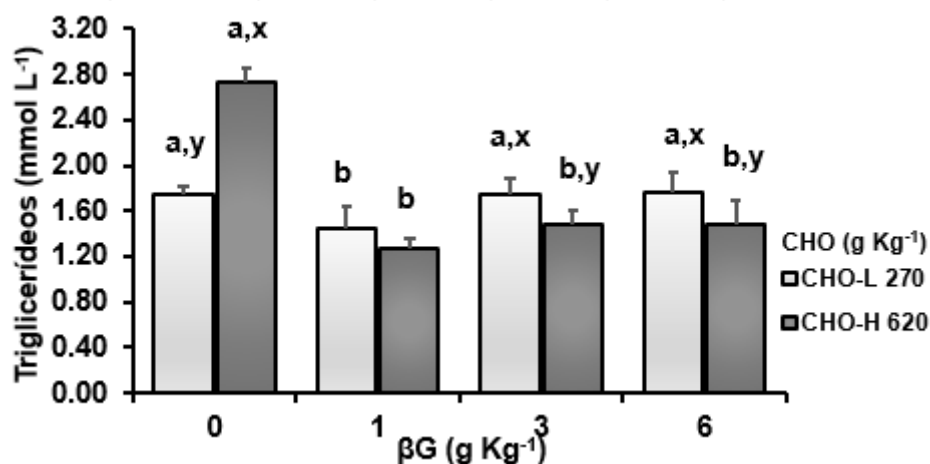


Figura 6. Efeito da interação entre glucano e carboidratos da dieta para triglicerídeos séricos de juvenis de tilápia do Nilo. Médias de 4 repetições (n=4). a, b, c: Indicam médias estatisticamente diferentes entre os níveis de glucano pelo teste Tukey ($P < 0,05$). x,y: Indicam médias estatisticamente diferente entre os níveis de carboidratos pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

3.3 Reservas energéticas teciduais

A interação entre os níveis de β G e CHO influenciou no índice hepatossomático, lipídio hepático e muscular ($P < 0,05$) dos juvenis de tilápia do Nilo (Tabela 4). Enquanto a concentração de glicogênio hepático dos juvenis foi alterada apenas em função dos níveis de CHOs. Os grupos que receberam CHO-H apresentaram maior concentração de glicogênio hepático em comparação com os peixes que receberam as dietas CHO-L ($P < 0,05$) (Tabela 4).

Tabela 4 - Índice somático e reservas energéticas teciduais de juvenis de tilápia do Nilo após 77 dias de alimentação com diferentes níveis de glucano (β G) / carboidratos (CHO) na dieta.

Níveis dietéticos (g Kg ⁻¹)		Reservas energéticas teciduais			
β G	CHO	IHS g 100 g ⁻¹	GH g 100 g ⁻¹	LH mg g ⁻¹	LM mg g ⁻¹
0.0		1,86 a	11,17	23,73	4,33 a
1.0		1,60 b	11,85	21,49	3,69 b
3.0		1,66 b	10,78	26,06	3,91 b
6.0		1,59 b	11,08	25,00	3,61 b
	CHO-L 270	1,48 y	10,70 y	22,83	3,59 y
	CHO-H 620	1,87 x	11,75 x	25,31	4,18 x
SEM		0,05	0,25	0,86	0,10
Análise de variância: P valor					
β G		0,01	0,412	0,129	0,001
CHO		0,001	0,028	0,08	0,001
β G x CHO		0,01	0,102	0,005	0,001

Médias de 4 repetições (n=4). a, b, c: Indicam médias estatisticamente diferentes entre os níveis de glucano pelo teste Tukey ($P < 0,05$). x,y: Indicam médias estatisticamente diferente entre os níveis de carboidratos pelo teste Tukey ($P < 0,05$). IHS, Índice hepatossomático; GH, glicogênio hepático; LH, lipídio hepático; LM, lipídio muscular.

Os desdobramentos das interações entre β G e CHO nos parâmetros de índice somático e reservas energéticas teciduais estão apresentados na Figura

7. Não houve diferença ($P > 0,05$) nos valores de índice hepatossomático dos peixes que receberam CHO-L, e maiores valores foram encontrados para CHO-H em relação ao CHO-L ($P < 0,05$). Quando houve a inclusão do β G na dieta CHO-H houve uma redução nos índices de IHS, isso foi ainda mais acentuado na inclusão de 3 g kg^{-1} β G, que não apresentou diferença ($P > 0,05$) em ambos os níveis de CHOs (Figura 7A). O lipídio hepático foi maior nos peixes que receberam a dieta CHO-H com a inclusão de 3 g kg^{-1} β G em relação a dieta CHO-H com a inclusão de 1 g kg^{-1} de β G ($P < 0,05$).

As tilápias que receberam as dietas CHO-H apresentaram maiores níveis de lipídio muscular em relação as dietas CHO-L ($P < 0,05$), contudo, quando houve a inclusão de 3 e 6 g kg^{-1} β G os níveis de lipídio muscular diminuíram e se igualaram ($P > 0,05$), mostrando que o β G atuou na redução de reserva de gordura no musculo de tilápias.

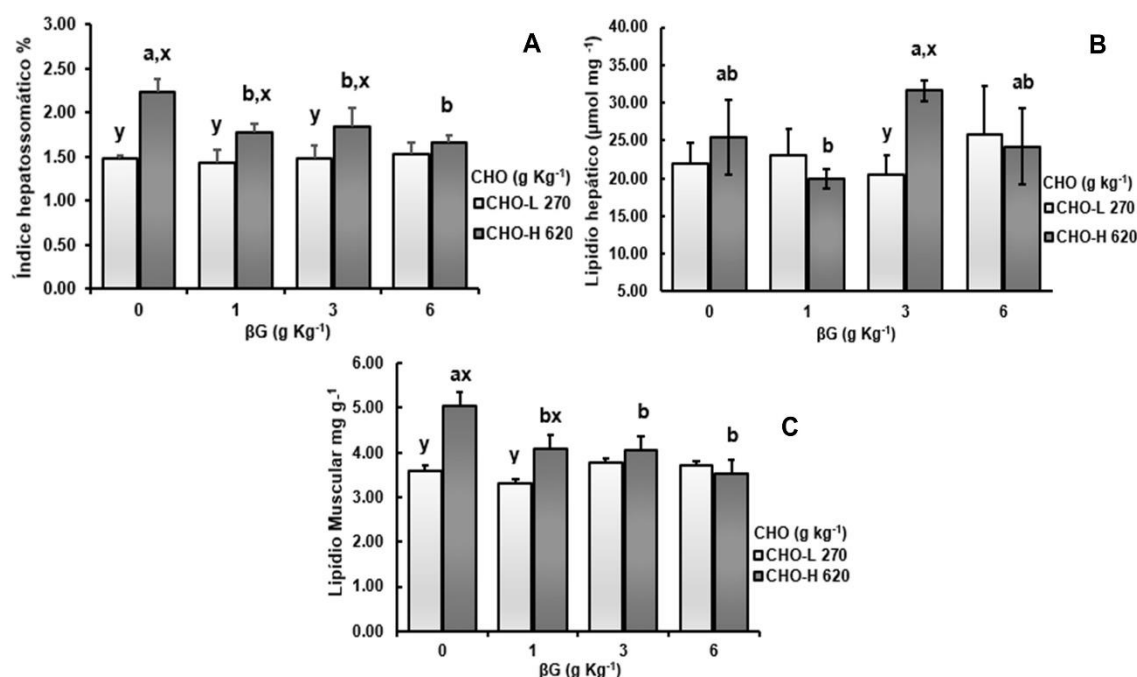


Figura 7. Efeito da interação entre glucano e carboidratos da dieta para índice hepatossomático, lipídio hepático e lipídio muscular de juvenis de tilápia do Nilo. Médias de 4 repetições ($n=4$). a, b, c: Indicam médias estatisticamente diferentes entre os níveis de glucano pelo teste Tukey ($P < 0,05$). x,y: Indicam médias estatisticamente diferente entre os níveis de carboidratos pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

3.4 - Atividade hepática de enzimas-chave das vias metabólicas

Foi observado efeito da interação ($P < 0,05$) para todas as enzimas hepáticas relacionadas a glicólise e lipogênese (Tabela 5). A atividade hepática da GK (Figura 8A) resultou em maior atividade para os peixes alimentados com CHO-L ($P < 0,05$), essa mesma tendência foi apresentada pela PK (Figura 8B, no entanto, a inclusão do β G reduziu essa resposta ($P < 0,05$). Por outro lado, a HK (Figura 8C) foi maior para os grupos que consumiram CHO-H ($P < 0,05$) e a inclusão de 1 g kg^{-1} β G foi o suficiente para reduzir a atividade dessa enzima, embora a inclusão de 3 g kg^{-1} de β G não ter apresentado diferença ($P > 0,05$) para ambos teores de CHO (Figura 8C).

Tabela 5 - Atividades de enzimas glicolíticas e lipogênicas no fígado de juvenis de tilápia do Nilo após 77 dias de alimentação com diferentes níveis de glucano (β G) / carboidrato (CHO) na dieta.

Níveis dietéticos g Kg^{-1}		Atividades enzimáticas $\mu\text{mol/mg}$				
β G	CHO	Glicólise			Lipogênese	
		GK	HK	PK	G6PDH	EM
0		1,51	5,24 a	23,25 a	95,30 a	115,48 a
1		1,48	4,24 b	15,77 b	85,22 b	87,42 b
3		1,43	3,26 b	12,89 c	70,45 c	85,28 b
6		1,29	3,95 b	16,70 b	84,69 b	87,65 b
	CHO-L 270	1,52	2,98 y	21,45 x	67,94 y	50,81 y
	CHO-H 620	1,33	5,37 x	12,86 y	99,90 x	137,01 x
SEM		0,07	0,32	1,05	3,4	8,49
Análise de variância: P valor						
β G		0,658	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
CHO		0,182	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
β G x CHO		0,03	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

Médias de 4 repetições ($n=4$). a, b, c: Indicam médias estatisticamente diferentes entre os níveis de glucano pelo teste Tukey ($P < 0,05$). x,y: Indicam médias estatisticamente diferente entre os níveis de carboidratos pelo teste Tukey ($P < 0,05$). HK, hexoquinase; PK, piruvato quinase; G6PDH, glicose-6-fosfato desidrogenase; EM enzima málica.

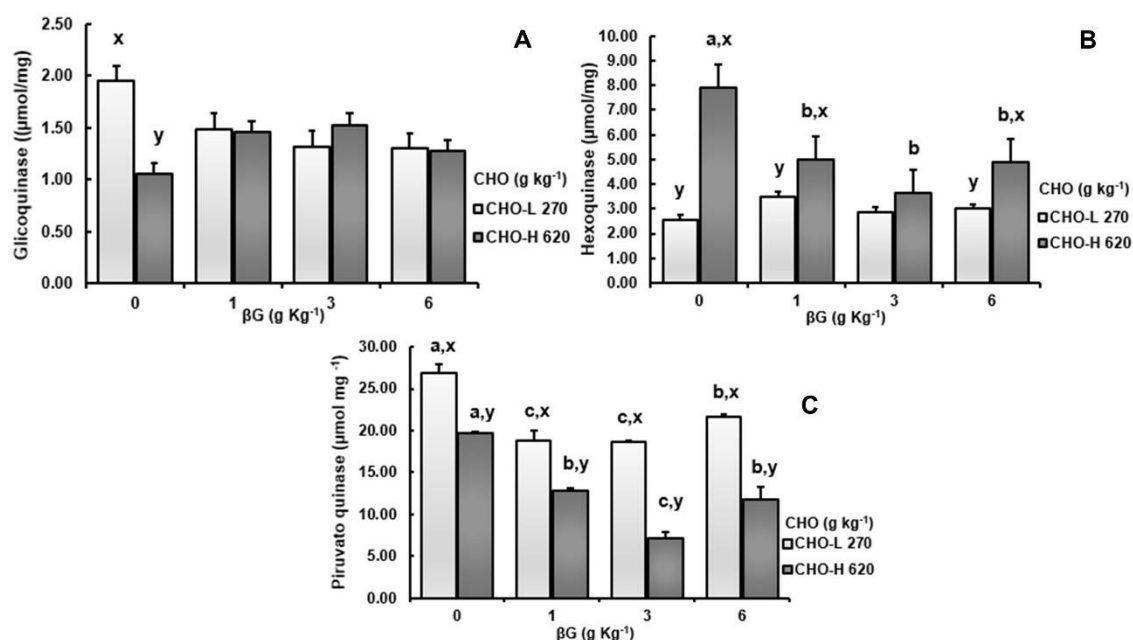


Figura 8. Efeito da interação entre glucano e carboidratos da dieta para enzimas hepáticas da glicolise de juvenis de tilápia do Nilo. Médias de 4 repetições ($n=4$). a, b, c: Indicam médias estatisticamente diferentes entre os níveis de glucano pelo teste Tukey ($P < 0,05$). x,y: Indicam médias estatisticamente diferente entre os níveis de carboidratos pelo teste Tukey ($P < 0,05$). GK, glicoquinase (A); HK, hexoquinase (B); PK, piruvato quinase (C).

As enzimas relacionadas a via lipogênica, G6PDH e EM (Figura 9) apresentaram maiores respostas para os peixes alimentados com CHO-H em relação ao CHO-L ($P < 0,05$), entretanto, a partir da inclusão de 1 g kg^{-1} do βG , esse efeito foi minimizado (Figura 9A). Não houve diferença para a dieta CHO-L na atividade da EM (Figura 9B).

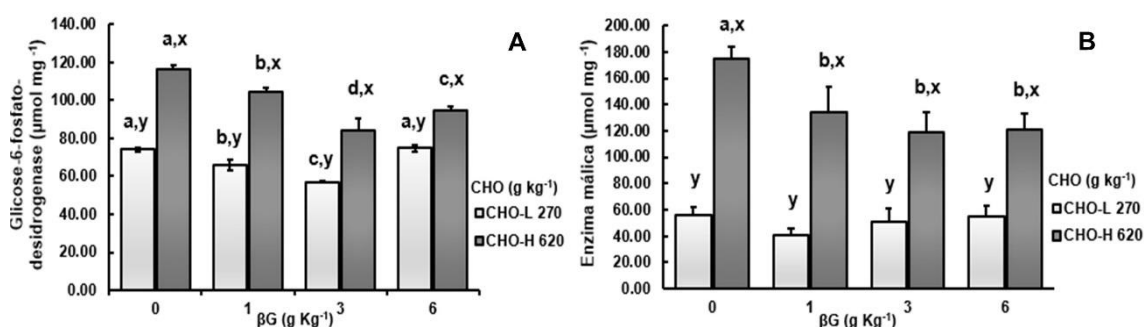


Figura 9. Efeito da interação entre glucano e carboidratos da dieta para enzimas hepáticas da lipogênese de juvenis de tilápia do Nilo. Médias de 4 repetições ($n=4$). a, b, c: Indicam médias estatisticamente diferentes entre os níveis de glucano pelo teste Tukey ($P < 0,05$). x,y: Indicam médias estatisticamente diferente entre os níveis de carboidratos pelo teste Tukey ($P < 0,05$): G6PDH, glicose-6-fosfato desidrogenase (A); EM, enzima málica (B).

4 - Discussão

Até onde sabemos, este estudo foi o primeiro a investigar os efeitos da relação β -glucano / carboidratos da dieta no desempenho, nas vias metabólicas hepáticas envolvidas no metabolismo de carboidratos e lipídios do fígado de tilápia do Nilo, sendo estes principais requisitos para otimizar o perfil nutricional da dieta.

Os resultados obtidos nesse estudo revelaram melhor performance de crescimento dos peixes alimentados com níveis elevados de amido, e quando houve a inclusão de 1 g kg^{-1} do β -glucano as respostas de desempenho dos juvenis de tilápias foram ainda melhores. Esse fato sugere que o amido foi utilizado como energia pela tilápia, e, portanto, a proteína da dieta foi direcionada para crescimento. Ao contrário do presente estudo, autores como, Azaza et al. (2015), Wang et al. (2017), Boonanuntasarn et al. (2018a), Boonanuntasarn et al. (2018b), Chen et al. (2020) e Luo et al., (2020) encontraram resultados de que peixes alimentados com alto carboidrato apresentaram reduzido crescimento, o que pode estar relacionado a distintos fatores como, à biologia (hábito alimentar, exercícios, genótipo), dieta (fonte de carboidratos - origem botânica, complexidade molecular, estado físico; nível de inclusão e estratégias de alimentação; interações de nutrientes) e o ambiente (temperatura, salinidade, estresse, fotoperíodo) (KAMALAM; MEDALE; PANSEERAT, 2017).

De fato, os fatores mencionados podem influenciar nos distintos resultados obtidos nos estudos, porém um dos pontos a serem destacados é a formulação da dieta. Alguns não adotaram o critério de dietas isoproteicas (AZAZA et al., 2015; BOONANUNTASARN et al., 2018a; BOONANUNTASARN et al., 2018b), sendo assim, dietas com reduzido CHO, apresentavam grandes quantidades de proteína, sendo o excesso direcionado para desaminação e catabolismo de aminoácidos (NRC, 2011), resultando em maior excreção de amônia (WILSON, 2002). Já dietas com elevado CHOs, contém menores teores de proteína, refletindo diretamente no desempenho animal, pois possuem maior pressão sobre a proteína corporal devido aos nutrientes dietéticos necessários para atender à demanda de síntese,

manutenção e metabolismo de proteínas nos tecidos (GARCÍA-MEILÁN et al., 2013; JIN et al., 2015; JIANG et al., 2016).

Com relação ao consumo, uma tendência positiva do amido na dieta em aumentar a ingestão de ração pelos peixes foi observado, o que contraria alguns estudos na literatura, que relatam redução na ingestão de alimentos com níveis elevados de amido em comparação a dietas com menores conteúdos de amido (SANDRE et al., 2017; CARDOSO et al., 2021). Evidências indicam que o controle da ingestão alimentar ocorre para atingir um determinado status energético, e está relacionado à energia digestível da dieta (BOUJARD; MÉDALE, 1994; MORALES et al., 1994; GÉLINEAU; BOUJARD, 2001; GÉLINEAU et al., 2001), o que possivelmente não ocorreu, pois, as dietas experimentais ofertadas no presente estudo foram isoenergéticas.

No entanto, a fim de manter a isoenergia constante entre elas, o teor de lipídio das dietas foi modificado, sendo a principal fonte energética da dieta com alto carboidrato o amido, diferente da dieta com baixo carboidrato que continha a gordura como principal fonte energética. De acordo com Saravanan et al. (2012) os peixes não regulam seu consumo com base na densidade dietética de energia digestível (ED) como um todo, sugerindo um possível papel da utilização de energia ou nutrientes e, portanto, da fonte de ED na regulação da ingestão de alimentos em peixes, indicando então, que a fonte energética pode ter afetado a ingestão de alimento pelas tilápias. Estudos acerca da regulação de ingestão de dietas ricas em carboidratos são necessários para melhor entendimento.

Visto que o desempenho dos peixes alimentados com alto carboidrato foram superiores aos peixes alimentados com baixo carboidrato, o β -glucano conseguiu com suas propriedades benéficas, propiciar melhores resultados de desempenho produtivo. Fato este que pode estar relacionado com a modulação da microbiota intestinal, aumentando a integridade das vilosidades e a resistência a bactérias patogênicas, seguido com um aumento na eficiência de digestão e absorção das dietas (DAWOOD; KOSHIO, 2016; RAA, 2015). Assim, este prebiótico proporcionou melhor digestão e a utilização de nutrientes, ativando a microbiota benéfica, que segregam enzimas digestivas no trato gastrointestinal dos peixes (DAWOOD; KOSHIO; ESTEBAN, 2018). Por isso, foram capazes de apresentar melhor eficiência alimentar, possibilitando que os

efeitos adversos do elevado nível de CHOs fossem compensados por sua adição.

Os ingredientes da nutrição alimentar não exercem influência apenas no crescimento dos peixes, mas também nas condições fisiológicas, como parâmetros bioquímicos do plasma, fisiologia do tecido e índices bioquímicos (TIAN et al., 2012; WANG et al., 2014). Dentro desse contexto, as dietas ofertadas a tilápia do Nilo tiveram possível influência nos resultados do colesterol sérico nos peixes, pois, houve redução significativa com o aumento do carboidrato da dieta. O colesterol pode ser obtido da dieta ou sintetizado, principalmente no fígado e intestino (MAITA et al., 2006). Em situações normais de alimentação, o colesterol endógeno é diretamente regulado pelos níveis de colesterol presentes na dieta, assim, a concentração de colesterol sérico pode variar dependendo do estado nutricional dos peixes (DU et al., 2005). Isso pode ser consistente com o conteúdo de lipídios da dieta do presente estudo (CHO-L = 9.9% EE; CHO-H = 5.3% EE) e, portanto, o aumento da concentração de colesterol sérico indicou um transporte lipídico endógeno mais ativo, em resposta ao maior incremento de lipídio na dieta (ZHOU et al., 2016; SANDRE et al., 2017).

Já os níveis de glicose plasmática não foram afetados pela ingestão de dieta rica em CHO sugerindo capacidade de regular eficientemente a glicemia, o que também foi comprovado por outros estudos (XIE et al., 2017; LI et al., 2019; CARDOSO et al., 2020). Em consonância com a glicose, a atividade hepática da enzima GK não foi influenciada pelo CHO-H da dieta. A GK é uma das principais enzimas que mantém a homeostase da glicose no sangue através da ação catalítica da fosforilação de glicose e fornecendo o substrato para a glicólise, glicogênese e a via da pentose fosfato (ENGELKING, 2010). Mesmo que a lipogênese não esteja diretamente ligada ao metabolismo da glicose, esta via pode desempenhar um papel importante na homeostase da glicose devido à conversão da glicose (em excesso) em ácidos graxos (CAI et al., 2018).

Ademais, alguns estudos também relatam que a indução da atividade de GK pelos carboidratos é menor em peixes onívoros por utilizarem bem carboidratos, (PANSEERAT et al., 2000; CAPILLA et al., 2004; KUMAR et al., 2009; ROBISON et al., 2008; SHIAU et al., 1997; GAO et al., 2016). Isso sugere que a indução de GK hepática não é um fator limitado ao uso de carboidratos na

dieta. A regulação de GK pode depender também das fontes utilizadas (PANSERAT; RIDEAU; POLAKOF, 2014), já que estudos relatam atividades enzimáticas da GK maiores em peixes alimentados com glicose e com as dietas de maltose em relação aqueles alimentados com dextrina e amido (ENES et al., 2008a; ENES et al., 2010).

Por outro lado, houve aumento de maneira significativa para a enzima hepática HK. Em animais, a reação de fosforilação da glicose catalisada pela hexoquinase é a primeira reação limitante da taxa de glicólise, que consiste na fosforilação da glicose em glicose-6-fosfato e, posteriormente, remove a glicose da circulação pelo fígado (WILSON, 2003) realizando papel fundamental no metabolismo intermediário. O consumo de altos níveis de carboidratos dietéticos pode resultar do baixo nível de fosforilação da glicose pelo baixo Km HK (HK I-III), principalmente no fígado e músculo esquelético (NAGAYAMA; OHSHIMA; TAKEUCHI, 1973; NAGAYAMA; OHSHIMA, 1974). Esse resultado pode ser justificado por uma sobrecarga / saturação da glicose presente no fígado, sendo assim, uma vez atingido o limiar de saturação enzima / substrato, a eficiência da fosforilação da glicose em glicose-6-fosfato não melhorou mais (LI et al., 2018).

A atividade enzimática PK é outra enzima glicolítica chave, e embora tenha sido aceito que essa enzima tem uma regulação nutricional, em algumas espécies de peixes sua regulação por carboidratos ainda é controversa (ENES et al., 2009; KAMALAM; MEDALE; PANSERAT, 2017). Em nossa investigação, nenhum efeito da ingestão de carboidratos na dieta sobre a atividade farmacocinética do fígado de tilápia do Nilo foi observado, isso está de acordo com estudos anteriores realizados em pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (PEREIRA et al., 2020), gar tropical (*Atractosteus tropicus*) (GUERRERO ZÁRATE et al., 2019); carpa gibe L. (*Carassius auratus gibelio*), carpa capim (*Ctenopharyngodon idellus*) (LI et al., 2016) e dourada (*Sparus aurata*) (ENES et al., 2008a).

Em contrapartida, foi observado um efeito na atividade de PK dependente do tipo de carboidrato fornecido. No robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*) foi relatada uma maior indução de PK do fígado pela glicose do que pelo amido, enquanto na carpa gibel (*Carassius auratus*) e bagre chinês (*Leiocassis longirostris*) a PK foi significativamente maior em peixes alimentados com dietas contendo sacarose do que glicose, dextrina ou amido (GUERRERO-ZÁRATE et

al., 2019). Além do mais, de acordo com Panserat et al. (2000), a indução de PK não se deve principalmente a mecanismos de transcrição, porém está possivelmente associada à regulação pós-transcricional ou a modificações enzimáticas qualitativas, como fosforilação/desfosforilação, explicando assim os distintos resultados de indução de PK obtidos nos diferentes estudos.

Novamente, o β G se mostrou benéfico atuando nas enzimas glicolíticas, reduzindo as atividades de HK e PK, no entanto, os mecanismos envolvendo esse prebiótico em enzimas glicolíticas para peixe ainda são desconhecidos, sendo necessário outros estudos para possíveis aprofundamentos e conclusões.

Os peixes ao ingerirem altas quantidades de carboidratos, o excesso pode ser armazenado principalmente no fígado como glicogênio (glicogênese) ou como triglicerídeos (lipogênese) nos tecidos adiposo e muscular (ENES et al., 2009). Maiores concentrações de triglicerídeos séricos nos peixes alimentados com CHO-H foram encontradas, sugerindo a ocorrência de lipogênese, pela síntese de triglicerídeos hepáticos. O excesso de CHO é convertido em açúcar simples por digestão, e posteriormente, em piruvato por glicólise; o piruvato, é então oxidado para adquirir energia ou direcionado para as vias de síntese de ácidos graxos (lipogênese) quando a energia está disponível (UYEDA; REPA et al., 2006).

Esses resultados, demonstram mais uma vez que os níveis de glicose sanguíneo estáveis são devido ao potencial aumentado da lipogênese, confirmado pelos teores de triglicerídeos séricos, bem como possível ausência de alteração na gliconeogênese (LI et al., 2019). Isto também pode explicar os IHS mais altos identificados nesses grupos e pode ser atribuído ao aumento da deposição de glicogênio hepático (RAWLES; SMITH; GATLIN, 2008; ENES et al., 2010). Além do mais, esses resultados mostram uma relação com as enzimas metabólicas envolvidas na lipogênese, a G6PDH e EM que apresentaram maior atividade para dieta CHO-H, indicando aumento da capacidade de geração de NADPH, necessária para conversão de carboidratos em gordura (AZAZA et al., 2015). Isso inevitavelmente resultou em maior deposição de lipídios no músculo, indicando uma consequência do excesso de ingestão de energia.

Através disso, é possível inferir que a dieta CHO-H provocou a lipogênese desejada para averiguar os efeitos do glucano. E também confirmou a premissa

do estudo de que o β -glucano atuaria nos estoques de lipídios na tilápia, pois a inclusão de 1 g kg^{-1} desempenhou efeito positivo na redução do triglicerídeos, IHS e lipídio muscular, assim como, foi capaz de atenuar as enzimas metabólicas envolvidas na lipogênese. Os mecanismos envolvendo o efeito benéfico do β G em dietas para peixes são elucidados como potencial imunoestimulante, mas há evidências comprovadas de que afetam o metabolismo de carboidratos em humanos e ratos, principalmente em doenças relacionadas a síndrome metabólica.

Um dos efeitos pode ser atribuído à fermentação desse polissacarídeo por bactérias intestinais, originando a produção de ácidos graxos de cadeia curta, que são retidos pela veia porta e conduzido ao fígado, reduzindo a produção de lipídeos. Outra possível explicação é a ligação do β -glucano aos ácidos biliares do intestino, retardo do esvaziamento gástrico e interferência na absorção de gordura pelo aumento da viscosidade intestinal (BELL et al., 1999).

Evidências recentes demonstraram também que o β -glucano exerce seu efeito ao ativar a via de sinalização AMPK, um importante sensor e regulador da homeostase energética em nível celular. A ativação de AMPK promove mecanismos de geração de ATP, como a oxidação de lipídios, enquanto reduz os processos que consomem energia, como triglicerídeos e síntese de proteínas (LIU et al., 2018). Além disso, a ativação da via de sinal de AMPK leva à inibição da expressão gênica envolvida na síntese de glicose e lipídios, interferindo em fatores de transcrição e enzimas metabólicas, como ácido graxo sintase (FAS) e outros (SRIVASTAVA et al., 2012).

5 - CONCLUSÃO

Os dados apresentados mostram que a tilápia do Nilo pode ter melhor performance de desempenho com dietas contendo alto carboidrato. Por outro lado, demonstram que a ingestão de carboidratos está associada a indução da lipogênese. A inclusão de 1 g Kg^{-1} do β -glucano foi suficiente para potencializar as respostas de crescimento e capaz de reduzir triglicerídeos, índice hepatossmático, lipídio muscular e atividade das enzimas chaves hepática da via glicolítica e lipogênica, atenuando então os distúrbios metabólicos causados em tilápias do Nilo alimentadas com alto carboidrato.

6 - REFERÊNCIAS

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis**. 18th ed. Assoc. Anal. Chem, Gaithersburg, MD, USA.

AZAZA, M. S. et al. Growth performance, oxidative stress indices and hepatic carbohydrate metabolic enzymes activities of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L., in response to dietary starch to protein ratios. **Aquaculture research**, v. 46, n. 1, p. 14-27, 2015.

AZAZA, M. S. et al. Growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fed with diets containing graded levels of green algae (*Ulva rigida*) reared in geothermal waters in southern Tunisia. **Journal of Applied Ichthyology**, 24, 202–207, 2008a.

AZAZA, M. S., DHRAIEF, M. N.; KRAIEM, M. M. Effects of water temperature on growth and sex ratio of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) reared in geothermal waters in southern Tunisia. **Journal of Thermal Biology**, 33, 98-105, 2008b.

BELL, S. et al. Effect of β -glucan from oats and yeast on serum lipids. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 39, n. 2, p. 189-202, 1999.

BEUTLER, H.O.; BERGMAYER, H.U. Methods of enzymatic analysis, Londres, Starch **Biosynthesis Nutrition Biomedical**, v. 6, p. 2–10, 1984.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method for total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, p. 911-917, 1959.

BOONANUNTANASARN, S. et al. Adaptation of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to different levels of dietary carbohydrates: new insights from a long term nutritional study. **Aquaculture**, v. 496, p. 58-65, 2018a.

BOONANUNTANASARN, S. et al. Molecular responses of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to different levels of dietary carbohydrates. **Aquaculture**, v. 482, p. 117-123, 2018b.

BOUJARD, T.; MÉDALE, F. Regulation of voluntary feed intake in juvenile rainbow trout fed by hand or by self-feeders with diets containing two different protein/energy ratios. **Aquatic Living Resources**, v. 7, n. 3, p. 211-215, 1994.

CAI, W. et al. Different strategies of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) responding to insufficient or excessive dietary carbohydrate. **Aquaculture**, v. 497, p. 292-298, 2018.

CAPILLA, E. et al. Response of hexokinase enzymes and the insulin system to dietary carbohydrates in the common carp, *Cyprinus carpio*. **Reproduction Nutrition Development**, v. 44, p. 233-242, 2004.

CARBONELL, J. et al. Pyruvate Kinase. Classes of regulatory isoenzymes in mammalian tissues. **European Journal of Biochemistry**, p. 148-156. 1973.

CARDOSO, da S. A. J. et al. Ginger oil, *Zingiber officinale*, improve palatability, growth and nutrient utilisation efficiency in Nile tilapia fed with excess of starch. **Animal Feed Science and Technology**, p. 114756, 2020.

CHEN, J-X et al. Starch to protein ratios in practical diets for genetically improved farmed Nile tilapia *Oreochromis niloticus*: Effects on growth, body composition, peripheral glucose metabolism and glucose tolerance. **Aquaculture**, v. 515, p. 734538, 2020.

COUTINHO, J. J. O. et al. Carbohydrate-to-lipid ratio in extruded diets for Nile tilapia farmed in net cages. **Aquaculture**, v. 497, p. 520-525, 2018.

DAWOOD, M. A. O et al. The role of β -glucan in the growth, intestinal morphometry, and immune-related gene and heat shock protein expressions of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) under different stocking densities. **Aquaculture**, p. 735205, 2020.

DAWOOD, M. A. O; KOSHIO, S.; ESTEBAN, M. Á. Beneficial roles of feed additives as immunostimulants in aquaculture: a review. **Reviews in Aquaculture**, v. 10, n. 4, p. 950-974, 2018.

DAWOOD, M. A. O et al. Changes in the growth, humoral and mucosal immune responses following β -glucan and vitamin C administration in red sea bream, *Pagrus major*. **Aquaculture**, v. 470, p. 214-222, 2017a.

DAWOOD, M. A. O. et al. Dietary supplementation of β -glucan improves growth performance, the innate immune response and stress resistance of red sea bream, *P. agrus major*. **Aquaculture Nutrition**, v. 23, p. 148-159, 2017b.

DAWOOD, M. A. O; KOSHIO, S. Recent advances in the role of probiotics and prebiotics in carp aquaculture: a review. **Aquaculture**, v. 454, p. 243-251, 2016.

DE ARAÚJO, T. V. et al. Effects of beta-glucans ingestion (*Saccharomyces cerevisiae*) on metabolism of rats receiving high-fat diet. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 101, p. 349-358, 2017.

DE CRUZ, C. R. et al. Effects of extruder die temperature on the physical properties of extruded fish pellets containing taro and broken rice starch. **Animal Feed Science and Technology**, v. 199, p. 137-145, 2015.

DETMANN, E. et al. Métodos para análise de alimentos. **Visconde do Rio Branco: Suprema**, v. 214, 2012.

DU, Z.-Y. et al. Effect of dietary lipid level on growth, feed utilization and body composition by juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Aquaculture Nutrition**, v. 11, n. 2, p. 139-146, 2005.

Engelking, L. **Chapter 21 - overview of carbohydrate metabolism**. Textbook of Veterinary Physiological Chemistry, 2015, Elsevier Inc. (2010), pp. 136-140

ENES, P. et al. 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.

ENES, P. et al. Nutritional regulation of hepatic glucose metabolism in fish. **Fish physiology and biochemistry**, v. 35, n. 3, p. 519-539, 2009.

ENES, P. et al. Growth performance and metabolic utilization of diets with native and waxy maize starch by gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles. **Aquaculture**, v. 274, n. 1, p. 101-108, 2008a.

ENES, P. et al. Hepatic glucokinase and glucose-6-phosphatase responses to dietary glucose and starch in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles reared at two temperatures. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 149, n. 1, p. 80-86, 2008b.

ENES, P. et al. Nutritional regulation of hepatic glucose metabolism in fish. **Fish physiology and biochemistry**, v. 35, n. 3, p. 519-539, 2009.

ENES, P. et al. 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.

FIGUEIREDO-SILVA, C. A. et al. A comparative study of the metabolic response in rainbow trout and Nile tilapia to changes in dietary macronutrient composition. **British journal of Nutrition**, v. 109, p. 816-826, 2013.

FERGUSON, H. W. Systemic pathology of Fish. **A text and atlas of comparative tissue responses in diseases of teleosts.**, 1989.

FURUYA, W. M. et al. 2010. **Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias.** Toledo: GFM. 100p.

GAO, W. et al. Effect of dietary carbohydrate-to-lipid ratios on growth performance, body composition, nutrient utilization and hepatic enzymes activities of herbivorous grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Aquaculture Nutrition**, v. 16, n. 3, p. 327-333, 2010.

GARCÍA-MEILÁN, I. et al. Different protein to energy ratio diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata*): Effects on digestive and absorptive processes. **Aquaculture**, v. 412, p. 1-7, 2013.

GÉLINEAU, A.; BOUJARD, T. Oral administration of cholecystokinin receptor antagonists increase feed intake in rainbow trout. **Journal of Fish Biology**, v. 58, n. 3, p. 716-724, 2001.

GÉLINEAU, A. et al. Relation between dietary lipid level and voluntary feed intake, growth, nutrient gain, lipid deposition and hepatic lipogenesis in rainbow trout. **Reproduction Nutrition Development**, v. 41, n. 6, p. 487-503, 2001.

GINGERICH, W. H. Hepatic toxicology of fishes. **Aquatic toxicology**, v. 1, p. 55-105, 1982.

GUERRERO-ZÁRATE, Rocío et al. Evaluation of carbohydrate/lipid ratios on growth and metabolic response in tropical gar (*Atractosteus tropicus*) juvenile. **Aquaculture Research**, v. 50, n. 7, p. 1812-1823, 2019.

GUNNESS, P.; GIDLEY, M. J. Mechanisms underlying the cholesterol-lowering properties of soluble dietary fibre polysaccharides. **Food & function**, v. 1, p. 149-155, 2010.

JIANG, S. et al. Optimal dietary protein level and protein to energy ratio for hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*♀× *Epinephelus lanceolatus*♂) juveniles. **Aquaculture**, v. 465, p. 28-36, 2016

JI, L. et al. Effect of dietary β -glucan on growth, survival and regulation of immune processes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) infected by *Aeromonas salmonicida*. **Fish & shellfish immunology**, v. 64, p. 56-67, 2017.

JIN, Y. et al. Interactions between dietary protein levels, growth performance, feed utilization, gene expression and metabolic products in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Aquaculture**, v. 437, p. 75-83, 2015.

JOBLING, M. National Research Council (NRC): Nutrient requirements of fish and shrimp. **Aquaculture International**, v. 3, p. 601-602, 2012.

KABIR, K. A. et al. Effect of dietary carbohydrate to lipid ratio on performance of Nile tilapia and enhancement of natural food in pond aquaculture. **Aquaculture Research**, v. 51, p. 1942-1954, 2020.

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.

KROGDAHL, Å.; HEMRE, G.-I.; MOMMSEN, T. P. Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. **Aquaculture nutrition**, v. 11, n. 2, p. 103-122, 2005.

KUMAR, S. et al. Modulation of key metabolic enzyme of *Labeo rohita* (Hamilton) juvenile: effect of dietary starch type, protein level and exogenous α -amylase in the diet. **Fish physiology and biochemistry**, v. 35, n. 2, p. 301-315, 2009.

LATZKO, E.; Y GIBBS, M. **Alkaline C-Fructose-1,6-di-phosphatase: en methods of enzymatic analysis**. Londres: Academic Press, v. 2, p. 881- 884, 1970.

LE, KA.; BORTOLOTTI, M. Role of dietary carbohydrates and macronutrients in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v. 11, p. 477-482, 2008.

LI, H. et al. Effects of dietary carbohydrate and lipid concentrations on growth performance, feed utilization, glucose, and lipid metabolism in two strains of gibel carp. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 6, p. 165, 2019.

LI, R. et al. Molecular characterization and expression analysis of glucose transporter 1 and hepatic glycolytic enzymes activities from herbivorous fish *Ctenopharyngodon idellus* in respond to a glucose load after the adaptation to dietary carbohydrate levels. **Aquaculture**, v. 492, p. 290-299, 2018.

LI, Xiangsong et al. Carbohydrate utilization by herbivorous and omnivorous freshwater fish species: a comparative study on gibel carp (*C arassius auratus gibelio*. var CAS III) and grass carp (*C tenopharyngodon idellus*). **Aquaculture Research**, v. 47, n. 1, p. 128-139, 2016.

LIU, Bo et al. Oat β -glucan inhibits adipogenesis and hepatic steatosis in high fat diet-induced hyperlipidemic mice via AMPK signaling. **Journal of functional foods**, v. 41, p. 72-82, 2018.

LOHR, G. W.; WALLER, H. D. **Glucose 6 phosfate dehydrogenase: methods of enzymatic analysis**. Londres: Academic Press, v.2, p 636-641, 1960.

LUO, Y. et al. Gemfibrozil improves lipid metabolism in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed a high-carbohydrate diet through peroxisome proliferator activated receptor- α activation. **General and Comparative Endocrinology**, p. 113537, 2020.

MA, H. J. et al. Effect of dietary starch level on growth, metabolism enzyme and oxidative status of juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides*. **Aquaculture**, v. 498, p. 482-487, 2019.

MAITA, M. et al. Disease resistance and hypocholesterolemia in yellowtail *Seriola quinqueradiata* fed a non-fishmeal diet. **Fisheries Science**, v. 72, n. 3, p. 513-519, 2006.

MALIK, V. S.; HU, F. B. Fructose and cardiometabolic health: what the evidence from sugar-sweetened beverages tells us. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 66, p. 1615-1624, 2015.

MARANDEL, L. et al. New insights into the nutritional regulation of gluconeogenesis in carnivorous rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): a gene duplication trail. **Physiological genomics**, v. 47, p. 253-263, 2015.

MORALES, A. E. et al. Effects of dietary protein source on growth, feed conversion and energy utilization in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**, v. 124, n. 1-4, p. 117-126, 1994.

NAGAYAMA, F.; OSHIMA, H. Studies on the enzyme system of carbohydrate metabolism in fish, 1: Properties of liver hexokinase. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, 1974.

NAGAYAMA, F.; OHSHIMA, H.; TAKEUCHI, T. Activities of hexokinase and glucose dehydrogenase in fish liver. **BULLETIN OF THE JAPANESE SOCIETY OF SCIENTIFIC FISHERIES**, v. 39, n. 12, p. 1349-1349, 1973.

NRC. (2011). **Nutrient requirements of fish and shrimp**. Washington, DC: National Academies Press.

PANSERAT, S. et al. Hepatic glucokinase is induced by dietary carbohydrates in rainbow trout, gilthead seabream, and common carp. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 278, n. 5, p. R1164, -R1170, 2000.

PEREIRA, M. et al. Growth performance and metabolic responses to dietary protein/carbohydrate ratios in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles. **Aquaculture Research**, v. 51, n. 12, p. 5203-5211, 2020.

PÉREZ-JIMÉNEZ, A. et al. Use of different combinations of macronutrients in diets for dentex (*Dentex dentex*). Effects on intermediary metabolism. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, v.152, p.314-321, 2009.

PERRY, S. F.; WALSH, P. J.; MOMMSEN, T. P.; MOON, T. W. Metabolic consequences of hypercapnia in the rainbow trout *Salmo gairdneri*: β -adrenergic effects. **General and Comparative Endocrinology**, v.69, p.439-447, 1988.

POLAKOF, S. et al. Glucose metabolism in fish: a review. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 182, n. 8, p. 1015-1045, 2012.

POPMA, T. Tilapia: life history and biology. **Southern Regional Aquaculture Center**, 1990.

RAA, J. Immune modulation by non-digestible and non-absorbable beta-1, 3/1, 6-glucan. **Microbial ecology in health and disease**, v. 26, n. 1, p. 278-284, 2015.

REINHOLD, J. G. Total protein, albumin and globulin. In: REINER, M. (Ed.) **Standard methods of clinical chemistry**, v.1, p.88, 1953.

RAWLES, S. D.; SMITH, S. B.; GATLIN III, D. M. Hepatic glucose utilization and lipogenesis of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*) in response to dietary carbohydrate level and complexity. **Aquaculture Nutrition**, v. 14, n. 1, p. 40-50, 2008.

RINGØ, E. et al. Prebiotics in aquaculture: a review. **Aquaculture Nutrition**, v. 16, n. 2, p. 117-136, 2010.

ROBISON, B. D. et al. Sexual dimorphism in hepatic gene expression and the response to dietary carbohydrate manipulation in the zebrafish (*Danio rerio*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics**, v. 3, n. 2, p. 141-154, 2008.

ROSS, L. G. "Environmental physiology and energetics in MCM Beveridge and BJ McAndrew, eds. *Tilapias: Biology and Exploitation*", 2000.

ROSTAGNO, H. S. et al. Tabelas brasileiras para aves e suínos. **Composição de alimentos e exigências nutricionais**. ED. ROSTAGNO, H.S. Viçosa: UFV, p. 252, 2017.

SANDRE, L. C. G. et al. Growth and energy metabolism of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed diets with different levels of carbohydrates and lipids. **Fisheries and Aquaculture Journal**, v. 8, n. 3, p. 1-8, 2017.

SARAVANAN, Subramanian et al. Constraints on energy intake in fish: the link between diet composition, energy metabolism, and energy intake in rainbow trout. **PLoS One**, v. 7, n. 4, p. e34743, 2012.

SEILIEZ, I. et al. Dietary carbohydrate-to-protein ratio affects TOR signaling and metabolism-related gene expression in the liver and muscle of rainbow trout after a single meal. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 300, p. R733-R743, 2011.

SHIAU, Shi Yen. Utilization of carbohydrates in warmwater fish—with particular reference to tilapia, *Oreochromis niloticus* X *O. aureus*. **Aquaculture**, v. 151, n. 1-4, p. 79-96, 1997.

SRIVASTAVA, R. A. K. et al. AMP-activated protein kinase: an emerging drug target to regulate imbalances in lipid and carbohydrate metabolism to treat cardio-metabolic diseases Thematic Review Series: New Lipid and Lipoprotein Targets for the Treatment of Cardiometabolic Diseases. **Journal of lipid research**, v. 53, n. 12, p. 2490-2514, 2012.

TIAN, L. X. et al. Effects of different dietary wheat starch levels on growth, feed efficiency and digestibility in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Aquaculture international**, v. 20, n. 2, p. 283-293, 2012.

TRAN-DUY, An et al. Effects of dietary starch and energy levels on maximum feed intake, growth and metabolism of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v. 277, n. 3-4, p. 213-219, 2008.

UYEDA, K.; REPA, J. J. Carbohydrate response element binding protein, ChREBP, a transcription factor coupling hepatic glucose utilization and lipid synthesis. **Cell metabolism**, v. 4, n. 2, p. 107-110, 2006.

VIUDA-MARTOS, M. et al. Role of fiber in cardiovascular diseases: a review. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v. 9, p. 240-258, 2010.

XIE, Di. et al. Effects of dietary carbohydrate and lipid levels on growth and hepatic lipid deposition of juvenile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v. 479, p. 696-703, 2017.

WANG, X-X et al. Growth and metabolic responses in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) subjected to varied starch and protein levels of diets. **Italian Journal of Animal Science**, v. 16, n. 2, p. 308-316, 2017.

WANG, LiNa et al. Effects of dietary non-protein energy sources on growth, physiology and biochemistry of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). **Journal of Nanjing Agricultural University**, v. 37, n. 1, p. 108-114, 2014.

WILSON, J. E. Isozymes of mammalian hexokinase: structure, subcellular localization and metabolic function. **Journal of Experimental Biology**, v. 206, n. 12, p. 2049-2057, 2003.

WILSON, R. P. Amino acids and proteins. In: Halver JE, Hardy RW (eds) **Fish nutrition**, 3 rd edn. Academic Press Inc., San Diego, pp 143-199, 2002.

WOLF, J. C.; WHEELER, J. R. A critical review of histopathological findings associated with endocrine and non-endocrine hepatic toxicity in fish models. **Aquatic Toxicology**, v. 197, p. 60-78, 2018.

VIJAYAN, M. M.; BALLANTYNE, J. S.; LEATHERLAND, J. F. High stocking density alters the energy metabolism of brook charr, *Salvelinus fontinalis*. **Aquaculture**, v. 88, p. 371-381, 1990.

ZHOU, P. et al. Effects of dietary carbohydrate to lipid ratios on growth performance, digestive enzyme and hepatic carbohydrate metabolic enzyme activities of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*). **Aquaculture**, v. 452, p. 45-51, 2016.