

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**Desempenho produtivo e resistência ao estresse pelo frio da tilápia do Nilo alimentada
com dietas suplementadas com levedura autolisada e zinco**

Altevir Signor

Engenheiro de Pesca

Jaboticabal – São Paulo

2007

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**Desempenho produtivo e resistência ao estresse pelo frio da tilápia do Nilo alimentada
com dietas suplementadas com levedura autolisada e zinco**

Altevir Signor

Orientadora: Profa. Dra. Margarida Maria Barros

Dissertação apresentada ao Centro de
Aqüicultura da Unesp – Caunesp –
Câmpus de Jaboticabal como parte
das exigências para a obtenção do
Título de Mestre em Aqüicultura

Jaboticabal – São Paulo

Fevereiro de 2007

A vantagem de ser homem é poder maravilhar as belezas

Que as paisagens terrestres nos apresentam

A desvantagem é que percebemos tal fato

Quando elas já não mais existem

Entretanto

A vida nos oferece oportunidades e dela podemos

Colher bons frutos basta para isso

Continuarmos a semear

Desta forma

Podemos recuperar o que jamais imaginávamos

Transformando-o em uma beleza

Jamais vista gerando

Algo imensurável

A vida

Autor desconhecido

Dedicatória

Aos meus pais,

Arquimedes Signor e Zélia Maria Signor,

Pela atenção, ensinamentos, carinho, dedicação, compreensão, simplicidade e exemplos de amor aos valores da vida,.....

Motivo de minha existência, persistência e conquistas.....

Minha eterna gratidão, admiração, amor e respeito;

Aos meus irmãos, Adriana, Arcangelo e Andréia pelo apoio, carinho e amizade durante todos esses anos;

Aos meus avós Ângelo Signor e Ilha Tondo pela inspiração, incentivo, carinho e amor. Em memória à minha querida, carinhosa e amável avó Zita Rossarola pelo apoio, inspiração, incentivo, carinho e amor;

A minha namorada, Simone Cesário Soares pelo apoio, incentivo fundamental na minha caminhada, dedicação, amizade, paciência, carinho e amor em todos os momentos.

Pessoas que foram fundamental em todos os momentos de minha vida, base de sustentação dos meus princípios e objetivos.

HOMENAGEM Á ORIENTADORA

*O planeta é enorme, mas cabe em um
pequeno balão e pode ser visto em uma
pequena janela sobre o mar
O mar é grande, mas menor muito menor
que o planeta que pode ser visto em uma
pequena janela sobre o mar
A semente plantada, por menor que seja,
pode crescer se transformar em uma
grande árvore e gerar frutos
Mas por maior que sejam os frutos serão
menor muito menor que o mar
Aos olhos do planeta podem ser
insignificantes*

O sucesso alcançado depende do empenho, dedicação, criatividade, respeito e conhecimentos adquiridos

Entretanto o sucesso de um depende do sucesso de todos, mas a criatividade é natural de cada um

O crescimento profissional é fruto do conhecimento, profissionalismo, dedicação, envolvimento pessoal e da competência

Entretanto, o mais importante de tudo isso é a amizade, o companheirismo, o respeito e a sinceridade

Que nos enriquecem e nos transformam.

Pela Amizade

Companheirismo

Profissionalismo

Criatividade

Respeito

Competência

Responsabilidade

Meus agradecimentos a Prof. Dra. Margarida Maria Barros

AGRADECIMENTOS

Á Deus por permitir o dom da vida e a graça de poder desfrutá-la com gratidão, amor, esperança e responsabilidade;

Á Professora Dra. Margarida Maria Barros pela oportunidade, orientação, irrestrita dedicação, atenção, confiança, incentivo, amizade e ensinamentos;

Ao Professor Dr. Luiz Edivaldo Pezzato, pela oportunidade, confiança e incentivo, sabedoria e exemplo profissional;

Ao Professor Dr. José Eduardo Butolo, pela atenção, confiança, amizade, sabedoria, dedicação e auxílios prestados ao longo da realização do trabalho;

Ao Professor Dr. Pedro Padilha, pela amizade, confiança, incentivo, atenção, sabedoria, dedicação e auxílios prestados ao longo da realização do trabalho e pela orientação nas análises químicas;

A Empresa SupreMais pela parceria na pessoa do Professor Dr. José Eduardo Butolo pela, confiança, sugestões e apoio;

A Usina São Luis em nome do Supervisor de Produção Industrial Marcos F. Zimak pela parceria, confiança, sugestões e apoio;

A toda equipe do Laboratório de Nutrição de Peixes – AquaNutri; Hamilton Hisano; Leonardo Tachibana; Giovane Sampaio Gonçalves; Dario Rocha Falcon; Geisa Karine Kleemann; Luiz Gabriel; Willian Vicente Narvaez Solarte; Igo Gomes Guimarães; André Bordighon; Viviam Gomes dos Santos; Ademir Calvo Fernandes Junior; Blanca Estella e Daniel de Magalhães Araújo pelos exemplos, auxílios e amizades em todo o período de realização do trabalho, união, respeito e dedicação. O meu Muito obrigado;

Aos amigos que direta ou indiretamente contribuíram para o sucesso do presente trabalho

Fabio Arlindo Silva e Renato de Cácio Ferreira Neves do Laboratório de Química do Instituto de Biociências, Renato Monteiro da Silva, Conceição Tenore do Carmo e Elaine Cristina N. F. Costa do Laboratório de Bromatologia e Luis Carlos Fernandes Auxiliar Administrativo do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal pelo auxílio nas análises realizadas, amizades e companheirismo;

Ao Laboratório de Análises Clínicas e Semi-nutri do distrito de Rubião Junior - Faculdade de Medicina do Hospital das Clínicas na pessoa Dra. Adriana Polachini do Valle e Maria Dorotéia Borges dos Santos pelo apoio e contribuição;

Ao Professor Dr. Carlos Roberto Padovani do Departamento de Bioestatística, pela atenção, auxílio e orientação na realização das análises estatísticas;

Às funcionárias da seção de Pós-Graduação do CAUNESP do Câmpus de Jaboticabal, em especial a Veralice Capato pela atenção, amizade e auxílios prestados;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pela concessão da bolsa de estudo, e auxílio financeiro na realização do trabalho;

Ao Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista – CAUNESP – Jaboticabal, pela oportunidade em realizar o Mestrado em Aquicultura de Organismos Aquáticos em Águas Continentais nesta Instituição;

Ao Professor Dr. Wilson Rogério Boscolo e prof. Dr. Aldi Feiden da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Unioeste, pelo incentivo, auxílio, experiência, amizade, confiança e colaboração nos momentos difíceis, o meu muito obrigado;

A todos que de alguma maneira contribuíram na elaboração e execução do projeto....

Obrigado!!!!!!!!!!!!!!

SUMÁRIO

<i>RESUMO GERAL</i>	1
<i>GENERAL ABSTRACT</i>	2
<i>INTRODUÇÃO GERAL</i>	3
<i>OBJETIVOS</i>	6
<i>CAPITULO I</i>	7
<i>REVISÃO DE LITERATURA</i>	8
<i>LEVEDURA: FUNÇÕES METABÓLICAS E FISIOLÓGICAS</i>	8
<i>Levedura como fonte de alimento</i>	8
<i>Levedura desidratada na nutrição animal</i>	12
<i>Absorção e Metabolismo da levedura</i>	16
<i>Benefícios nutricionais da levedura</i>	19
<i>MINERAL ZINCO: FUNÇÕES METABÓLICAS E FISIOLÓGICAS</i>	22
<i>O zinco na nutrição animal</i>	22
<i>Absorção e Metabolismo de zinco</i>	24
<i>Influência do zinco no desempenho e bem estar animal</i>	30
<i>Inter-relação do zinco com outros nutrientes</i>	33
<i>Capitulo 2</i>	37
<i>Capitulo 3</i>	37
<i>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i>	38
 <i>CAPITULO II</i>	 54
<i>TITULO</i>	55
<i>RESUMO</i>	55
<i>ABSTRACT</i>	56
<i>INTRODUÇÃO</i>	57
<i>MATERIAL E MÉTODOS</i>	58
<i>RESULTADOS</i>	60
<i>DISCUSSÃO</i>	62
<i>CONCLUSÕES</i>	67
<i>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i>	74

<i>CAPITULO III</i>	79
<i>TITULO</i>	80
<i>RESUMO</i>	80
<i>ABSTRACT</i>	81
<i>INTRODUÇÃO</i>	82
<i>MATERIAL E MÉTODOS</i>	83
<i>Fase I</i>	83
<i>Fase II</i>	85
<i>Estresse pelo frio</i>	85
<i>Análise estatística</i>	86
<i>RESULTADOS</i>	86
<i>DISCUSSÃO</i>	87
<i>CONCLUSÕES</i>	91
<i>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i>	96
<i>IMPLICAÇÕES</i>	101

ÍNDICES DE FIGURAS

CAPITULO II

Tabela 1. Composição percentual das dietas experimentais suplementadas com levedura autolisada (*Lev*) e zinco (*Zn*)..... 68

Tabela 2. Análise químico-bromatológica e de minerais das dietas experimentais suplementadas com levedura autolisada (*Lev*) e zinco (*Zn*)..... 69

Tabela 3. Média e desvio padrão do peso inicial, ganho de peso, consumo diário de ração, conversão alimentar aparente, consumo diário de proteína, taxa de eficiência protéica, porcentagem de sobrevivência, proteína, extrato etéreo, peso seco e cinza no músculo, peso seco e cinza nos ossos de alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com dietas suplementadas com levedura autolisada (*Lev*) e zinco (*Zn*) durante 128 dias 70

Tabela 4. Média e desvio padrão da concentração de amônia e atividade da fosfatase alcalina no fígado e concentração de amônia, uréia e lipídeos e atividade da fosfatase alcalina no plasma de alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com dietas suplementadas com levedura autolisada (*Lev*) e zinco (*Zn*) durante 128 dias..... 71

Tabela 5. Concentração de zinco e ferro no plasma e zinco, ferro, cobre, magnésio, cálcio e fósforo no fígado de alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com dietas suplementadas com levedura autolisada (*Lev*) e zinco (*Zn*) durante 128 dias..... 72

Tabela 6. Concentração de zinco, ferro, cobre, magnésio, cálcio e fósforo nos ossos de alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com dietas suplementadas com levedura autolisada (*Lev*) e zinco (*Zn*) durante 128 dias..... 73

CAPITULO III

Tabela 1. Composição percentual das dietas experimentais suplementadas com levedura autolisada (*Lev*) e zinco (*Zn*) para a tilápia do Nilo..... 92

Tabela 2. Média e desvio padrão do número de eritrócitos (*Erit*), porcentagem de hematócrito (*Htc*), taxa de hemoglobina (*Hb*), número de leucócitos totais (*Leuc*) e proteína plasmática total (*PPT*) de alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com dietas suplementadas com níveis de levedura autolisada (*Lev*) e zinco (*Zn*) e submetidos a estresse a frio..... 93

Tabela 3. Média e desvio padrão do volume corpúscular médio (*VCM*) e concentração de hemoglobina corpúscular média (*CHCM*) de alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com dietas suplementadas com níveis de levedura autolisada (*Lev*) e zinco (*Zn*) e submetidos a estresse pelo frio..... 94

Tabela 4. Média e desvio padrão do número de linfócitos (*Linf*), neutrófilos (*Neut*) e monócitos (*Mon*) de alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com dietas suplementadas com níveis de levedura autolisada (*Lev*) e zinco (*Zn*) e submetidas a estresse pelo frio..... 95

RESUMO GERAL: A levedura e o zinco são conhecidos por melhorarem o desempenho produtivo, a saúde e beneficiar o sistema de defesa imune dos peixes. O presente experimento avaliou o efeito da suplementação da levedura autolisada e zinco nas dietas no desempenho produtivo, respostas metabólicas, parâmetros hematológicos e a resistência à baixa temperatura da tilápia do Nilo. O experimento foi constituído por nove tratamentos e três repetições. As rações formuladas de forma a conter 32,0% PD e 3240 kcal ED/kg, mantendo-as isoprotéicas, isoaminoacídicas, isoenergéticas e igual relação Ca/P. Foram distribuídos aleatoriamente 135 alevinos machos de tilápia do Nilo em 27 aquários de 50L com sistema de filtro biológico e aquecimento ($26,0 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$). O arrazoamento dos peixes foi *ad libitum*, quatro vezes ao dia 8h00, 11h00, 14h00 e 17h00. O experimento foi conduzido por 128 dias para avaliar a inclusão de levedura autolisada e zinco nas dietas sobre o ganho médio de peso, consumo diário aparente, conversão alimentar aparente, eficiência protéica, porcentagem de sobrevivência; concentrações de amônia e atividade da fosfatase alcalina no plasma e no fígado, de lipídeos totais e uréia no plasma e; de minerais no plasma, no fígado e nos ossos dos peixes. Após as avaliações do desempenho produtivo, 81 peixes (nove/tratamento) foram transferidos a sala experimental de desafio pelo frio e distribuídos aleatoriamente em 27 aquários de 40L (três/aquário) e submetidos à baixa temperatura ($13,0^{\circ}\text{C}$) por sete dias. Foram avaliados os parâmetros hematológicos: número de eritrócitos, porcentagem de hematócrito, taxa de hemoglobina, volume corpuscular médio, concentração de hemoglobina corpuscular média, proteína plasmática total, leucócitos totais, porcentagem de linfócitos, neutrófilos e monócitos antes e após o desafio pelo frio. Os resultados indicam que: a inclusão de até 6,0% de levedura autolisada e 600 mg de zinco/kg de dieta não prejudicou o desempenho produtivo dos peixes; a suplementação de 2,0% de levedura autolisada sem inclusão de zinco na dieta determinou o melhor desempenho produtivo dos peixes; a suplementação superior a 6,0% de levedura autolisada e 600 mg de zinco/kg de dieta prejudicou o desempenho e o metabolismo dos peixes; a suplementação superior a 2,0% de levedura e 200 mg de zinco/kg de dieta prejudicou o metabolismo de minerais pelos peixes; a combinação de levedura autolisada e zinco nas dietas, não refletiu em melhora no padrão hematológico; níveis elevados de levedura autolisada e zinco na dieta determinou condições sub-ótimas de saúde; o estresse pelo frio determinou leucopenia, linfopenia, neutrofilia e monopenia.

Palavras chave: levedura; zinco; desempenho produtivo; metabólitos; hematologia; saúde.

GENERAL ABSTRACT: Yeast and zinc are known to improve growth performance and health mainly fish immune system. This trial evaluated the effect of autolised yeast and zinc supplementation on growth performance, metabolic response, hematologic parameters and cold stress resistance for Nile tilapia. The experiment were constituted by nine treatments and three replicates. Diets were formulated to contain 32% DP and 3240 kcal DE/kg and they presented isonitrogen, isoenergetic and the same amino acid and pattern an C:P ratio. 135 all male Nile tilapia fingerlings were randomly assigned to 27 50L-aquarium with a biologic filter and temperature controled ($26.0 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$). Feeding of fish was *ad libitum* four times/day (8h00, 11h00, 14h00 and 17h00). A 128-days trial was conducted to evaluate the effect of autolised yeast and zinc inclusion on mean weight gain, daily feed intake, feed conversion ratio, protein efficiency ratio, survival percentage; ammonia concentration and alkaline phosphatase activity in plasma and liver and total urea and lipid in plasma and; mineral in plasma, liver and bones of fish. After growth performance evaluation 81 fish (nine/treatment) were transfered to 27 40L-aquarium in room experimental the cold stress and randomly assigned (three/aquarium) and submitted to cold stress (13°C) during seven days. Hematologic parameters evaluated were: erythrocytes number, hematocrit, hemoglobin, corpuscular volume, mean corpuscular volume, total plasmatic protein, total leucocytes, lymphocytes, neutrophils and monocytes percentage before and after cold stress. The results shown that: the inclusion until 6.0% autolised yeast and 600 mg zinc/kg diet doesn't worsed growth performance in Nile tilapia; 2,0% autolised yeast in diet without zinc inclusion showed better growth performance of fish; supplementation levels high than 6.0% autolised yeast and 600 mg zinc/kg diet worsed the metabolism and growth of fish; supplementation levels higher than 2.0% yeats and 200 mg zinc/kg diet worsed mineral metabolism in fish; the combined effect of autolised yeast and zinc does not effect improved in hematological parameters; highest dietary autolised yeast and zinc levels determined sub-excellent conditions of health; cold stress determined leukopenia, lymphopenia, neutrophylia and monopenia.

Key words: yeast; zinc; productive performance; metabolits; hematology; health.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A utilização de dietas disponíveis no mercado para peixes tropicais pode proporcionar respostas de ganho de peso, conversão alimentar e taxa de sobrevivência, aquém do esperado. Desta forma, tem-se procurado, determinar as exigências nutricionais dos peixes e o aperfeiçoamento dessas rações. Para tal, tornou-se necessário avaliar nutrientes e pró-nutrientes que proporcionem maior resistência a doenças, melhor desempenho produtivo e, conseqüentemente, maior taxa de sobrevivência dos peixes.

Define-se como pró-nutriente o composto que promova valores nutricionais intrínsecos, que seja de uso oral e exigido em pequenas quantidades na mistura da dieta animal (Butolo, 1998). Segundo Menten (2001), com a proibição da utilização de vários antibióticos e quimioterápicos como promotores de crescimento na alimentação animal, tais pesquisas tornaram-se fundamentais. Desta forma, destaca-se a importância do estudo da utilização das diferentes formas de levedura, obtidas de destilarias de álcool e derivados, para compor dietas para peixes (Pezzato, 1997; Pezzato et al., 2006), por sua biosegurança, respostas benéficas no desempenho produtivo e saúde animal, além da fácil incorporação à mistura durante o processamento da dieta (Hisano et al., 2004). Na literatura muito têm destacado a importância da levedura como pró-nutriente (Gatesoupe, 1999; Burrells et al., 2001; Li & Gatlin III, 2003; Hisano, 2005) e imunoestimulante (Sakai, 1999; Ortuño et al., 2002; Tovar et al., 2002; Tovar-Ramírez et al., 2004).

Trabalhos têm demonstrado que a levedura como única fonte protéica para a alimentação de peixes não apresentou resultados satisfatórios, com perda de apetite, menor ganho de peso e pior conversão alimentar (Rumsey et al., 1991; Furuya et al., 2000; Baccarin & Pezzato, 2001) além, dos elevados níveis de ácidos nucleicos (Sanches-Muniz et al., 1979; Kaushik & Luquet, 1980), derivados da adenina (Baker & Molitoris, 1974) os quais aumentam os níveis de uricase em peixes (Runsey et al., 1991) e ácido úrico no plasma, produzindo efeitos tóxicos, assim como distúrbios no metabolismo da proteína, gordura e carboidratos em monogástricos (Baker & Molitoris, 1974; Clifford & Story, 1976).

Atualmente o Brasil se destaca como um dos países de maior produção de álcool e com potencial para duplicar sua produção atual em dez anos. Conseqüentemente, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* se tornará fonte de alimento alternativo de excelente qualidade a ser suplementado em dietas animais, seja como pró-nutriente ou imunoestimulante. Pesquisas visando melhorar o processamento e a qualidade desses alimentos estão em andamento, e

testes de eficiência vem sendo realizados, com excelentes resultados (Butolo, comunicação pessoal).

Os alimentos funcionais surgem como fortes potenciais para a melhora da qualidade nutricional das dietas, aumentando o aproveitamento dos nutrientes disponíveis, melhorando o bem estar animal e aumentando a produtividade (Butolo, 2001; Hisano, 2005; Pezzato et al., 2006). Para tanto, necessitam-se de pesquisas que avaliem a forma de ação dos nutrientes presentes nesses alimentos e sua relação com outros nutrientes, possibilitando o desenvolvimento de dietas com excelente qualidade nutricional e alto valor biológico.

Os micro-nutrientes sofrem interações por diversos mecanismos que podem afetar sua absorção e biodisponibilidade. Minerais, com similaridades químicas, podem competir pelo transporte protéico ou outros mecanismos de ingestão, facilitando ou impedindo a absorção (Glover & Hogstrand, 2003). As consequências destas interações dependem das concentrações dos nutrientes na dieta, das inter-relações destes com os do meio aquático em que vivem os organismos, da espécie em estudo e da disponibilidade do nutriente na dieta (Sandström, 2001).

Os minerais são responsáveis pela formação esquelética, manutenção do sistema coloidal, regulação do equilíbrio ácido-base e compostos biologicamente importantes, tais como hormônios e enzimas (Watanabe et al., 1997; Sá et al., 2004). A deficiência de minerais que apresentem importantes funções metabólicas no organismo animal, como por exemplo o zinco, pode causar patologias bioquímicas, estruturais e funcionais ao organismo animal (Sá et al., 2005). Embora nem todos os elementos traços essenciais, tenham sido descritos para peixes, devido a muitos serem necessários em baixas quantidades para o crescimento, não raro se observa deficiências (Watanabe et al., 1997; Glover & Hogstrand, 2003; Sá et al., 2004). Assim, o animal mantém delicado balanço corporal de minerais pela integração de vários parâmetros da ingestão, estoque e excreção (Watanabe et al., 1997; Sá et al., 2005).

A disponibilidade dos minerais da dieta é marcada pela eficiência com que o animal os utiliza, variando em função dos ingredientes utilizados e da composição da dieta. Diversos fatores influenciam a disponibilidade, tais como: níveis de inclusão e forma dos nutrientes, tamanho da partícula, digestibilidade e interação dos nutrientes, as quais podem ser sinérgicas ou antagônicas, condições fisiológicas e/ou patológicas dos peixes e concentração dos minerais na água (Sandström 2001; Glover & Hogstrand, 2003; Liao et al., 2006). Dentre estes fatores, aqueles relacionados ao estado químico são importantes devido aos elementos

assumirem diferentes formas moleculares, estados de valência e ligantes quando ingerido, ocorrendo variações que são dependentes das dietas (Barros et al., 2004; Sá et al., 2005).

Os minerais são nutrientes essenciais aos animais. O zinco se destaca por participar de várias funções específicas, tendo importância estrutural e/ou funcional em mais de 300 enzimas e outras proteínas (Vallee & Falchuk, 1993), denominadas metaloenzimas de zinco sendo as mais importantes no metabolismo animal a anidrase carbônica, fosfatase alcalina, carboxipeptidase, álcool desidrogenase, superóxido dismutase, collagenase e RNA-polimerase. Assim o *status* orgânico inadequado causado pela deficiência de zinco prejudica todo o funcionamento deste conjunto de enzimas, o equilíbrio orgânico e, conseqüentemente, a saúde animal (Hambidge et al., 1986), podendo causar prejuízo ao crescimento, reprodução, visão e no sistema imune (Watanabe et al., 1997).

OBJETIVOS

I – Avaliar o desempenho produtivo e respostas metabólicas da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentada com dietas suplementadas com levedura autolisada e zinco na fase de crescimento;

II – Avaliar os parâmetros hematológicos antes e após o desafio pelo frio da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) alimentada com dietas suplementadas com levedura autolisada e zinco.

CAPÍTULO I

2. REVISÃO DE LITERATURA

3. LEVEDURAS: FUNÇÕES METABÓLICAS E FISIOLÓGICAS

3.1. Levedura como fonte de alimento

Pertencente a classe Ascomycetos, as leveduras se apresentam de tamanho variado, com reprodução sexuada ou assexuada por brotamento ou cissiparidade, tendo como principal espécie comercializada a *Saccharomyces cerevisiae*. São cosmopolitas e amplamente distribuídas, encontradas no solo, superfície de folhas, frutos e no trato gastrintestinal de animais. São utilizadas industrialmente como agentes de fermentação alcoólica nas usinas sucroalcoleiras, indústrias de panificação e bebidas alcoólicas (Kurtzman & Fell, 2000).

A composição desses microorganismos tem chamado atenção, sendo utilizados para a extração de enzimas, glucanos, mananos e hidrolisados protéicos em processos industriais (Kurtzman & Fell, 2000; Krisková et al., 2001; Heirich et al., 2006; Villareal et al., 2006). Pesquisas de melhoramento genético têm sido realizadas com objetivo de melhorar a produção, o processamento e melhor disponibilizar os nutrientes das células de levedura para utilização em dietas para animais (Laroche et al., 2000; Magherini et al., 2006; Veide & Andlid, 2006).

Pesquisas demonstraram que algumas linhagens de levedura desenvolvidas em laboratório podem ser utilizadas em processos de produção industrial e, ainda, quando incluídas em dietas aumentam a disponibilidade dos nutrientes e de alguns minerais, principalmente o fósforo, por apresentarem em sua constituição enzimas como a fitase (Andlid et al., 2004; Veide & Andlid, 2006). Outra característica importante a ser considerada em células de levedura é a composição da parede celular que apresenta polissacarídeos e ácidos nucleicos de grande importância para nutrição animal (Krizková et al., 2001; Hisano et al., 2004; Pezzato et al., 2006).

Os principais constituintes da parede celular são os β -glucanos (50-60%), seguidos por mananos e mananoprotínas (30-40%) os quais determinam as funções fisiológicas, resistência física, respostas imunes e algumas importantes propriedades da superfície celular das células de levedura (Krizková et al., 2001; Villarreal et al., 2006). Os mananos e glucanos da parede celular parecem apresentar propriedades antioxidantes (Krisková et al., 2001) e melhoram o desempenho produtivo e o sistema imune dos animais (Burrels et al., 2001a; Selvaraj et al.,

2005; Bagni et al., 2005), o que os torna de grande interesse para nutrição animal.

A levedura *S. cerevisiae* há muitos anos é estudada como fonte alimentar para humanos e animais. A utilização da proteína unicelular em dietas para humanos tem mostrado que componentes celulares indigestíveis, tais como lipídeos polimerizados, celulose e componentes da parede celular, podem se tornar tóxicos quando ingeridos, acarretando vários problemas gastrintestinais: náusea, vômitos e diarreia. O produto metabólico final da ingestão de proteínas unicelulares em humanos é o ácido úrico, o qual é ligeiramente solúvel em pH fisiológico e, se houver aumento do conteúdo de ácido úrico no sangue podem formar cristais nas juntas e causar náuseas e/ou artrites (Davis, 1974; Kurtzman & Fell, 2000).

Entretanto, estes problemas não têm sido relatados para animais. O fornecimento de levedura em dietas para leitões na fase inicial proporcionou, não de forma significativa, melhora no ganho de peso e conversão alimentar com 5,0% de inclusão nas dietas (Araújo et al., 2006). Segundo Silva et al. (2003), a inclusão de levedura em até 10,0% em dietas para aves parece não afetar a conversão alimentar; entretanto, o desempenho e o consumo de ração foram influenciados negativamente. A utilização de mananoligossacarídeos (MOS) de levedura em dietas para aves na fase inicial melhorou o ganho de peso sem prejuízo ao consumo de ração e a conversão alimentar (Fleming, 2005).

Devido, a elevada produção anual e alto teor protéico, muitas pesquisas foram realizadas com o objetivo de utilização da levedura como fonte protéica em dietas para peixes. Entretanto, os resultados observados demonstraram que sua utilização como fonte protéica seria inviável, principalmente devido ao seu elevado conteúdo em nitrogênio não protéico (Higuera et al., 1982; Runsey et al., 1991; 1992; Pezzato, 1997; Furuya et al., 2001), levando a redução no desempenho dos peixes com possíveis prejuízos metabólicos (Runsey et al., 1991; Furuya et al., 2001; Baccarin & Pezzato, 2001).

A utilização de levedura em dietas para peixes mostrou possível desenvolvimento e aderência das células de levedura ao epitélio intestinal e conseqüentes alterações fisiológicas foram observadas (Vázquez-Juárez et al., 1994; Andlid et al., 1998; Tovar et al., 2002). Estas apresentam capacidade de se aderirem ao muco e possivelmente ao epitélio intestinal de animais e, algumas leveduras têm apresentado funções específicas ao sistema gastrintestinal dos animais, auxiliando na digestão de fibras que não são completamente digeridas resultando em curtas cadeias de ácidos graxos usados como fonte de energia pela mucosa intestinal (Raibaud, 1992; Andlid et al., 1998), produção microbiana de vitaminas e, na estimulação de

enzimas envolvidas na digestão (Rowland, 1992). Acredita-se que a aderência das células de levedura no muco intestinal de peixes pode resultar em benefícios à fisiologia do trato gastrintestinal (Andlid et al., 1995).

Andlid et al. (1998) demonstraram *in vitro* que a *S. cerevisiae* aderiu-se ao muco intestinal de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), apresentando quatro fases distintas tendo a glicose como fonte de carbono e energia; metabolismo fermentativo e respiração aeróbica com a glicose como fonte de carbono e energia, tendo como produto final o etanol; fase de transição, em que a glicose se torna limitada e as células expressam genes respiratórios; fase de crescimento puramente respiratória, no qual o etanol é usado como principal fonte de carbono e energia e; a fase estacionária, após exaustão do etanol apresenta reduzidos sinais de aquecimento. Os autores demonstraram que estes microorganismos podem se aderir ao muco intestinal de peixes, principalmente se conseguirem se adaptar as condições intestinais.

Vários microrganismos são conhecidos por aderirem ao muco intestinal usando-o como fonte de nutrientes e energia (Andlid et al., 1998). A produção de muco em peixes é elevada (Liao et al., 2006) e, conseqüentemente, pode favorecer a adesão e crescimento de alguns microrganismos e dentre eles levedura (Andlid et al., 1998). Se estes microrganismos se adaptarem as condições intestinais e não produzirem toxinas podem ser considerados microrganismos benéficos ao hospedeiro (Tovar et al., 2002). Entretanto, estes estarão consumindo muco (Andlid et al., 1995; Andlid et al., 1998), o que pode resultar em alterações fisiológicas e aumentar as necessidades nutricionais do animal. Devido aos poucos estudos sobre tais condições em animais e raros em peixes, torna-se difícil e complexo qualquer inferência de possíveis alterações fisiológicas resultantes da utilização da levedura em dietas para peixes.

Segundo Kennedy et al. (1987), Smit et al. (1992), Vazquez-Juárez et al. (1994; 1997) e Andlid et al. (1998), a adesão dos microrganismos ao intestino é favorecida por fortes mecanismos de interação entre a célula de levedura e o muco intestinal, ainda não entendida completamente e a elevada adesão coincide com o aumento de hidrofobicidade da superfície celular e presença de lipídeos no muco intestinal. A polaridade funcional da serina do grupo fosfatidilserina é dependente do pH e, em muitas condições fisiológicas, apresenta variações negativas devido ao grupo carboxil e fosfato. A proximidade destes grupos fornece elevada afinidade aos cátions divalentes, que são conhecidos por serem adsorvidos à superfície das células de levedura podendo proporcionar substrato ao desenvolvimento dos microrganismos

e, conseqüentemente, a secreção de poliaminas no muco intestinal (Cartwright et al., 1989), favorecendo a adesão epitelial (Andlid et al., 1998).

Algumas leveduras são conhecidas por sintetizar e secretar diversas moléculas de poliaminas, as quais apresentam forte potencial de adesão ao muco intestinal de peixes (Vázquez-Juarez et al., 1997; Andlid et al., 1998; Tovar et al., 2002; Tovar-Ramírez et al., 2004). Estas apresentam diversas funções biológicas importantes, como replicação e diferenciação celular estimulando a síntese de DNA, RNA e proteína (Tabor & Tabor, 1984; Bardócz et al., 1993; Tovar et al., 2002; Tovar-Ramírez et al., 2004), sendo a espermina e a spermidina as principais poliaminas envolvidas na diferenciação do trato intestinal de mamíferos (Buts et al., 1993) e larvas de *Sea bass* (*Dicentrarchus labrax*) (Peres et al., 1997).

Tovar et al. (2002) ao pulverizarem leveduras *Debariomyces hansenii* e *S. cerevisiae* em dietas para larvas de *Sea bass* (*Dicentrarchus labrax*) observaram aderência das células de leveduras no trato digestório das larvas e, após três enxágües do trato gastrintestinal as células de levedura ainda permaneciam aderidas aos segmentos intestinais. Os autores observaram aumento de atividade de amilase tanto intestinal quanto pancreática e, a secreção de tripsina não apresentou alteração comparada ao grupo controle. A atividade enzimática intestinal aumentou e a atividade enzimática citosólica reduziu nas larvas de *Sea bass* alimentadas com dietas contendo levedura em comparação ao controle ausente de suplementação. Embora, tendo ocorrido maturação do trato gastrintestinal das larvas de *Sea bass* alimentadas com adição de levedura nas dietas estas pareceram não acelerar o desenvolvimento da flora gastrintestinal. Os autores observaram que a inclusão de levedura *D. hansenii* na dieta acelerou a maturação das funções pancreáticas das larvas de *Sea bass* em comparação a *S. cerevisiae*. O aumento na eficiência das funções secretoras do trato gastrintestinal caracteriza a maturação deste (Cahu & Infante, 1995; Tovar et al., 2002; Tovar-Ramírez et al., 2004), desta forma acredita-se que algumas linhagens de leveduras podem acelerar a maturação gastrintestinal dos peixes. Entretanto, poucas têm sido as pesquisas realizadas com tal enfoque.

A digestão citosólica das células epiteliais é bem desenvolvida nos peixes após o crescimento das microvilosidades intestinais e para as larvas de peixes este fenômeno constitui a maturação intestinal (Cahu & Infante, 1995). Segundo Cahu & Infante (1995), Cahu & Infante (2001), Tovar et al. (2002) e Tovar-Ramírez et al. (2004), a utilização de levedura viva incorporada a dietas de larvas de peixes pode acelerar o desenvolvimento do

trato gastrointestinal e, conseqüentemente, melhorar a sobrevivência, resistência a doenças e o desempenho larval aumentando a qualidade dos alevinos produzidos.

Melhora no desenvolvimento esquelético, sobrevivência e crescimento de peixes foram demonstrados por Noh et al. (1994), Peres et al. (1997), Tovar et al. (2002) e Tovar-Ramirez et al. (2004). Entretanto, pesquisas devem ser direcionadas para estabelecer a conseqüência de sua inclusão nas dietas sobre o desenvolvimento dos peixes e qualidade do pescado produzido. Olvera-Novoa et al. (2002) observaram melhora no desenvolvimento de larvas de tilápia mossambica (*Oreochromis mossambicus*) ao incluir na dieta até 40,0% de levedura torula (*Cândida utilis*) e ainda, melhora na composição corporal, aumentando os níveis de deposição de proteína bruta, extrato etéreo e matéria mineral nos peixes alimentados com o ingrediente teste nas dietas em comparação aos peixes alimentados com a dieta controle. Estes autores relataram que os melhores resultados de desempenho produtivo dos peixes foram observados com o nível de inclusão de 30,0% de levedura torula na dieta.

3.2. Levedura desidratada na nutrição animal

Em destilarias de cana-de-açúcar a levedura utilizada para fermentação é posteriormente desidratada, se apresentando como extrato seco em pó, resultante da recuperação do leite ou fundo de dornas de fermentação alcoólica (Ghiraldini & Roseli, 1997). Ainda, segundo esses autores, a qualidade da levedura seca está diretamente relacionada às condições de processamento da fermentação alcoólica e seu processo de fabricação, sendo que sua composição química é dependente da natureza do substrato utilizado, linhagem, condições de fermentação, concentrações de sais no meio e processamento de secagem e armazenamento.

Vários são os métodos industriais utilizados para a secagem da levedura, destacando-se o uso de rolos rotativos e o método *spray-dry*. O primeiro processo consiste na centrifugação da vinhaça ou do vinho, após destilação, possibilitando a separação da parte solúvel e posterior secagem (Moreira et al., 1988). No segundo método, a vinhaça ou vinho é bombeado para uma câmara de secagem através de um cabeçote atomizador, que girando em alta velocidade promove a distribuição da levedura em forma de névoa e, combinado ao fluxo de ar quente, a secagem é instantânea (Furco, 1996). O processo de secagem *spray-dry* possibilita a obtenção de produto de melhor qualidade nutricional, visto que, a temperatura máxima no processo de secagem e o tempo de contato neste sistema são menores, em comparação ao rolo rotativo, o que proporciona melhor uniformidade na granulometria, cor e, principalmente, na preservação

de aminoácidos e redução nos custos de produção (Furco, 1996; Ghiraldini & Roseli, 1997).

A levedura apresenta composição balanceada em aminoácidos, destacando-se o alto teor de lisina (Miyada, 1987; Scapinello et al., 1997), leucina e valina (Miyada, 1987), sendo a lisina o principal aminoácido limitante ao crescimento dos peixes (Furuya et al., 2001). As leveduras apresentam cerca de 33,0 a 46,0% de carboidratos; 38,0 a 50,0% de proteínas; 3,0% de bases nitrogenadas; 1,0% de amônia; 2,0% de lipídeos e esteróis; 6,0 a 8,0% de nitrogênio e 5,0 a 10,0% de minerais, sendo potássio e fósforo seus principais componentes, além de cálcio, magnésio, sódio e enxofre na forma de sulfitos (Cozzolino, 1982). Esta apresenta, ainda, elevado nível de nitrogênio não protéico (20,0 a 30,0% do nitrogênio total) representado, segundo Butolo (1997), basicamente, por ácidos nucleicos (8,0 a 12,0% do nitrogênio total), que pode ocasionar efeitos prejudiciais ao metabolismo e fisiologia dos animais quando utilizada como fonte de proteína em dietas (Runsey et al., 1991; Butolo, 2001; Furuya et al., 2001). Os níveis de lipídeos estão relacionados com o substrato utilizado no crescimento, sendo encontrados valores entre 2,0 e 7,0%. Apresentam proporções iguais de triglicérides e fosfolipídeos, com predominância de ácidos graxos de cadeia longa com aproximadamente 20,0; 40,0; e 15,0% dos ácidos: oléico, linoléico e linolênico, respectivamente (Schnell & Akin, 1979). Entretanto, estes microrganismos apresentam deficiências em aminoácidos sulfurados (Miyada, 1987; Furuya et al., 2000). As fontes protéicas que têm elevados teores de nitrogênio não protéico não contribuem com o adequado perfil de aminoácidos para suprir a exigência nutricional dos peixes (Furuya et al., 2004), causando aumento de produção e excreção de amônia, prejuízos a produtividade e à qualidade da água em função do desequilíbrio nutricional (Cho, 1990).

A composição da levedura depende da classe e da família a que pertence (Assis, 1996; Gemmill & Trimble, 1999; Villarreal et al., 2006), a qual apresenta excelente qualidade de aminoácidos, embora, em proporções menores que os alimentos de origem animal, é comparável às melhores fontes de origem vegetal (Pacheco, 1996). Além de apresentar-se como fonte de enzimas (invertase, lactase, melibiase, β -glucanase, proteases, fitase) (Ponesi & Serra, 1996; Veide & Andlid, 2006) e de vitaminas do complexo B (Ponesi & Serra, 1996; Butolo, 2001; Baccarin & Pezzato, 2001).

Vitaminas do complexo B, especialmente a tiamina, riboflavina, niacina e o ácido pantotênico são encontradas em grandes quantidades nestes microrganismos, além de ergosterol, o que os torna ainda excelente fonte de vitamina D (Yousri, 1982). Segundo

Baccarin & Pezzato (2001), a suplementação de levedura nas dietas pode suprir as necessidades de vitaminas hidrossolúveis para peixes. As enzimas glicoprotéicas das leveduras (invertases, lactases, melibiases, glucanases, proteases, fosfatases e fosfolipases) funcionam tanto anabólicas como catabolicamente (Ponesi & Serra, 1996; Assis, 1996); destas algumas se localizam na parede celular auxiliando o transporte de nutrientes para o citoplasma celular (MacWilliam, 1970; Assis, 1996).

As características nutricionais e o conteúdo celular das leveduras com importantes propriedades funcionais as tornam excelente fonte alternativa de nutrientes para animais e humanos (Irianto & Austin, 2002; Hisano, 2005). Quando utilizadas como pró-nutrientes, melhoram o desempenho produtivo, a saúde e as respostas imunes dos animais (Li & Gatlin III, 2003; 2004; Hisano et al., 2004; Hisano, 2005). Este alimento apresenta ainda, a vantagem econômica de melhorar o crescimento e a eficiência protéica, mesmo em baixos percentuais de suplementação (Furuya et al., 2000; Hisano, 2005; Watanabe, 2006). Devido a sua composição nutricional, a levedura do gênero *S. cerevisiae* tem expressivo valor industrial e comercial, entretanto, por apresentar espessa e rígida parede celular resistente à ação das enzimas digestivas e alto conteúdo de ácidos nucleicos sua utilização torna-se limitante como única fonte protéica na nutrição animal (Butolo, 2001; Pezzato et al., 2004).

Rumsey et al. (1991) observaram que a inclusão de 25,0% de levedura melhorou o ganho de peso de truta arco-íris em comparação a dieta controle a base de caseína, porém, níveis superiores prejudicaram o ganho de peso, a ingestão alimentar e a eficiência protéica. Kaushik & Luquet (1980) observaram melhor ganho de peso de truta arco-íris ao fornecerem dietas com 28% de proteína de células íntegras de origem bacteriana suplementadas com aminoácidos sulfurados. Barnes et al. (2006) ao suplementarem níveis de 0,0; 0,125 e 0,25g de levedura/kg de dieta para larvas de truta arco-íris observaram melhor ganho de peso, conversão alimentar e sobrevivência dos peixes com as dietas contendo levedura. Tacon & Cooke (1980) ao fornecerem ácidos nucleicos extraídos de bactérias em dietas para truta arco-íris observaram que a inclusão superior a 2,5% prejudicou a ingestão alimentar e o crescimento dos peixes. Esta influência negativa foi devido à alta ingestão de ácidos nucleicos (Baker & Molitoris, 1974; Clifford & Story, 1976) e a baixa capacidade de degradá-los em uréia pela enzima uricase (Oliva-Teles et al., 2003).

Baccarin & Pezzato (2001) observaram que a inclusão de até 10,0% de levedura em rações para tilápia do Nilo não prejudicou o ganho de peso e a taxa de crescimento específico,

mas determinou piora na conversão alimentar em comparação ao controle, evidenciando que altas taxas de inclusão de levedura podem afetar o desempenho dos peixes. Entretanto, Medri et al. (2000) não observaram efeito prejudicial para a mesma espécie alimentada com rações com níveis de até 30,0% de levedura.

Li & Gatlin III (2003) suplementando (1,0; 2,0 e 4,0%) de levedura (*S. cerevisiae*) na dieta do híbrido *Striped bass* (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*) observaram melhora no ganho de peso, taxa de eficiência alimentar e sobrevivência. Porém, não observaram influência deste alimento no percentual de hematócrito e produção de lisozima pelos animais. O fornecimento por período relativamente longo não provocou imunossupressão e melhorou a resposta imune e resistência a doenças. A utilização da levedura como única fonte protéica na dieta de truta arco-íris provocou alterações no tamanho e forma dos eritrócitos e alterações prejudiciais na hematopoiese (Sanchez-Muniz et al., 1982).

Oliva-Teles & Gonçalves (2001) ao substituírem a proteína da farinha de peixe pela proteína da levedura (*S. cerevisiae*) na dieta de *Sea bass* demonstraram que a substituição em até 30,0% da proteína da farinha de peixe pela levedura não causou prejuízo no desempenho produtivo, na ingestão do alimento e melhorou a conversão alimentar dos peixes. Segundo os autores a substituição de 10,0 e 30,0% de farinha de peixe pela levedura na dieta de *Sea bass* melhorou a taxa de eficiência protéica, reduziu os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca e energia quando superior a 20,0% e, para a proteína, quando superiores a 30,0%. Estes autores também testaram a suplementação de metionina na dieta com substituição de 50,0% da proteína da farinha de peixe por levedura e não observaram melhora no resultado.

Furuya et al. (2000) observaram que a inclusão de levedura desidratada “*spray-dried*” na dieta de alevinos de tilápia do Nilo em até 31,2% não prejudicou a sobrevivência e a conversão alimentar. Meurer et al. (2000) observaram melhora no desempenho produtivo de alevinos da tilápia do Nilo ao empregarem níveis de até 6,0% de levedura na dieta.

Como relatado, deve-se observar os níveis de inclusão de levedura nas dietas, devido a sua composição em bases nitrogenadas não digestíveis (Runsey et al., 1992; Ponesi & Serra, 1996), que, em níveis elevados, reduzem o desempenho produtivo dos peixes e dificultam o cálculo do nível protéico verdadeiro das dietas (Furuya et al., 2000; Baccarin & Pezzato, 2001; Hisano, 2005), podendo inibir a ingestão e, conseqüentemente, a absorção dos nutrientes (Tacon & Cooke, 1980; Rumsey et al., 1991; Hisano, 2005; Barnes et al., 2006).

A levedura apresenta excelente qualidade nutricional, podendo melhorar a digestibilidade das dietas e a composição corpórea dos peixes (Pezzato et al., 2004; 2006). Pereira da Silva & Pezzato (1994) compararam a atratividade e palatabilidade da levedura em dieta para tilápia do Nilo, classificando-a como de média atratividade quando comparada com o ovo integral e a farinha de peixe; e de alta atratividade e palatabilidade quando comparada à dieta controle (ausente de farinha de peixe e ovo) e concluíram os autores que a inclusão de leveduras em dietas para peixes pode apresentar tendência positiva no comportamento alimentar.

Gaiotto (2005) não observou diferenças no ganho de peso de juvenis de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) alimentados com rações contendo níveis de 0,0, 2,5 e 5,0% de levedura íntegra, autolisada e parede celular. A taxa de crescimento específico, nos diferentes níveis de inclusão, foi negativamente influenciada e a sobrevivência dos peixes melhorou com inclusão de 5,0% de levedura autolisada e parede celular.

Hisano (2005) observou melhora no desempenho produtivo e nos coeficientes de digestibilidade aparente para matéria seca, proteína bruta, energia bruta e extrato etéreo das dietas suplementadas com levedura íntegra, autolisada e parede celular para a tilápia do Nilo. O autor determinou que a inclusão de levedura autolisada nos níveis de 1,30 a 1,75% proporcionou superior desempenho aos animais, não observou alterações no perfil hematológico dos peixes com a suplementação da levedura íntegra e seus derivados, porém a suplementação com parede celular na dieta aumentou o perímetro das vilosidades intestinais. O autor ressaltou que, não se tem condições de afirmar se esta alteração representa conseqüente aumento da absorção ou se reflete a necessidade do animal para manter a absorção normal dos nutrientes.

3.3. Absorção e metabolismo da levedura

Hisano et al. (2004) ao suplementarem levedura e zinco nas dietas, observaram que a inclusão de 1,0% de levedura e 300 mg de zinco/kg de dieta para tilápia do Nilo, apresentou os melhores coeficientes de digestibilidade aparente para matéria seca, lipídeo total e energia bruta das dietas pelos peixes. Sousa & Mattos (1989) substituíram até 50,0% da proteína na dieta de tambacu pela proteína de levedura e observaram efeito positivo no coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta.

A presença de ácidos nucleicos na levedura parece implicar em menor coeficiente de digestibilidade da fração protéica (Baccarin & Pezzato, 2001). O nitrogenio não protéico

presente na parede celular da levedura pode diminuir a absorção da proteína e aumentar o gasto de energia na excreção, diminuindo o desempenho, prejudicando o metabolismo e a fisiologia dos peixes e, conseqüentemente, a qualidade de água (Tacon & Cooke, 1980; Rumsey et al., 1992; Furuya et al., 2000; Oliva-Teles & Gonçalves, 2001; Baccarin & Pezzato, 2001; Gaiotto, 2005; Hisano, 2005).

A forma com que o nitrogênio entra no fígado é dependente do estado nutricional e hormonal do animal. Muitos dos aminoácidos que atingem o fígado, exceto os aminoácidos de cadeia ramificada, podem servir como precursores para a síntese de uréia (Campbell, 1991; Lenhinger et al., 1995). Esta síntese, também tem contribuição da amônia livre, derivada do metabolismo da glutamina na mucosa intestinal, hepatócitos e da urease bacteriana no intestino (Meijer et al., 1990).

A maioria dos grupos amino é derivada da proteína ingerida e metabolizada no fígado (Lenhinger et al., 1995). A absorção de proteínas envolve a quebra por digestão e absorção de aminoácidos pelos enterócitos por meio de enzimas e sistemas de transporte. O transporte de aminoácidos através da membrana plasmática dos hepatócitos é mediado por diversos mecanismos altamente específicos, alguns destes dependentes de sódio, contra o gradiente de concentração e com alto consumo de energia (Meijer et al., 1990). A síntese e degradação protéica geram elevadas quantidades de íon amônio (NH_4) e, parte da amônia gerada é reciclada e empregada em vários processos biossintéticos (Meijer et al., 1990; Lenhinger et al., 1995) e, dependendo do organismo, o excesso é excretado diretamente ou transformado em uréia ou ácido úrico para excreção (Lenhinger et al., 1995).

A glutamina em mamíferos é a principal forma de transporte de amônia e se encontra em elevada concentração no sangue (Meijer et al., 1990; Campbell, 1991; Lenhinger et al., 1995). No caso de organismos aquáticos que excretam amônia, ao contrário dos mamíferos, a alanina parece ser o principal substrato para a gliconeogênese (Campbell, 1991). Entretanto, é importante a não transformação completa da amônia em uréia ou ácido úrico, devido ser um metabólito essencial em inúmeros processos vitais, tais como a síntese de purinas e pirimidinas (Meijer et al., 1990). Em peixes, a síntese de uréia é essencial para o equilíbrio iônico e homeostase do pH, mas não como metabólito de excreção, sendo a amônia produzida no metabolismo protéico a principal forma de excreção metabólica do nitrogênio (Meijer et al., 1990; Campbell, 1991).

Os peixes são conhecidos por tolerar relativamente elevadas concentrações de amônia,

seja circulante ou nos tecidos. Saha et al. (2002) demonstraram em estudo realizado com *Walking catfish* (*Clarias batrachus*) expostos a elevada concentração exógena de amônia (25mM NH_4Cl na água), aumento da atividade da glutamato sintetase, glutamato dehidrogenase, aspartato e alanina aminotransferrase, enzimas que atuam na aminação redutiva e deaminação oxidativa principalmente no fígado, rim e músculo, demonstrando que os peixes têm capacidade ativa de converter a amônia acumulada em aminoácidos não essenciais e uréia e, desta forma excretá-los, principalmente via uréia para evitar a toxicidade endógena da amônia.

A levedura desidratada há muitos anos é difundida como fonte alternativa de proteína e vitaminas para alimentação animal, sendo promissora candidata a probiótico, por sua habilidade na produção de poliaminas e aumento do muco intestinal, melhorando a capacidade de absorção de nutrientes pelo enterócito (Tovar-Ramirez et al., 2004) quando utilizada como alimento funcional. Poliaminas são moléculas que participam de inúmeros processos biológicos (Tabor & Tabor, 1984), tais como: replicação, diferenciação e biosíntese de ácidos nucleicos e proteínas (Bardócz et al., 1993).

Tacon & Cooke (1980) testaram diferentes níveis de ácidos nucleicos na dieta de truta arco-íris e observaram que a inclusão de 2,5 e 5,0% não foram prejudiciais à ingestão, crescimento e conversão alimentar dos peixes. Entretanto, níveis elevados (10,0%) afetaram negativamente estes parâmetros. Embora a digestibilidade aparente do fósforo e da matéria seca tenha aumentado, a digestibilidade aparente do nitrogênio se manteve estável e o conteúdo de cinzas, cálcio, fósforo, potássio, magnésio, zinco, cobre e ferro na carcaça, concentração de uréia no soro e atividade de uricase no fígado, aumentaram, atribuído ao desbalanço de aminoácidos e minerais.

O uso da proteína da parede celular de origem bacteriana como fonte principal na alimentação de peixes tem sido questionada quanto ao seu valor nutricional devido ao elevado nível de ácidos nucleicos (Runsey et al., 1991; Hisano, 2005). Baccarin & Pezzato (2001) realizaram estudos com levedura desidratada para alevinos de tilápia do Nilo e concluíram que a utilização de 10,0% desta na dieta provocou alterações hepáticas e renais. Segundo os autores essas alterações macro e microscópicas no fígado e rins dos peixes não devem ser consideradas sinais de toxicidade, mas como aumento da atividade metabólica destes órgãos, condicionada pelos nutrientes presentes nessa fonte alimentar ou pela ausência das vitaminas impostas pelos tratamentos.

Watanabe (2006) ao empregar diferentes níveis de levedura íntegra, autolisada e parede celular (0,0; 2,5; e 5,0%) em dietas para juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) não observou variações na deposição de extrato etéreo, matéria mineral e proteína bruta na carcaça dos peixes. Li et al. (2005) não observaram variações na deposição de proteína bruta e matéria mineral, mas aumento na deposição de lipídeos na carcaça de *Red drum* (*Sciaenops ocellatus*) alimentados com levedura e nucleotídeos isolados ou, em combinação na dieta. Hisano (2005) não determinou variações na deposição de proteína bruta e extrato etéreo em filés de tilápia do Nilo arraçoada com dietas suplementadas com levedura íntegra, autolisada e parede celular. Entretanto, este autor demonstrou variações na deposição de matéria mineral no filé em função dos níveis de inclusão de levedura e seus derivados.

Muzinic et al. (2004) observaram oscilação nos níveis de lipídeos na carcaça de *Red claw crayfish* (*Cherax quadricarinatus*) com a inclusão de levedura na dieta em substituição à farinha de peixe. Li et al. (2005) demonstraram que os níveis de inclusão de nucleotídeos e de levedura isolados ou em combinação na dieta de *Red drum* elevaram o conteúdo de lipídeos na carcaça dos peixes, e concluíram que a inclusão de levedura e/ou ácidos nucleicos na dieta influenciou os níveis destes nos tecidos (fígado, plasma, eritrócitos e cérebro), o que também foi relatado por Carver & Walker (1995) e Sato et al. (1995).

A suplementação na dieta de 1,0; 2,0 e 4,0% de levedura (*S. cerevisiae*) para o híbrido “*Striped bass*” não apresentou alterações de lipídeos na composição corporal (Li & Gatlin III, 2003). Igualmente, alevinos de tilápia do Nilo alimentados com dietas suplementadas com levedura íntegra e autolisada (0,0; 1,0; 2,0 e 3,0%) e parede celular (0,0; 0,1; 0,2 e 0,3%) não apresentaram alterações nos valores de extrato etéreo (Hisano, 2005). Gaiotto (2005) forneceu levedura íntegra, autolisada e parede celular em dietas para juvenis de pintado nos níveis de 0,0; 2,5 e 5,0% e observou variações significativas nas composições corporais de extrato etéreo nos peixes, com maior valor no nível de inclusão de 5,0% de levedura autolisada. Tacon & Cooke (1980) demonstraram que a inclusão de 2,5% de ácidos nucleicos nas dietas aumentou significativamente o conteúdo de lipídeos na carcaça de truta arco-íris, demonstrando a necessidade de avaliações da levedura como ingrediente a ser suplementado em dietas para peixes.

3.4. Benefícios nutricionais da levedura

A utilização de leveduras como fonte protéica em dietas para peixes é limitada devido às

restrições nutricionais. Entretanto, por apresentar em sua composição polissacarídeos de parede celular e nucleotídeos, que a conferem grande potencial como pró-nutriente em dietas para peixes (Hisano, 2005; Gaiotto, 2005; Watanabe, 2006; Pezzato et al., 2006), pela sua biosegurança, fácil incorporação e disponibilidade, a levedura e seus derivados, têm merecido destaque (Butolo, 1997; Hisano et al., 2004; Hisano, 2005; Pezzato et al., 2006).

Segundo Machado (1997), entre os grupos de nutrientes presentes na levedura existem várias vitaminas do complexo B; enzimas que melhoram a eficiência alimentar, como fitase e enzimas digestivas; ácidos graxos voláteis como ácido láctico e isoácidos; minerais quelados como zinco e magnésio; fatores de crescimento como estimulantes bacterianos e antibióticos naturais; aminoácidos como glutamatos, nucleotídeos como isoniatos e guanilatos e peptídeos como hidrolisados de proteína, que proporcionam maior palatabilidade ao alimento, melhor desempenho e maior resistência ao animal.

Não há informações precisas em relação ao nível de inclusão de levedura atuando como pró-nutriente em dietas para peixes. Butolo (2001) enfatiza que a levedura utilizada como pró-nutriente melhora o *status* nutricional dos animais, acreditando que os valores de inclusão estejam próximos de 3,0%, porém estudos mais conclusivos devem ser efetuados.

Meurer et al. (2000) avaliando a inclusão de níveis crescentes de levedura *spray-dried* de 0,0; 1,5; 3,0; 4,5 e 6,0% em dietas isoprotéicas (30,0% PB) e isoenergéticas (3.000 kcal ED/kg) para alevinos de tilápia do Nilo, concluíram que o nível de 6,0% de levedura na dieta proporcionou o melhor desempenho produtivo e não afetou o consumo da dieta pelos peixes. Baccarin & Pezzato (2001) utilizaram até 10,0% de levedura em rações para alevinos da mesma espécie e concluíram que esta pode ser utilizada como fonte poupadora de vitaminas hidrossolúveis.

Hisano et al. (2004) empregaram três níveis de levedura (0,5; 1,0; e 2,0%) e três níveis de zinco (150; 300 e 600 mg/kg) em dietas para a tilápia do Nilo e concluíram que as melhores respostas de desempenho produtivo foram proporcionados com nível de suplementação de 1,0% de levedura e 300 mg Zn/kg de dieta. Li & Gatlin III (2003) também observaram melhora no ganho de peso, eficiência alimentar, sobrevivência e resistência a doenças na administração de 1,0 e 4,0% de levedura para o híbrido *Striped bass*.

Os ácidos nucléicos, anteriormente citados como fatores deletérios ao uso da levedura, estão sendo atualmente avaliados em pequenas quantidades como nutrientes importantes ao animal e como constituintes obrigatórios de todas as células (Berto, 1997). Os nucleotídeos

dietéticos podem agir no trato gastrointestinal aumentando o crescimento e a diferenciação das células, proporcionando respostas positivas na flora bacteriana de ratos, leitões e humanos (Burrels et al., 2001ab). Também foram encontrados efeitos positivos no fígado melhorando as funções hepáticas (Burrels et al., 2001b; Bagni et al., 2005). Burrels et al. (2001a) avaliando a inclusão de 0,03% de nucleotídeo exógeno em dietas para salmonídeos demonstraram que a adição deste melhorou a resistência a doenças e infecções provocadas por bactérias, vírus e infestações por ectoparasitas.

Os teores de carboidratos de 20,0 a 35,0% apresentados pela célula de levedura, em sua maior parte pertencente à parede celular, composta principalmente por glucanos e mananos, parecem atuar sobre o sistema imunológico e na prevenção da colonização de bactérias patogênicas no trato gastrointestinal do animal (Spring, 2000). Estes polissacarídeos utilizados como microingredientes melhoradores da saúde de peixes foram destacados por Anderson (1992), Robertsen et al. (1994), Sakai (1999) e Bagni et al. (2005). Estes relataram que a utilização de glucanos melhorou a atividade do sistema imune não específico e aumentou a resistência contra certos patógenos. Os efeitos imunomoduladores de glucanos não são evidentes, sendo ainda demonstradas diferenças nos efeitos em relação às diferentes espécies de peixes pesquisadas, forma de administração, doses e associação com outros imunoestimulantes e o tempo de aplicação ou dieta fornecida (Bagni et al., 2005).

Li & Gatlin III (2003) observaram melhores resultados nos valores hematológicos com o nível de inclusão de 1,0% de levedura para o *Striped bass*. Entretanto, Hisano (2005) relatou não haverem alterações nos parâmetros hematológicos quando incluiu levedura íntegra, autolisada e parede celular em dietas para tilápia do Nilo. Segundo Hisano, (2005) houve maior número de eritrócitos e menor volume corpuscular médio para o nível de inclusão de 2,0% de levedura íntegra e maior taxa de hemoglobina para o nível de 0,2% de parede celular em comparação ao controle. As variáveis hematológicas estão diretamente relacionadas às condições experimentais, metodologia aplicada, tamanho dos peixes e tipo de alimentação e, as espécies respondem diferentemente a essas variáveis, podendo apresentar variações distintas nestes parâmetros (Barros et al., 2004).

A literatura apresenta resultados restritos de pesquisas desenvolvidas com peixes utilizando-se a levedura autolisada como alimento teste. Carvalho et al. (2002) avaliaram a levedura desidratada íntegra, autolisada e parede celular em substituição a 25,0% da proteína bruta em dietas isoprotéicas (28,0% PB) e isocalóricas (2.900 kcal ED/kg de dieta) para

juvenis de tilápia do Nilo. As melhores respostas de ganho de peso, consumo da dieta e taxa de crescimento específico foram obtidas com a utilização de parede celular e as análises de composição corporal demonstraram aumento significativo nos teores de proteína bruta dos peixes alimentados com a parede celular. Igualmente, Li & Gatlin III (2004) avaliaram a suplementação de derivados da levedura íntegra no desempenho produtivo de híbridos de *Striped bass*. Os autores observaram melhores resultados de desempenho produtivo quando suplementou-se as dietas com prebiótico comercial GrobioticTM (levedura parcialmente autolisada + produtos fermentados) e levedura autolisada (Brewtech[®]), sendo observado maior sobrevivência dos animais quando comparado aos peixes arraçoados com a dieta basal ausente dos produtos.

Li et al. (2005) não observaram melhora no desempenho de *Red drum* alimentados com dietas suplementadas com levedura ou nucleotídeos, isolados ou em combinação. Watanabe (2006) alimentando juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) com levedura íntegra, autolisada e parede celular, como pró-nutrientes, observou melhora na conversão alimentar, na taxa de eficiência protéica, no crescimento específico e redução no consumo de ração. Barnes et al. (2006) suplementaram dietas com levedura para larvas de truta arco-íris (0,0, 0,125 e 0,25 g/kg) observaram tendência de melhora no desempenho produtivo com o nível de inclusão de 0,25 g/kg de levedura na dieta.

A levedura autolisada pode proporcionar melhores resultados de desempenho, maior absorção e melhor disponibilidade dos nutrientes, já que o processo de autólise quebra parcialmente as células e expõem seus nutrientes (Gaiotto, 2005; Hisano, 2005). Os trabalhos desenvolvidos por Gaiotto (2005) e Hisano (2005) utilizando as leveduras íntegra, autolisada e parede celular mostraram melhora na disponibilidade dos nutrientes e absorção destes pelos peixes com a utilização da levedura autolisada, embora novas pesquisas devam ser conduzidas para melhor se utilizar as leveduras disponíveis no mercado.

4. MINERAL ZINCO: FUNÇÕES METABÓLICAS E FISIOLÓGICAS

4.1. O zinco na nutrição animal

Entre os minerais, o zinco se destaca por ter importância estrutural e/ou funcional em várias enzimas e proteínas no metabolismo animal. A baixa disponibilidade deste mineral na água e limitada absorção pelos peixes através das guelras (Lall & Bishop, 1977), torna

necessária sua suplementação na dieta para atender as necessidades nutricionais (Sá et al., 2005). Sá et al. (2005) determinaram a exigência nutricional de zinco para tilápia do Nilo em 79,5 mg de zinco/kg de ração em dietas práticas utilizando o sulfato de zinco como fonte de zinco, e relataram que a exigência está diretamente relacionada a sua biodisponibilidade e relação com outros minerais na dieta. Sugere-se, portanto, que o zinco sofra competição nos sítios de ligação das proteínas transportadoras com outros minerais que apresentam caráter químico bivalente, tais como cálcio, fósforo, ferro, manganês e cobre (Sandström, 2001). Entretanto, estas interações serão danosas ao organismo, quando um dos nutrientes estiver em excesso ou falta (Sá et al., 2005).

A inclusão de zinco em dietas tem apresentado melhora no aproveitamento protéico, no *status* de zinco no organismo e no crescimento animal (Oberleas & Prasad, 1969; Lorentzen & Maage, 1999; Sá, 2003), além de melhora no *status* nutricional e aumento na produção de células de defesa (Anderson et al. 1996; Sá, 2003; Mocchegiane et al., 2004). Assim, dietas que apresentem alta disponibilidade de zinco em proporção adequada, promoverão superior desenvolvimento corporal (Sá et al., 2004). A suplementação de elevadas doses para leitões, principalmente para os desmamados precocemente, resultou em melhora significativa do desempenho produtivo (Hahn & Baker, 1993; Hill et al., 2001). O efeito positivo do zinco sobre o crescimento animal pode estar relacionado ao aproveitamento do zinco dietético pela microflora bacteriana simbiótica intestinal (Southon et al., 1986; Hisano et al., 2004; Barros et al., 2004).

Li et al. (2001) relataram que o aumento do zinco disponível para microflora intestinal proporcionaria a multiplicação intensa desta, exercendo ação positiva sobre a morfologia e funcionamento epitelial absorptivo do duodeno, aumentando a espessura da mucosa intestinal e sua área absorptiva. Sugere-se, com isso, aumento da absorção dos nutrientes da dieta, favorecendo o *status* nutricional e a saúde animal (Hisano et al., 2004; Sá et al., 2005; Liao et al., 2006).

A incidência de cataratas em trutas arco-íris foi controlada pela inclusão de zinco nas dietas (Ketola, 1979; Breck et al., 2003). Ketola (1979) demonstrou o efeito antagônico de outros minerais com o zinco na dieta de trutas arco-íris resultando em aumento da severidade de cataratas e redução do crescimento. A inclusão de zinco melhorou o desempenho (Ketola, 1979; Wekell et al., 1983), *status* nutricional de zinco no organismo e aumentou os níveis de zinco no sangue e nas guelras de trutas arco-íris (Wekell et al., 1983).

Há grande variação da exigência dietética de zinco nos animais monogástricos, sendo maior em dietas a base de ingredientes vegetais em relação aos ingredientes de origem animal, devido a presença de fitato nas dietas vegetais, que ao se complexar com o zinco no lúmen digestivo, o indisponibiliza (Oberleas & Prasad, 1969; Sá et al., 2004). Assim, em dietas práticas a exigência dietética de zinco é maior que em dietas purificadas, por apresentarem altos níveis de ligantes ao zinco (Satoh et al., 1987; Sá et al., 2005). Desta forma, o bagre do canal (*Ictalurus punctatus*) que apresenta exigência de apenas 20,0 mg/kg em dietas purificadas (Gatlin III & Wilson, 1983) necessita de 150,0 a 200,0 mg/kg em dieta prática (Gatlin III & Phillips, 1989). Maage & Julshamn (1993) encontraram no conteúdo corporal do salmão do Atlântico níveis de 30,0 a 50,0 mg de zinco/kg de peso e determinaram que a exigência de zinco para a espécie está próximo ao seu conteúdo corporal, variando de 37,0 a 67,0 mg de zinco/kg de dieta.

Existe correlação positiva entre a concentração de zinco e o crescimento animal (Lorentzen & Maage, 1999), sendo maior a taxa de crescimento com o respectivo aumento corporal de zinco, até certo limite (Sá et al., 2004). Entretanto, o fornecimento de doses excessivas de zinco pode ocasionar interações antagonicas com outros nutrientes essenciais, levando, por exemplo, a diminuição do *status* de cobre no organismo, o qual é essencial para o transporte de ferro entre tecidos, podendo provocar quadro de anemia (Sandström, 2001; Barros et al., 2002; Sá, 2003).

Deve-se portanto, para avaliação do zinco dietário, considerar a biodisponibilidade da fonte de zinco utilizada, do conteúdo de fitato nas dietas, da disponibilidade nos ingredientes e/ou a composição das dietas (Sá et al., 2004). Isto demonstra a importância da padronização na avaliação da biodisponibilidade dos minerais, sua inter-relação com o ambiente, fatores antinutricionais e interação com os minerais de iguais características químicas. Portanto, pesquisas devem objetivar o estabelecimento de um padrão de avaliação técnico-científica específica para a nutrição animal.

4.2. Absorção e metabolismo de zinco

O zinco além de ser nutriente fundamental para o crescimento somático, participa do metabolismo de mais de 300 enzimas conhecidas como metaloenzimas de zinco, sendo elemento constituinte da estrutura molecular ou agindo como cofator imprescindível à correta função enzimática (Rossi et al., 2001) e controle homeostático (Chowdhury et al., 2003).

Algumas metaloenzimas de zinco são importantes ao metabolismo animal, tais como: anidrase carbônica, fosfatase alcalina, carboxipeptidase, álcool desidrogenase, superóxido dismutase, collagenase e RNA-polimerase.

A fosfatase alcalina está presente em muitos tecidos incluindo ossos, intestino, rim, fígado e leucócitos (Roth & Kirchgessner, 1980). Esta enzima é sintetizada nos ossos, fígado e intestino e posteriormente transportada para o sangue (Roth & Kirchgessner, 1980) e tem como elemento constituinte o zinco (Hambidge et al., 1986). Por agir como intermediária em uma série de reações na disponibilidade e/ou na retenção deste mineral nos diferentes órgãos, têm se tornado a enzima mais importante nas análises do *status* de zinco nos animais e humanos (Roth & Kirchgessner, 1980).

A atividade cinética da fosfatase alcalina é indicador sensível do *status* de zinco em animais (Roth & Kirchgessner, 1980; Swinkels et al., 1996) e também confirmado para peixes (Apines et al., 2001; Sá, 2003). Dessa forma, a deficiência nutricional de zinco, que promova inadequado balanço orgânico para esse mineral, prejudicará o normal funcionamento de todo esse conjunto de enzimas, afetando o equilíbrio orgânico e a saúde animal (Hambidge et al., 1986; Apines-Amar et al., 2004; Wang et al., 2002; Liao et al., 2006), reduzindo os níveis de IGF-I, hormônio de crescimento e o hormônio de crescimento ligado a proteína no mRNA (Oner et al., 1984; Clegg et al., 1995; McNall et al., 1995). Por outro lado, o incremento de zinco pode aumentar a constituição protéica óssea e seu papel no crescimento ósseo é auxiliado pelo IGF-I (Ma & Yamaguchi, 2001).

Embora a exigência dietética de zinco para a tilápia do Nilo seja pequena, 30,0 mg/kg, não raro se observam moderada carência e *status* orgânico de zinco inadequado (Eid & Ghonim, 1994; Sá et al., 2005). Os fatores relacionados à deficiência de zinco podem ser drásticos ao organismo animal, não somente ao desenvolvimento intestinal, mas principalmente aos processos fisiológicos vitais à vida. A homeostase intracelular de zinco é crítica, principalmente pelo fato deste participar de inúmeras e diferentes funções biológicas, onde as células ajustam rigorosamente a absorção e efluxo por meio de ligações deste íon a proteínas intra e extracelulares (Liuzzi et al., 2000; Liao et al., 2006). Sua absorção pelos capilares intestinais também pode ser inibida, dependendo da composição das dietas e da reação endógena que este mineral sofre no processo de digestão do bolo alimentar (Liuzzi et al., 2000).

As principais causas são as ações de inibidores da absorção intestinal de zinco e a

ingestão insuficiente do mineral (Lönnerdal, 2000; Sá et al., 2005). Se ocorrer ingestão de alimentos ricos em fitato, mesmo que o animal esteja ingerindo a quantidade recomendada de zinco, este poderá apresentar deficiência nutricional, pois o fitato presente em ingredientes vegetais pode indisponibilizar o zinco (Sá et al., 2004). Desta forma, o complexo formado entre o fitato e o zinco não é aproveitado pelo animal, sendo eliminado do organismo com as fezes, contaminando o meio ambiente (Sá et al., 2004; 2005; Gonçalves et al., 2005).

Ajustes na absorção gastrintestinal e excreção de zinco é a maneira primária pelo qual o organismo mantém as concentrações teciduais, mesmo sob variações nos níveis de ingestão (Sá et al., 2004). As características estruturais e funcionais do intestino associadas com a ausência de bactérias são, em muitos aspectos, similares às aquelas observadas no intestino de ratos deficientes em zinco (Southon et al., 1986). Estudos têm revelado que a privação de zinco está associada com variações morfológicas e funcionais no jejuno de animais monogástricos, com redução na superfície absorptiva e aumento no transporte de hexoses, acompanhado por menor taxa de proliferação celular e provável redução de células ao longo das vilosidades intestinais (Southon et al., 1986; Glover & Hogstrand, 2002a; Liao et al., 2006). O intestino apresenta baixa afinidade ao zinco em comparação às guelras, entretanto, sua capacidade de absorção é muito superior (Glover & Hogstrand, 2002b; Glover et al., 2003), principalmente como nutriente essencial aos processos vitais do organismo (Glover et al., 2003; Liao et al., 2006).

Apesar da baixa capacidade de absorção de nutrientes no estômago de animais monogástricos, este órgão prepara o íon metálico para ser absorvido pelo intestino, sendo o duodeno o principal sítio de absorção dos minerais. A acidez estomacal dissocia o íon metálico de sua matriz alimentar, solubilizando-o e tornando-o potencialmente disponível para absorção (Whitehead et al., 1996). Ainda no estômago, o íon metálico se ligará a transportadores endógenos para que possa ser absorvido. Não ocorrendo esta ligação, este poderá formar hidróxidos insolúveis em ambiente básico, precipitando-se quando houver aumento no pH, na passagem do estômago para o intestino (Powell et al., 1999), tornando-se indisponível à absorção intestinal (Whitehead et al., 1996; Powell et al., 1999).

A mucina, glicoproteína de alto peso molecular, também denominada de proteína transportadora de zinco (ZnT-I) é secretada ao longo de todo o trato gastrintestinal e tem como função fisiológica ligar-se a íons metálicos propiciando sua absorção. Esta se mantém solúvel tanto em meio ácido (estômago) como básico (intestino), possibilitando que o íon

metálico, ligado a ele, permaneça solúvel independentemente do pH do meio (Conrad et al., 1991; Glover & Hogstrand, 2002a; Wang et al., 2002; Liao et al., 2006). Os fluidos gastrintestinais apresentam, além da mucina, outros ligantes de metais, tais como: lactato, piruvato, histidina, cisteína e bicarbonato (Sandström, 2001; Glover & Hogstrand, 2003).

Segundo Liao et al. (2006), o trato digestório é um dos órgãos que apresentam a maior concentração de zinco, e as proteínas transportadoras de zinco têm sido associadas principalmente com a membrana epitelial devido a sua maior função digestiva e absorptiva. Entretanto, avaliações imunohistoquímicas e bioquímicas do epitélio intestinal em peixes demonstraram que as proteínas transportadoras de zinco não estão presentes na camada epitelial, mas estão localizadas principalmente no tecido conectivo, na lâmina própria e camada submucosa, sendo os fibroblastos as principais células ao longo do feixe das fibras de colágeno, onde estão localizadas as proteínas transportadoras de zinco (Wang et al., 2002; Liao et al., 2006). Segundo estes autores a concentração de proteínas transportadoras de zinco está associada ao colágeno e glicosaminoglicanos, os quais são regulados pelo tecido conectivo para aumentar ou reduzir a absorção de zinco e, proteger as células epiteliais contra possíveis toxidades.

O muco produzido pelo epitélio celular, induzido pela presença de cátions e ânions, é importante na proteção da membrana epitelial (Bandyopadhyay & Bandyopadhyay, 1997) e retenção de minerais como o zinco, reduzindo o potencial tóxico e facilitando, consequentemente, sua absorção (Glover & Hogstrand, 2002b), agindo como doador efetivo de zinco para a camada submucosa do epitélio (Glover et al., 2003). O incremento de temperatura corpórea parece aumentar a fluidez da membrana epitelial e, consequentemente, elevar a absorção de zinco pelas proteínas transcelulares, localizadas na camada submucosa do epitélio intestinal (Glover & Hogstrand, 2002a; Glover et al., 2003; Liao et al., 2006). Esta ação é atribuída principalmente aos mamíferos, que ao alterarem sua temperatura corpórea também alteram e/ou regulam a absorção de alguns minerais (Liao et al., 2006).

Glover & Hogstrand (2003) observaram que a substituição de sódio por potássio aumentou a concentração de zinco nos compartimentos epiteliais, o que demonstra que o potássio pode estar relacionado ao aumento de absorção ou exercendo aumento da disponibilidade de zinco nos compartimentos epiteliais, favorecendo as ligações do complexo zinco-proteína e, consequentemente, sua absorção ou excreção.

Durante o processo absorptivo, o transportador de cátions divalentes (DMT-1) localizado

na membrana apical do enterócito (Tandy et al., 2000), é conhecido pelo transporte de zinco (Gunshin et al. 1997), onde o transportador de zinco (ZnT-I) parece estar envolvido tanto no influxo quanto no efluxo deste mineral através da superfície basolateral do epitélio intestinal (Cousins & MacMahon, 2000; Liuzzi et al., 2000), o qual foi denominado de DMT-1 por Tandy et al. (2000). Os transportadores intra e extracelulares de zinco [ZnT-II, ZnT-III, ZnT-IV, ZnT-V, ZnT-VI, ZnT-VII e ZnT-VIII] os quais se apresentam como diferentes passos no processo de absorção e transporte de zinco (Palmiter et al., 1996b; Murgia et al., 1999; Chimienti et al., 2004) apresentam funções vitais no metabolismo e homeostase deste mineral no organismo animal (Glover & Hogstrand, 2002a). Estes processos ainda pouco conhecidos são de fundamental importância no metabolismo intra e extracelular (Glover & Hogstrand, 2002a; Wang et al., 2002; Liao et al., 2006).

Glover & Hogstrand (2002a) sugerem que a maioria do ZnT-II esteja ligado a frações do epitélio para serem removidos extracelularmente através dos compartimentos intracelulares, demonstrando que o tecido epitelial e subepitelial regulam constantemente a retenção e absorção de zinco. O tipo e a forma do colágeno parecem interferir no processo de absorção do zinco pelas células no tecido conectivo (Wang et al., 2002). Liao et al. (2006) observaram variações no conteúdo de zinco circundando o epitélio intestinal de diferentes espécies de peixes (*Cyprinus carpio*, *Ctenopharyngodon idellus*, *Aristyctys nobilis* e *Oreochromis aureus*) alimentadas com as mesmas dietas. Os autores relataram que a quantidade e tipo de colágeno excretado pelo epitélio intestinal nas espécies de peixes variaram ao longo do intestino, sendo que a carpa apresentou concentração de colágeno cerca de 1,7 a 4,4 vezes maior que as demais espécies.

O processo de absorção intestinal de cátions parece apresentar a seguinte prioridade: cátions monovalentes > cátions bivalentes > cátions trivalentes (Powell et al., 1999; Sandstöm, 2001). Numa ingestão normal a absorção de metais faz-se por transporte ativo, enquanto que em ingestão excessiva por difusão passiva (Sandström, 2001). A absorção de íons pelo epitélio intestinal parece ser rigorosamente regulada pelas proteínas intracelulares ligadas a camada submucosa do tecido conectivo que, desta forma, regulam por meio de processos metabólicos de proteínas transportadoras de zinco o influxo ou efluxo de zinco (Liao et al., 2006). Entretanto, muito pouco se conhece sobre seu comportamento e processo absorptivo no epitélio intestinal, mas a presença de mecanismos regulando e/ou excretando as diferentes formas de zinco e/ou minerais absorvidos e/ou metabolizados parecem existir (Glover &

Hogstrand, 2002a; 2003; Liao et al., 2006).

O zinco é cofator para ampla variedade de enzimas, incluindo aquela associada com a divisão celular, síntese protéica e metabolismo de carboidratos em bactérias (Mocchegiani et al., 2004). Sua deficiência pode resultar em baixo crescimento bacteriano nas bordas em escova do epitélio intestinal e possivelmente variações na estrutura e função da mucosa intestinal devido a redução da concentração intraluminal de zinco (Glover & Hogstrand, 2002a; Glover & Hogstrand, 2003; Liao et al., 2006).

O metal transportado através da membrana apical (luminal) do enterócito, pode ser aproveitado no metabolismo da própria célula absorptiva, ligando-se a metalotioneínas presentes no citosol, ou seguir seu caminho em direção ao capilar sanguíneo, quando atravessará a membrana basolateral (antiluminal) do enterócito (Powell et al., 1994). A medida que o complexo mucina-metal (ZnT-I) se aproxima da membrana apical do enterócito, a mudança de pH no interior do muco provoca o desacoplamento do metal à mucina e sua apreensão pelo transportador de membrana (ZnT-II) (Powell et al., 1994). Segundo Umbreit et al. (1998) para o zinco e outros metais como ferro, cobre e manganês, o complexo mucina-metal é chamado “transportador de cátions divalentes” (TCD), ocorrendo em elevado número nos enterócitos do duodeno proximal. Ligado ao metal, o TCD passa-o para proteínas intracelulares ligantes de metais, principalmente proteínas ricas em cisteína e histidina, sendo a primeira dessas moléculas a mobilferrina. Esta, além do ferro, também se liga com relativa afinidade a outros íons metálicos, como cálcio, cobre e zinco (Conrad et al., 1990).

Whitehead et al. (1996) ressaltaram que a presença de cálcio em níveis elevados no meio intracelular pode desestabilizar o complexo mobilferrina-metal, prejudicando, com isso, a absorção de outros metais. Da mesma forma que no muco, a variação no pH intracelular provoca a separação entre o metal e a mobilferrina e sua ligação ao segundo transportador citosólico a transferrina, transferindo o íon para o transportador basolateral do enterócito, que levará o metal até a corrente sanguínea, no caso específico do zinco, o mesmo se chama “transportador de zinco” (McMahon & Cousins, 1998).

Na corrente sanguínea o zinco parece estar ligado com maior afinidade a histidina, embora trocas freqüentes entre proteínas ocorram (Glover & Hogstrand, 2002a). Horn et al. (1995) observaram que com o aumento de histidina na circulação ocorre redução iônica de zinco no sangue e, parece haver correlação entre a ingestão de zinco e a concentração de histidina na corrente sanguínea. Isto pode ser resultado da especificidade nos diferentes

compartimentos durante o processo de absorção de zinco, ou condição específica para o transporte de zinco da corrente sanguínea aos tecidos (Glover & Hogstrand, 2002a; 2003). Entretanto, o sistema metabólico não permite que o íon zinco esteja na forma livre nos diferentes compartimentos fisiológicos, podendo causar sérios problemas às células e conseqüente distúrbios fisiológicos (Horn et al., 1995; Mocchegiani et al., 2004; Liao et al., 2006).

4.3. *Influência do zinco no desempenho e bem estar animal*

Lorentzen & Maage (1999) observaram correlação positiva entre a concentração de zinco corpórea e o crescimento animal. O aumento da concentração de zinco corporal, até certo limite, influenciará positivamente a taxa de crescimento, assim dietas que contenham fontes de zinco de elevada biodisponibilidade em proporções adequadas, promoverão superior desenvolvimento (Sá et al., 2004). Embora o organismo tenha sistemas metabólicos que controlam eficientemente a absorção, distribuição e excreção de zinco, evitando acúmulos que possam ser tóxicos, níveis de zinco superiores ao exigido pelo animal implicam em gastos de energia, consumo protéico e síntese de enzimas para sua excreção, que além de reduzirem seu desempenho, provocarão distúrbios metabólicos e fisiológicos (Sá et al., 2005).

As enzimas, proteínas estruturais, citoplasmáticas e nucleoproteínas constituem a maior porção de peso seco dos órgãos e adequada suplementação de zinco promoverá maior absorção de nutrientes e conseqüentemente maior formação corpórea (Sandström, 2001; Hisano et al., 2004). A ação positiva do zinco sobre o crescimento animal está relacionada ao aproveitamento do zinco dietético pela microflora bacteriana simbiótica intestinal (Southon et al., 1986; Liuzzi et al., 2000; Liao et al., 2006), logo, com o aumento do zinco disponível na microflora intestinal, essa passa a se multiplicar intensamente, promovendo ação positiva sobre a morfologia e o funcionamento do epitélio absorptivo duodenal, aumentando a espessura da mucosa intestinal, e conseqüentemente a área absorptiva (Li et al., 2001) incrementando, desta forma, a capacidade de absorção dos nutrientes da dieta e, portanto, favorecendo a nutrição e saúde animal (Sá et al., 2004).

No trato digestório de carpa comum Sun & Jeng (1998) demonstraram que a concentração de zinco está distribuída na seguinte ordem: porção anterior, média e posterior. Entretanto, Liao et al. (2006) não observaram diferenças na distribuição de zinco nas porções intestinais da mesma espécie. Isto pode estar relacionado ao tamanho dos animais utilizados nos

experimentos, condições experimentais, fonte de zinco utilizada, biodisponibilidade desta e composição das dietas alimentares fornecidas. Uma característica marcante nas espécies é a flexibilidade metabólica controlando os movimentos transcelulares de zinco dentro dos enterócitos, sua absorção, reabsorção e excreção conforme suas necessidades (Liuzzi et al., 2000).

A inclusão de zinco nas dietas tem proporcionado melhora no aproveitamento dos nutrientes (Sá et al., 2004; 2005; Perlas & Gibson, 2005). Entretanto, a deficiência de zinco na dieta resulta na redução de síntese necessária de RNA, proteína e DNA (Rossi et al., 2001), devido a diminuição no anabolismo ou aumento do catabolismo, que ainda não é claramente definido, e, concomitante redução da atividade enzimática e/ou aumento no *turnover* de zinco corporal (Oberleas & Prasad, 1969; Liuzzi et al., 2000; Liao et al., 2006). Tal desequilíbrio metabólico pode gerar ao organismo consumo dos nutrientes essenciais circulantes no sangue e os depositados nos tecidos, músculos e ossos com conseqüente redução das atividades fisiológicas e metabólicas (Hidalgo et al., 2002; Sá et al., 2005).

A exigência nutricional de zinco pode ser estimada pela taxa de *turnover* do zinco corporal ou pela quantidade excretada de zinco fecal endógeno. No primeiro caso baseia-se no aporte de zinco biodisponível suprimindo em proporção equivalente as suas necessidades metabólicas. No segundo, a exigência fisiológica de zinco corresponde ao ponto de inflexão da curva formada pela relação entre a quantidade de zinco absorvido e a quantidade de zinco fecal endógeno excretado. Atingida a exigência nutricional do organismo, qualquer incremento superior provocará, na mesma proporção, aumento da excreção de zinco endógeno, mantendo com isso a homeostase (Hambidge & Krebs, 2001; Sá, 2003).

Maage & Julshamn (1993) estimaram experimentalmente a exigência dietética de zinco para o salmão do Atlântico entre 37,0 e 67,0 mg de Zn/kg, faixa próxima à verificada no corpo dos animais, a qual está entre 30,0 a 50,0 mg de Zn/kg. O ponto de saturação dos ossos do corpo ou do plasma sanguíneo do animal com zinco pode fornecer a estimativa da exigência dietética de zinco (El-Mowafi et al., 1997; Sá et al., 2005). Em dietas à base de ingredientes de origem vegetal, como farelo de soja, por exemplo, a exigência dietética de zinco é maior que em dietas à base de ingredientes de origem animal. Isto é determinado pela presença de fitato em dietas vegetais, que complexando-se com o zinco no lúmen digestivo, indisponibiliza-o à absorção intestinal (Oberleas & Prasad, 1969; Bobilya et al., 1993; Apines-Amar et al., 2004). Portanto, em dietas práticas a exigência dietética de zinco é maior,

pois são ricas em ligantes que indisponibilizam o zinco, comparado às dietas purificadas, pobres em ligantes negativos de zinco (Sá et al., 2004).

É vital para o organismo a manutenção do nível ótimo de zinco no fígado e no sangue e, portanto, nas condições em que a quantidade de zinco for aquém da exigida pelo animal, este pode recorrer a suas reservas ósseas para suprir o zinco que lhe falta (Sá et al., 2005). Spinelli et al. (1983) fornecendo dietas purificadas suplementadas com fitato para truta arco-íris não observaram alterações nas concentrações de zinco no fígado e plasma. A ampla via metabólica governada pelo zinco ligado a proteínas e suas inter-relações regulam sua distribuição e homeostase. Os sistemas regulatórios são efetivos na sua absorção, distribuição e excreção protegendo o organismo contra deficiências e consequentemente excessos (Vallee & Falchuk, 1993; Horn et al., 1995; Glover & Hogstrand, 2002a).

A absorção de aminoácidos nas bordas em escova do epitélio intestinal parece contribuir com a absorção de minerais, que em proporções adequadas beneficiam o sistema metabólico. A histidina parece ser o aminoácido de maior atividade na absorção de zinco (Glover & Hogstrand, 2002; Glover et al., 2003).

Sá (2003) avaliou dietas práticas e purificadas suplementadas com 150 mg de Zn/kg, a partir de diferentes fontes de zinco. O autor demonstrou que para dietas práticas o óxido de zinco apresentou o menor coeficiente de absorção aparente (41,28%) em comparação ao sulfato de zinco (68,88%) e o complexo zinco-aminoácido (61,34%). O mesmo autor avaliando fontes de zinco, sulfato de zinco, óxido de zinco e o complexo zinco-aminoácido, suplementados em 150 mg de Zn/kg em dietas purificadas e práticas para alevinos revertidos de tilápia do Nilo, tendo como critério de resposta a concentração de zinco nos ossos dos animais, concluiu que o sulfato de zinco apresenta a maior biodisponibilidade relativa de zinco (104,71%).

A suplementação ótima de sulfato de zinco monoidratado para tilápia do Nilo foi avaliado por Sá et al. (2004). Esses autores testaram níveis de inclusão de sulfato de zinco monoidratado comercial na dieta de 25,0; 50,0; 100,0; 150,0; 200,0; 300,0 e 400,0 mg de Zn/kg e dieta basal não suplementada com fonte de zinco para a tilápia do Nilo na primeira fase. Na segunda fase, os peixes que receberam as dietas suplementadas com 25,0; 50,0; 100,0; 150,0; 200,0 e 300,0 mg de Zn/kg e dieta basal não suplementada com zinco passaram a receber 400,0 mg de Zn/kg na dieta, e os arraçoados com a dieta suplementada com 400 mg de Zn/kg passaram a receber a dieta basal não suplementada com zinco. Determinou-se que a

suplementação ótima de zinco para a tilápia do Nilo é de 79,51mg de zinco/kg de dieta. Os resultados demonstraram que a suplementação de fontes de zinco com excelente biodisponibilidade em dietas para peixes, além de promover melhora na absorção de nutrientes, e conseqüentemente na saúde animal, aumentou o crescimento corporal e produtivo do animal.

O zinco parece desempenhar papel chave no fator de transcrição e diferenciação celular no desenvolvimento dos eritrócitos e na hematopoiese (Tsai et al., 1989; Blobel et al., 1995; Kukita et al., 1999). Sá (2003) observou que o aumento de zinco nas dietas proporcionou aumento linear significativo de eritrócitos. O núcleo celular apresenta em sua composição zinco o qual se liga ao RNA (Wacker & Vallee, 1959) e ao DNA (Shin & Eichorn, 1968) e, desta forma a deficiência fisiológica de zinco parece prejudicar a habilidade do hormônio da tireóide em se ligar ao DNA e conseqüentemente a sua replicação e transcrição (Freake et al., 2001), que, além de retardo no crescimento ósseo, provoca redução na divisão e replicação celular (Rossi et al., 2001).

O timo é o órgão linfóide central, responsável pela produção da enzima timulina pela incorporação de metalotioneínas, proteínas carreadoras de zinco, que por meio de complexos processos de maturação e diferenciação de células T na medula óssea levam a migração de timócitos positivamente selecionados às áreas periféricas (Anderson et al., 1996), atuando de forma ainda não muito clara na produção e diferenciação de leucócitos (Mocchegiane et al., 2004).

Portanto, é de fundamental importância utilizar fontes que apresentem elevada biodisponibilidade de zinco e alimentos enriquecidos com zinco, que possam melhorar o nível nutricional dos peixes cultivados. O monitoramento dos indicadores de *status* de outros nutrientes que apresentem interações com o zinco, como ferro, cobre, cálcio e magnésio também são importantes.

4.4. Inter-relação do zinco com outros nutrientes

Os minerais são exigidos para adequado crescimento, formação óssea e tecidual, bem estar e saúde animal. A maioria das espécies de peixes depende do suprimento destes na dieta, das características e disponibilidade no ambiente aquático, formas de concentração e inter-relação para adequada atividade metabólica nas células e tecidos (Watanabe et al., 1997). Portanto, é de fundamental importância a consideração dos minerais no ambiente em estudo.

A inter-relação entre os minerais pode afetar uma série de mecanismos na absorção e disponibilidade, principalmente nos minerais de similaridades químicas. Em concentrações dietárias normais a absorção de muitos minerais é ativa ou saturável, entretanto em elevada ingestão a difusão passiva pode levar a interpretação errônea (Sandström, 2001). O *status* nutricional pobre de vitaminas afeta a integridade da mucosa e pode, desse modo, afetar a absorção de outros nutrientes, assim como a deficiência de elementos traços pode afetar a capacidade absorptiva geral, mecanismos específicos necessários para a ingestão de outros nutrientes (Sandström, 2001; Glover & Hogstrand, 2003; Sá et al., 2005).

Desta forma, é de fundamental importância a consideração dos minerais no ambiente em estudo, dentre os quais, o cálcio e o magnésio por serem altamente absorvidos pelas brânquias e apresentarem similaridade química com o zinco e, por consequência concorrem pelos mecanismos de absorção e transporte (Barron & Albeke, 2000). Embora outros minerais tenham similaridades químicas, são absorvidos pelas guelras e participam da competição interespecífica. Nos mecanismos de absorção seu grau de importância diminui pelo fato de que estes, em ambientes controlados, não interferem diretamente, sendo sua absorção pelas brânquias praticamente nula (Glover & Hogstrand, 2002a; 2003). De acordo com os resultados obtidos por Barron & Albeke (2000), os quais testaram a absorção de zinco pelas guelras de truta arco-íris em quatro diferentes concentrações e formas de aclimação ao cálcio, a concentração deste mineral afeta diretamente a absorção do zinco pelas brânquias, sendo que a exposição com baixa concentração de cálcio na água e curto período de exposição apresentou a maior taxa de absorção de zinco.

Pesquisas indicam que o zinco e o cálcio inibem competitivamente a ingestão um ao outro nas guelras e competem pelo mesmo sítio de ingestão (Hogstrand et al., 1995; 1998; Barron & Albeke, 2000). No ambiente em que o cálcio é altamente disponível, a absorção intestinal de zinco pode ser inibida ou influenciada pela alta absorção branquial de cálcio, já que este ao ser absorvido pelas brânquias se encontra disponível e circulante na corrente sanguínea (Barron & Albeke, 2000). O sítio de entrada de cálcio e zinco, parece ser a membrana apical das células de cloreto localizada nas guelras dos peixes (Spry & Wood, 1988; Hogstrand et al., 1995; Galvez et al., 1998).

Os íons, cobre, cálcio e magnésio parecem agir de forma antagônica na absorção do zinco, inibindo a excreção de muco intestinal e, conseqüentemente, reduzindo a absorção de zinco (Glover & Hogstrand, 2003). O cádmio por ser tóxico aumenta a excreção de muco nos

enterócitos e também apresenta ação antagônica na absorção do zinco, aumentando seu carreamento e excreção por meio da elevada produção de muco intestinal (Chowdhury et al., 2003; Kaur et al., 2006).

O cobre parece competir com a absorção de zinco, inibindo as ligações zinco metalotioneínas, que são muito pronunciadas nas proteínas citosólicas (Shears & Fletcher, 1983; Rutherford & Bird, 2004). As metalotioneínas são proteínas de baixo peso molecular ricas em cisteínas ligadas ao metal que têm funções de desintoxicação e assimilação deste (Hogstrand & Hood, 1996). O aumento de ligações cobre-metalotioneínas provoca um *pool* de zinco epitelial intracelular, e da mesma forma o cádmio que tem maior afinidade para a metalotioneína que o zinco provoca acúmulo de zinco extracelular, o que reduz a absorção de zinco e limita a disponibilidade e a passagem do zinco na circulação, aumentando conseqüentemente sua excreção (Wicklund-Glynn & Olsson, 1991; Glover & Hogstrand, 2002b).

O cálcio parece ter o mesmo sítio de absorção pelas guelras que o zinco (Hogstrand et al., 1998; Glover & Hogstrand, 2003) e, no epitélio intestinal sua absorção apresenta efeito antagonista com o zinco (Bertolo et al., 2001) reduzindo a biodisponibilidade de zinco (Richardson et al., 1985) e inibindo a absorção deste nos diferentes compartimentos intestinais (Glover & Hogstrand, 2003). Embora, as concentrações subepiteliais de zinco pareçam não variar, o cálcio parece inibir a passagem do zinco dentro do sistema circulatório (Glover & Hogstrand, 2002b).

Para monogástricos vários estudos demonstraram o efeito do cálcio na biodisponibilidade do zinco em dietas contendo fitato (O'Dell et al., 1964; Oberleas et al., 1966; Davies & Olpin, 1979; Morris & Ellis, 1980; Forbes et al., 1984). O aumento de cálcio, fitato ou ambos influenciou negativamente a biodisponibilidade do zinco, embora, possa ocorrer interação do cálcio com o ácido fítico da dieta (Lönnerdal et al., 1984; Spencer et al., 1984) podendo promover efeito “poupador” do zinco, tornando-o mais disponível para absorção (Lönnerdal et al., 1984; Sandström, 2001).

Vários são os relatos na literatura do efeito negativo sobre a biodisponibilidade de cálcio e zinco quando estes são adicionados conjuntamente na dieta, o qual está relacionado a formação de complexos ligantes insolúveis com o cálcio e/ou zinco (Clydesdale, 1988; 1989). Estes minerais para serem absorvidos precisam estar em contato com os diferentes sítios da mucosa intestinal, as quais requerem que estes estejam na forma solúvel (Richardson et al.,

1985; Glover & Hogstrand, 2002b; Liao et al., 2006).

As dietas que em sua composição apresentam alto conteúdo de nutrientes vegetais, principalmente farelo de soja podem tornar o zinco indisponível, devido ao farelo de soja apresentar em sua composição alto conteúdo de ácido fítico (Gonçalves et al., 2004). O ácido fítico, forma complexos estáveis *in vitro* com muitos minerais incluindo o zinco e os indisponibiliza (Gonçalves et al., 2005). Desta forma, as dietas práticas a base de ingredientes vegetais na nutrição de peixes têm a necessidade de inclusão de níveis superiores de zinco comparadas às dietas purificadas (Sá et al., 2004; 2005).

Satoh et al. (1987) avaliando diferentes níveis de inclusão de fosfato tricálcico (FT) na dieta de truta arco-íris na absorção e disponibilidade de zinco, observaram redução do crescimento e da eficiência alimentar com maior taxa de mortalidade nos peixes que receberam dietas deficientes de zinco. As dietas em que os níveis de inclusão de FT foram igual ou superior a 4,0% determinaram o aparecimento de cataratas nos peixes. Estes autores também observaram que para obter taxa de crescimento satisfatório dos peixes os níveis de zinco na dieta que continham 7,0% de FT deveriam ser o dobro da exigência da espécie em dietas práticas (80,0 mg de zinco/kg de dieta). A inclusão de FT na dieta resultou em menor disponibilidade dos minerais, manganês, magnésio, fósforo e zinco. A composição corpórea de cálcio e fósforo nos peixes diminuiu com a suplementação de zinco nas dietas. Concluiu-se, que o FT da dieta exerceu efeito direto na utilização do zinco pela truta arco-íris, prejudicando o crescimento, eficiência alimentar, taxa de sobrevivência, disponibilidade do zinco e redução nas concentrações corporais dos minerais magnésio, zinco, manganês e fósforo. Outro fator importante a ser considerado, é que os minerais, cálcio, sódio e magnésio são absorvidos em toda a extensão do trato digestório (do estômago até o intestino posterior), enquanto que os minerais, chamados metais hidrolíticos, zinco, ferro e cobre somente a partir do intestino médio, em pH básico (Satoh et al., 1987).

Spinelli et al. (1983) observaram que a inclusão de 5,0 g/kg de fitato não reduziu a biodisponibilidade do zinco no sangue, fígado e rim de truta arco-íris. Entretanto, em níveis superiores (25,8 g/kg de ácido fítico) Richardson et al. (1985), observaram que *Chinook salmon* (*Oncorhynchus tshawytscha*) alimentados com dietas semipurificadas contendo níveis de cálcio, fósforo e fosfato de sódio nas dietas, ocorreu redução no crescimento, conversão alimentar ruim, baixa taxa de eficiência protéica e aumento da taxa de mortalidade.

Minerais que apresentem as mesmas características químicas bivalentes do zinco, como,

cobre, manganês, cálcio, ferro, magnésio, etc., podem competir com o zinco por sítios de ligação de proteínas transportadoras (Sandström, 2001). As inter-relações destes nutrientes podem ser danosas ao organismo, quando ocorrerem em situações em que um esteja em excesso ou em falta, distanciando-se da homeostase necessária para a manutenção da saúde (Glover & Hogstrand, 2002a; 2003; Sá et al., 2004; 2005; Rutherford & Bird, 2006). Recomenda-se, portanto, manter a suplementação dos minerais na dieta, no mesmo balanço dos elementos no corpo do animal, evitando-se assim, a ocorrência de interações antagonistas entre os nutrientes (Maage & Julshamn, 1993; Shearer et al., 1994; Sá et al., 2004).

De acordo com o exposto observa-se que o sistema metabólico animal demanda de inúmeros processos fisiológicos para manter a homeostase, e que a inclusão de minerais e alimentos funcionais na dieta em proporções exigidas pela espécie animal proporciona melhor crescimento, bem estar e *status* nutricional. Entretanto, poucos são os relatos na literatura sobre a influência da suplementação de diferentes nutrientes na dieta de peixes, principalmente nas respostas fisiológicas e metabólicas de suas possíveis inter-relações, fato este que suscitou a realização do presente estudo apresentados em dois capítulos:

Capítulo 2 – Desempenho produtivo e respostas metabólicas da tilápia do Nilo arraçoada com dietas suplementadas com levedura autolisada e zinco

Capítulo 3 – Parâmetros hematológicos da tilápia do Nilo alimentada com dietas suplementadas com levedura autolisada e zinco e submetidas ao estresse pelo frio

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, D.P. Imunoestimulants, adjuvants, and vaccine carriers in fish: applications to aquaculture. **Animal Review Fish Disease**, v.2, p.281-307, 1992.

ANDERSON, G.; MOORE, N.C.; OWEN, J.J.; JENKINSON, E.J. Cellular interactions in thymocytes development. **Annual Review Immunology**, v.14, p.73-99, 1996.

ANDLID, T. Yeast isolated from the intestine of rainbow trout adhere to and grow in intestinal mucus. **Molecular Marine Biology and Biotechnology**, v.7, p.115-126, 1998.

ANDLID, T.; VÁZQUEZ-JUÁREZ, R.; GUSTAFSSON, L. Yeast colonizing the intestine of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and turbot (*Scophthalmus maximus*). **Microbial Ecology**, v.30, p.321-334, 1995.

ANDLID, T.; VEIDE, J.; SANDBERG, A.S. Metabolism of extracellular inositol hexaphosphate (phytate) by *Saccharomyces cerevisiae*. **International Journal of Food Microbiology**, v.97, p.157-169, 2004.

APINES, M.J.; SATOH, S.; KIRON, V.; WATANABE, T.; NASU, N.; FUJITA, S. (2001) Bioavailability of amino acids chelated and glass embedded zinc to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fingerlings. **Aquaculture Nutrition**, v.7, 221-228.

APINES-AMAR, M.J.S.; SATOH, S.; CAIPANG, C.M.A.; KIRON, V.; WATANABE, T.; AOKI, T. Amino acid-chelate: a better source of Zn, Mn and Cu for rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.240, p.345-358, 2004.

ARAÚJO, L.F.; JUNQUEIRA, O.M.; LOPES, E.L.; ARAÚJO, C.S.S.; ORTOLAN, J.H.; LAURENTIZ, A.C. Utilização da levedura desidratada (*Saccharomyces cerevisiae*) para leitões na fase inicial. **Ciência Rural**, v.36, n.5, p.1576-1781, 2006.

ASSIS, E.M. Componentes da parede celular de leveduras: Proteínas e polissacarídeos de interesse das indústrias farmacêuticas e de alimentos. In: "Workshop" Produção de biomassa de levedura: Utilização em alimentação humana e animal, 1996, Campinas. **Anais...** Campinas: ITAL, 1996. p.41-51.

ATKINSON, D.E.; CAMIEN, M. The role of urea synthesis in the removal of metabolic bicarbonate and the regulation of blood pH. **Current Topic Cell Regulation**, v.21, p.261-302, 1982.

BACCARIN, A.E.; PEZZATO, L.E. Efeito da levedura desidratada de álcool em dietas para tilápia do Nilo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, p.549-556, 2001.

BAGNI, M.; ROMANO, N.; FINOIA, M.G.; ABELLI, L.; SCAPIGLIATI, G.; TISCAR, P.G.; SARTI, M.; MARINO, G. Short- and long-term effects of a dietary yeast β -glucan (Macrogard) and alginic acid (Ergosan) preparation on immune response in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Fish & Shellfish Immunology**, v.18, p.311-325, 2005.

BANDYOPADHYAY, B.; BANDYOPADHYAY, S. K. Protective effect of zinc gluconate on chemically induced gastric ulcer. **Ind. Journal Medicine Research**, v.106, 27–32, (1997).

BAKER, D.H.; MOLITORIS, B.A. Utilization of nitrogen from selected purines and pyrimidines and from urea by the young chick. **Journal of Nutrition**, v.104, p.553-557, 1974.

BARDÓCZ, S.; GRANT, G.; BROWN, D.S.; RALPH, A.; PUSZTAI, A. Polyamines in food – implications for growth and health. **Journal Nutrition Biochemistry**, v.4, p.66-71, 1993.

BARNES, M.E.; DURBEN, D.J. REEVES, S.G; SANDERS, R. Dietary yeast culture supplementation improves initial rearing of McConaughy strain rainbow trout. **Aquaculture Nutrition**, v.12, p.388-394, 2006.

BARRON, M.G.; ALBEKE, S. Calcium control of zinc uptake in rainbow trout. **Aquatic Toxicology**, v.50, p.257-264, 2000.

BARROS, M.M.; PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C.; SÁ, M.V.C.; SAMPAIO, F.G. Complexo zinco aminoácido em dietas práticas para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum**, v.26, n.4, p.437-441, 2004.

BERTO, D.A. Uso da levedura desidratada na alimentação de suínos. In: Simpósio sobre tecnologia da produção e utilização da levedura desidratada na alimentação animal, 1997, Campinas. **Anais...** Campinas, CBNA, p.85-110, 1997.

BERTOLO, R. F.; BETTGER, W. J.; ATKINSON, S. A.; Calcium competes with zinc for a channel mechanism on the brush border membrane of piglet intestine. **Journal of Nutrition and Biochemistry**, v.12, p.66 -72, 2001.

BLOBEL, G.A.; SIMON, M.C.; ORKIN, S.H. Rescue of GATA-1-deficient embryonic stem cells by heterologous GATA-binding proteins. **Molecular Cellule Biologic**, v.15, p.626-633, 1995.

BOBILYA, D. J.; BRISKE-ANDERSON, M.; REEVES, P. G.; Zinc transport into endothelial cells is a facilitated process. **Journal Cellule Physiology**, 151, 1–7, 1993.

BRECK, O.; BJERKAS, E.; CAMPBELL, P.; ARNESEN, P.; HALDORSEN, P.; WAAGBO, R. Cataract preventative role of mammalian blood meal, histidine, iron and zinc in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) of different strains. **Aquaculture Nutrition**, v.9, p.341-350, 2003.

BURRELS, C.; WILLIAMS, P.D.; FORNO, P.F. Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds, effects on resistance to disease in salmonids. **Aquaculture**, v.199, p.159-169, 2001a.

BURRELS, C.; WILLIAMS, P.D.; SOUTHGATE, P.J.; WADSWORTH, S.L. Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds, effects of vaccination, salt water transfer, growth rates and physiology of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Aquaculture**, v.199, p.171-184, 2001b.

BUTOLO, J.E. Agentes antimicrobianos em rações de aves e suínos. In: Reunião Anual da

Sociedade Brasileira de Zootecnia, 35, 1998, Botucatu. **Anais...** Botucatu, p.237-254, 1998.

BUTOLO, J.E. Leveduras vivas e termolizadas na alimentação animal. In: Simpósio sobre ingredientes alternativos na alimentação animal, 2001, Campinas. **Anais...** Campinas, p.191-198, 2001.

BUTOLO, J.E. Uso da levedura desidratada na alimentação de aves. In: Simpósio sobre tecnologia da produção e utilização da levedura desidratada na alimentação animal, 1997, Campinas. **Anais...** Campinas, CBNA, p.51-83, 1997.

BUTS, J.P.; KEYSER, N.; RAEDEMAERKER, L.; *Saccharomyces boulardii* enhances rat intestinal enzyme expression by endoluminal release of polyamines. **Pediatric Research**, v.36, n.4, p.522-527, 1993.

CAHU, C.L.; INFANTE, J.L.Z. Maturation of the pancreatic and intestinal digestive functions in sea bass (*Dicentrarchus labrax*): effect of weaning with different protein sources. **Fish Physiology Biochemistry**, v.14, p.431-437, 1995.

CAHU, C.L.; INFANTE, J.L.Z. Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae. **Aquaculture**, v.200, p.160-180, 2001.

CAMPBELL, J.W. Excretory Nitrogen Metabolism. In: Prosser, C.L. (Ed.) Environmental and Metabolic Animal Physiology. **Comparative Animal Physiology**, 4th ed. Wiley-Liss, New York. p.277-324, 1991.

CARTWRIGHT, C.P.; ROSE, A.H.; CALDEBANK, J.; KEENAN, H.J. Solute transport. In: Rose, A.H. & Harrison, J.S. (eds.). **The yeasts**. Academic Press limited. New York, N.Y., 1989, p.5-56.

CARVALHO, M.; MACEDO-VIEGAS, E.M.; RIBEIRO, M.A.R. Utilização de células íntegras de levedura e seus derivados em dietas de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). In: XII Simposio Brasileiro de Aquicultura, 2002. **Anais...** Goiânia, p.142.

CARVER, J.D.; WALKER, W.A. The role of nucleotides in human nutrition. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.6, p.58-72, 1995.

CHIMIENTI, F.; DERGNAS, S.; FAVIER, A.; SEVE, M. Identification and Cloning of a β -cell-specific zinc transporter, ZnT-8, localized into insulin secretory granules. *Diabetes*. V.53, p.2330-2337, 2004.

CHO, C.Y. Fish nutrition, feeds, and feeding: with special emphasis on salmonid aquaculture. **Food Reviews International**, v.6, p.333-357, 1990.

CHOWDHURY, M.J.; GROSSELL, M.; MCDONALD, D.G.; WOOD, C.M. Plasma clearance of cadmium and zinc in non-acclimated and metal-acclimated trout. **Aquatic Toxicology**, v.64, p.259-275, 2003.

CLEGG, M.S.; KEEN, C.L.; DONOVAN, S.M. Zinc deficiency-induced anorexia influences the distribution of serum insulin-like growth factor-binding proteins in the rat. **Metabolism**, v.44, 1495-1501, 1995.

CLIFFORD, A.J.; STORY, D.L. Levels of purines in foods and their metabolic effects in rats. **Journal of Nutrition**, v.106, p.435-442, 1976.

CLYDESDALE, F.M.; Effectiveness of organic chelators in solubilizing calcium and zinc in fortified cereals under simulated gastrointestinal pH conditions. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.13, p.307-319, 1989.

CLYDESDALE, F.M.; Mineral interactions in foods. In: **Nutrients interactions**, (Bodwell, C.E. and Erdman, J.W. Jr., eds). 1988, p.73-113, IFT Basic Symposium Series, Marcel Dekker, NY.

CONRAD, M.E.; UMBREIT, J.N.; MOORE, E.G. et al. A newly identified iron binding protein in duodenal mucosa of rats: purification and characterization of nobilferrin. **Journal of Biological and Chemistry**, v.265, p.5273-5279, 1990.

CONRAD, M.E.; UMBREIT, J.N.; MOORE, E.G. A role for mucin in the absorption of inorganic iron and other metal cations: a study in rats. **Gastroenterology**, v.100, p.129-136, 1991.

COUSINS, R. J. & MCMAHON, R. J. Integrative aspects of zinc transporters. **Journal of Nutrition**, 130: 1384S–1387S, 2000.

COZZOLINO, S.M.E. **Valor nutritivo da biomassa de *Saccharomyces cerevisiae*. Estudos em gerações sucessivas de ratos**: São Paulo, SP. USP, 1982, p.147. (Doutorado em ciências Farmacêuticas) – Universidade de São Paulo, 1982.

CURTZMAN, C.P.; FELL, J.W. **The yeasts a taxonomic study**. Elsevier, (4th Ed.). 1997, p.1055.

DAVIS, P. **Single cell protein**. Department of food and plant sciences Stanford Research Institute. San Francisco. 1974, 235p.

DAVIES, N.T.; OLPIN, S.E. Studies on the phytate:zinc molar contents in diets as a determinant of Zn availability to young rats. **British Journal Nutrition**, v.41, p.591-603, 1979.

EID, A.E.; GHONIM, S.I. Dietary zinc requirement of fingerling *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v.119, p.259-264, 1994.

EL-MOWAFI, A.F.A.; MAAGE, A.; LORENTZEN, M. HASSANEIN, E.; JULSHAMN, K. Tissue indicators in Atlantic salmon (*Salmo salar*) post smolts: effect of fasting. **Aquaculture Nutrition**, v.3, p.73-80, 1997.

FLEMING, J.S. **Utilização de leveduras, próbióticos e mananoligossacarídeos (MOS) na alimentação de frangos de corte**. Curitiba, PR, UFPR. (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Paraná, 111p. 2005.

FORBES, R.M.; PARKER, H.M.; ERDMAN, J.W. JR. Effects of dietary phytate, calcium and magnesium levels of zinc bioavailability to rats. **Journal of Nutrition**, v.114, p.1421-1425, 1984.

FREAK, H.C.; GOVONI, K.E.; GUDA, K. HUANG, C.; ZINN, S.A. Actions and interactions of thyroid hormone and zinc status in growing rats. **Journal of Nutrition**, v.131, n.4, p.1135-1141, 2001.

FURCO, A.M. Produção de biomassa de levedura em destilarias de álcool. In: “Workshop” Produção de biomassa de levedura: Utilização em alimentação humana e animal, 1996, Campinas. **Anais...** Campinas: ITAL, 1996. p.52-58.

FURUYA, W.M.; SERON, S.; VARGAS, L. Níveis de levedura desidratada *spray dried* na dieta de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Ciência Rural**, v.30, n.4, p.699-704, 2000.

FURUYA, W.M.; PEZZATO, L.E.; PEZZATO, A.C.; BARROS, M.M. Coeficientes de digestibilidade e valores de aminoácidos digestíveis de alguns ingredientes para Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.1143-1149, 2001.

FURUYA, W.M.; BOTARO, D.; NEVES, P.R.; SILVA, L.C.R.; HAYASHI, C. Exigência de lisina pela Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), na fase de terminação. **Ciência Rural**, v.34, n.5, p.1571-1577, 2004.

GAIOTTO, J.R. **Utilização de levedura de cana-de-açúcar (*Saccharomices cerevisiae*) e seus subprodutos na alimentação de juvenis de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*):** Pirassununga, SP. USP, 2005, p.87 (Mestrado em Qualidade e Produtividade Animal) – Universidade de São Paulo, 2005.

GALVEZ, F.; WEBB, N.; HOGSTRAND, C.; WOOD, C.M. Zinc binding to the gills of rainbow trout: the effect of long-term exposure to sublethal zinc. **Journal Fish Biology**, v.52, p.1089-1104, 1998.

GATESOUPÉ, F.J. The use of probiotics in aquaculture. **Aquaculture**, v.180, p.147-165, 1999.

GATLIN, D.M.; WILSON, R.P. Dietary zinc requirement of fingerling channel catfish. **Journal of Nutrition**, v.113, p.630-635, 1983.

GATLIN III, D.M.; PHILLIPS, H.F. Dietary calcium, phytate and zinc interactions in channel catfish. **Aquaculture**, v.79, p.259-266, 1989.

GEMILL, T.R.; TRIMBLE, R.B. Overview of N- and O-linked oligosaccharide structures found in various yeast species. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1426, p.227-237, 1999.

GHIRALDINI, J.A.; ROSELI, C.E.V. Caracterização e qualidade de levedura desidratada para a alimentação animal. In: Simpósio sobre tecnologia da produção e utilização da levedura desidratada na alimentação animal. **Anais...** CBNA, Campinas., p.27-49, 1997.

GLOVER, C. N. AND HOGSTRAND, C. Amino acid modulation of *in vivo* intestinal zinc absorption in freshwater rainbow trout. **Journal Experimental Biology**, v.205, p.151-158, 2002.

GLOVER, C.N.; HOGSTRAND, C. Effects of dissolved metals and other hydromineral on in vivo intestinal zinc uptake in freshwater rainbow trout. **Aquatic toxicology**, v.62, p.281-293, 2003

GLOVER, C.N., HOGSTRAND, C. In vivo characterisation of intestinal zinc uptake in freshwater rainbow trout. **Journal Experimental Biology**, v.205, p.141-150, 2002b.

GLOVER, C.N.; HOGSTRAND, C. In vivo characterisation of intestinal zinc uptake in freshwater rainbow trout. **Journal of Experimental Biology**, v.205, p.141-150, 2002a.

GLOVER, C. N.; BURY, N.R.; HOGSTRAND, C. Zinc uptake across the apical membrane of freshwater rainbow trout intestine is mediated by high affinity, low affinity, and histidine-facilitated pathways. **Biochemic et Biophysica Acta**, v.1614, p.211-219, 2003.

GONÇALVES, G.S.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; KLEEMAN, G.K.; ROCHA, D.F. Efeitos da suplementação de fitase sobre a disponibilidade aparente de Mg, Ca, Zn, Cu, Mn e Fe em alimentos vegetais para a tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.2155-2163, 2005.

GONÇALVES, G.S.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; HISANO, H.; FREIRE, E.S.; FERRARI, J.E.C. Digestibilidade aparente e suplementação de fitase em alimentos vegetais para a tilápia do Nilo. **Acta Scientiarum**, v.26, n.3, p.313-321, 2004.

GUNSHIN, H.; MACKENZIE, B.; BERGER, U. V.; GUNSHIN, Y.; ROMERO, M. F.; BORON, W. F.; NUSSBERGER, S.; GOLLAN, J. L.; HEDIGER, M. A. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. **Nature**, v.388, p.482–488, 1997.

HAHN, J. D.; BAKER, D. H. Growth and plasma zinc responses of young pigs fed pharmacological levels of zinc. **Journal of Animal Science**. v.71, p.3020–3024, 1993.

HAMBIDGE, K.M.; CASEY, C.E.; KREBS, N.F. Zinc. in W. Mertz. **Trace elements in human and animal nutrition**. Academic Press, San Diego, EUA, p.1-137, 1986.

HAMBIDGE, M.; KREBS, N. Interrelationships of key variables of human zinc homeostasis: relevance to dietary zinc requirements. **Annual Review Nutrition**, v.21, p.429-452, 2001.

HAUSSINGER, D.; GEROK, W.; SIES, H. Hepatic role in pH regulation: role of the intercellular glutamine cycle. **Trends Biology Chemistry Science**, v.9, p.300-302, 1984.

HEIRINCH, J.N.; KWAK, S.P.; HOWLAND, D.S.; CHEN, J.; STURNER, S.; SULLIVAN, K.; LIPINSKI, K.; CHENG, K.Y. SHE, Y.; LO, F.; GHAVANI, A. Disruption of ShcA signaling halts cell proliferation – characterization of ShcC residues that influence signaling pathways using yeast. **Cellular Signalling**, v.18, p.795-806, 2006.

HIGUERA, M.L.; SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J.; MATRIX, F.J.; VARELA, G. Nitrogen utilization by rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed on the yeast *Hansenula anomala*. **Comp. Biochemistry Physiology**, v.69A, p.583-586, 1981.

HIDALGO, M.C.; EXPÓSITO, A.; PALMA, J.M.; HIGUERA, M. Oxidative stress generated

by dietary Zn-deficiency: studies in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v.34, p.183-193, 2002.

HILL, G. M.; MAHAN, D. C.; CARTER, S. D.; CROMWELL, G. L.; EWAN, R. C.; HARROLD, R. L.; LEWIS, A. J.; MILLER, P. S.; SHURSON, G. C.; VEUM, T. L. Effect of pharmacological concentrations of zinc oxide with or without the inclusion of an antibacterial agent on nursery pig performance. **Journal of Animal Science**, v.79, 934–941, 2001.

HISANO, H.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; FREIRE, E.S.; GONÇAVES, G.S.; FERRARI, J.E.C. Zinco e levedura desidratada de álcool como pró-nutrientes para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum**, v.26, n.2, p.171-179, 2004.

HISANO, H. **Levedura desidratada íntegra, autolisada e componentes da parede celular como pró-nutrientes para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*):** Botucatu, SP: UNESP, 2005, p.90 (Doutorado em Zootecnia: Nutrição e Produção Animal) – Universidade Estadual Paulista, 2005.

HOGSTRAND, C.; REID, S.D.; HOOD, C.M. Ca^{2+} versus Zn^{2+} transport in the gills of freshwater rainbow trout and the cost of adaptation to waterborne Zn^{2+} . **Journal Experimental Biology**, v.198, p.337-348, 1998.

HOGSTRAND, C.; WEBB, N.; HOOD, C.M. Covariation in regulation of affinity for branchial zinc and calcium uptake in freshwater rainbow trout during adaptation to waterborne zinc. **Journal Experimental Biology**, v.201, p.1809-1815, 1995.

HOGSTRAND, C. AND WOOD, C. M. The physiology and toxicology of zinc in fish. In **Toxicology of Aquatic Pollution**, Ed. E.W. Taylor. Cambridge: Cambridge University Press, pp. 61–84, 1996.

HORN, N.M.; THOMAS, A.L.; TOMPKINS, J.D. The effect of histidine and cystine on zinc influx into rat and human erythrocytes. **Journal of Physiology**, v.489, p.73-80, 1995.

IRIANTO, A.; AUSTIN, B. Probiotics in aquaculture. **Journal of Fish Diseases**, V.25, p.633-642, 2002.

KAUR, J.; SHARMA, N.; ATTRI, S.; GOGIA, L.; PRASAD, R. Kinetics characterization of zinc transport process and its inhibition by cadmium in isolated rat renal basolateral membrane vesicles: *in vitro* and *in vivo* studies. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v.283, p.169-179, 2006.

KAUSHIK, S.J.; LUQUET, P. Influence of bacterial protein incorporation and of sulphur amino acid supplementation to such diets on growth of rainbow trout. **Aquaculture**, v.19, p.163-175, 1980.

KENNEDY, M.J.; VOLZ, P.A.; EDWARDS, C.A.; YANCEY, R.J. Mechanisms of association of *Candida albicans* With intestinal mucosa. **Journal of Medicine Microbiology**, v.24, p.333-341, 1987.

KETOLA, H.G. Influence of dietary zinc on cataracts in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Journal of Nutrition**, v.109, p.965-969, 1979.

KRISCOVÁ, L.; DURACKOVÁ, Z.; SANDULA, J.; SASINKOVÁ, V.; KRAJCOVIC, J. Antioxidative and antimutagenic activity of yeast cell wall mannans in vitro. **Mutation Research**, v.497, p.213-222, 2001.

KUKITA, A.; KUKITA, T.; OUCHIDA, M.; MAEDA, H.; YATSUKI, H.; KOHASHI, O. Osteoblast-derived zinc finger (OCZF) protein with POZ domain, a possible transcriptional repressor, is involved in osteoblastogenesis. **Blood**, v.94, p.1987-1997, 1999.

KURTZMAN, C.P.; FELL, J.W. **The yeasts a taxonomic study**. 4th (Ed.) revised and England edition. Elsevier. 2000, p.1055.

LALL, S.P.; BISHOP, F.J. Studies on mineral and protein utilization by Atlantic salmon (*Salmon salar*) grown in sea water. **Fisheries Marine Service Research Division Technology Report**, n.688, p.16, 1977.

LAROCHE, T.; MARTIN, S.G.; TSAI-PFLUGFELDER, M.; GASSER, S.M. The dynamic yeast telomeres and silencing proteins through the cell cycle. **Journal of Structural Biology**, v.129, p.159-174, 2000.

LI, B.T.; VAN KESSEL, A.G.; CAINE, W.R. HUANG, S.X.; KIRKWOOD, R.N. Small intestinal morphology and bacterial populations in ileal digesta and feces of newly weaned pigs receiving a high dietary level of zinc oxide. **Canadian Journal of Animal Science**, v.81, p. 511-516, 2001.

LI, P.; GATLIN III, D.M. Evacuation of brewers yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a feed supplement for hybrid striped bass (*Morone chrysops* X *M. saxatilis*). **Aquaculture**, v.219, p.681-692, 2003.

LI, P., GATLIN III, D.M. Dietary brewers yeast and the prebiotic GrobioticTMAE influence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops*×*M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. **Aquaculture**, v.231, p.445-456. 2004.

LI, P.; BURR, G.S.; WHITEMAN, K.W.; DAVIS, K.B.; VEGA, R.R.; NEILL, W.H.; GATLIN III, D.M. A preliminar study on the effects of dietary supplementation of brewers yeast and nucleotides, singular or in combination, on juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*). **Aquaculture Research**, p.1-8, 2005.

LIAO, H.J.; CHEN, Y.H.; JENG, S.S. Association of zinc with connective tissue in the digestive tract of common carp. **Fisheries Science**, v.72, p.893-902, 2006.

LIUZZI, J.P.; BLANCHARD, R.K.; COUSINS, R.J. Differential Regulation of Zinc Transporter 1, 2, and 4 mRNA Expression by Dietary Zinc in Rats. **Nutritional Science In: the Journal of Nutrition**. 2000.

LÖNNERDAL, B. Dietary factors influencing zinc absorption. **Journal Nutrition**, v.130, p.1378S-1383S, 2000.

Lönerdal, B.; Cederblad, A.; Davidson, L.; Sandström, B. **Animal Journal Clynic Nutrition**, v.40, p.1064, 1984.

LORENTZEN, M.; MAAGE, A. Trace element status of juvenile Atlantic salmon *Salmo salar* L. fed a fish-meal based diet with or without supplementation of zinc, iron, manganese and copper from first feeding. **Aquaculture Nutrition**, v.5, p.163-171, 1999.

MAAGE, A.; JULSHAMN, K. Assessment of zinc status in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) by measurement of whole body and tissue levels of zinc. **Aquaculture**, v.117, p. 179-191, 1993.

MACHADO, P.F. Uso de levedura desidratada na alimentação de ruminantes. In: Simpósio sobre tecnologia da produção e utilização da levedura desidratada na alimentação animal. **Anais...** CBNA, Campinas. , p.111-128. 1997.

MCNALL, A.D.; ETHERTON, T.D., FOSMIRE, G.J. The impaired growth induced by zinc deficiency in rats is associated with decreased expression of the hepatic insulin-like growth factor I and growth hormone receptor genes. **Journal Nutrition**, v.125, p.874-879, 1995.

MACWILLIAN, I.C. The structure, synthesis and functions of the yeast cell wall – A review. **Journal of Institute of Brewing**, v.76, p.524-535, 1970.

MA, Z.J.; YAMAGUCHI, M. Stimulatory effect of zinc and growth factor on bone protein component in newborn rats: enhancement with zinc and insulin-like growth factor-I. **International Journal Molecular Medicine**, v.7, p.73-78, 2001.

MCMAHON, R.J.; COUSINS, R. Mammalian zinc transporters. **Journal of Nutrition**, v.128, p.667-670, 1998.

MAGHERINI, F.; BUSTI, S.; GAMBERI, T.; SACCO, E.; RAUGEI, G.; MANAO, G.; RAMPONI, G.; MODESTI, A. VANONI, M. In *Saccharomyces cerevisiae* an unbalanced level of tyrosine phosphorylation down-regulates the ras/PKA pathway. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v.38, p.440-460, 2006.

MEDRI, V.; PEREIRA, G.V.; LEONHARDT, J.H. Growth of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed with different levels of alcohol yeast. **Revista Brasileira Biologia**, v.60, p.113-121, 2000.

MEIJER, A.J.; LAMERS, W.H.; CHAMULEAU, R.A.F.M. Nitrogen metabolism and ornithine cycle function. **Physiological Review**, v.70, n.3, p.701-748, 1990.

MENTEN, J.F.M. Aditivos alternativos na nutrição de aves: probióticos e prebióticos. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Piracicaba, 2001. **Anais...** p.151-157.

MEURER, F.; HAYASHI, C.; SOARES, C.M. Utilização de levedura *spray dried* na alimentação de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum**, v.22, n.2, p.479-484, 2000.

MIYADA, V.S. **A levedura seca na alimentação de suínos: estudos adicionais sobre seu valor protéico e vitamínico**. Piracicaba, 1987. (Tese de livre docência). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo. 1987.

MOCCHIGIANI, E.; GIACCONI, R.; CIPRIANO, C.; MUTI, E.; GASPARINI, N.; MALAVOLTA, M. Are zinc-bound metallothionein isoforms (I+II and III) involved in impaired thymulin production and thymic involution during ageing. **Immunity & Ageing**, v.1, n.5, p.1-7, 2004.

MOREIRA, I.; ANDREOTTI, F.L.; FURLAN, A.C. Viabilidade da utilização da levedura de recuperação *Saccharomyces ssp.*, seca pelo método spray-dry, na alimentações de leitões em fase de creche. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, p.319-324, 1988.

MORRIS, E.R.; ELLIS, R. Effect of dietary phytate:zinc molar ratio on growth and bone response of rats fed semipurified diets. **Journal of Nutrition**, v.110, p.1037-1045, 1980.

MURGIA, C., VESPIGNANI, I., CERASE, J., NOBILI, F. & PEROZZI, G. Cloning, expression, and vesicular localization of zinc transporter ZnT4 in intestinal tissue and cells. **Animal Journal Physiology**, v.277: p.1231-1239, 1999.

MUZINIC, L.A.; THOMPSON, K.R.; MORRIS, A.; WEBSTER, C.D.; ROUSE, D.B.; MANOMAITIS, L. Partial and total replacement of fish meal with soybean meal and brewer's grains with yeast in practical diets for Australian red claw grayfish *Cherax quadricarinatus*. **Aquaculture**, v.230, p.359-376, 2004.

NOH, S.H.; HAN, K.; VON, T.H.; CHOI, Y.J. Effect of antibiotics, enzyme yeast culture and probiotics on the growth performance of Israeli carp. **Korean Journal Animal Science**, v.36, p.480-486, 1994.

OBERLEAS, D.; PRASAD, A.S. Growth as affected by zinc and protein nutrition. **Animal Journal Clinical Nutrition**, v.22, p.1304-1314, 1969.

OBERLEAS, D.; MUHRER, M.E.; O'DELL, B.L. Dietary metal-complexing agents and zinc availability in the rat. **Journal of Nutrition**, v.90, p.56-62, 1966.

O'DELL, B.L.; YOHE, J.M.; SAVAGE, J.E. Zinc availability in the chick as affected by phytate, calcium and ethyl-enediaminetetraacetate. **Poultry Science**, v.43, p.415-419, 1964.

OLIVA-TELES, A.; GONÇALVES, P. Partial replacement of fishmeal by brewers yeast *Saccharomices cerevisiae* in diets for sea bass *Dicentrarchus labrax* juveniles. **Aquaculture**, v.202, p.269-278, 2001.

OLIVA-TELES, A.; GUEDES, M.J.; KAUSHIK, S.J. The effect of nucleic acids on growth, ureagenesis and nitrogen excretion of gilthead sea bream *Spaurus aurata* juveniles. In: World Aquaculture, 2003, Salvador. **Anais.....** Salvador: WAS, 2003, 533p.

OLVERA-NÓVOA, M.A.; MARTÍNEZ-PALÁCIOS, C.A.; OLIVERA-CASTILLO, L. Utilization of torula yeast (*Candida utilis*) as a protein source in diets for tilapia (*Oreochromis mossambicus* Peters) fry. **Aquaculture Nutrition**, v.8, p.257-264, 2002.

OLIVER, J.; BOURKE, E. Adaptations in urea ammonium excretion in metabolic acidosis in the rat: a reinterpretation. **Clinical Science of Molecular Medicine**, v.48, p.515-520, 1975.

ONER, G.; BHAUMICK, B.; BALA, R.M. Effect of zinc deficiency on serum somatomedin

levels and skeletal growth in young rats. **Endocrinology**, v.114, p.1860-1863, 1984.

ORTUÑO, J.; CUESTA, A.; RODRÍGUEZ, A.; ESTEBAN, M.A.; MESEGUER, J. Oral administration of yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the cellular innate immune response of gilthead seabream (*Spaurus aurata* L.). **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.85, p.41-50, 2002.

PACHECO, M.T.B. Levedura como fonte de proteína: Extração, isolamento, propriedades nutritivas e funcionais. In: Produção de biomassa de levedura: utilização em alimentação humana e animal. **Workshop**. Campinas, SP, 1996.

PALMITER, R.D.; COLE, T.B.; FINDLEY, S.D. ZnT-2, a mammalian protein that confers resistance to zinc by facilitating vesicular sequestration. **Embo Journal**, v.15, n.8, p.1784-7791, 1996.

PALMITER, R. D., COLE, T. B., QUAFIE, C. J. & FINDLEY, S. D. ZnT-3, a putative transporter of zinc into synaptic vesicles. **Procedings National Academic Science**, U.S.A. 93: 14934–14939, 1996.

PEREIRA-DA-SILVA, E.M.; PEZZATO, L.E. Resposta da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) à atratividade e palatabilidade de ingredientes utilizados na alimentação de peixes. In: VIII Simpósio Brasileiro de Aquicultura. **Anais...** Peruíbe, 61p. 1994.

PÉRES, A.; CAHU, C.L.; ZANIBONI INFANTE, J.L. Dietary spermine supplementation induces intestinal maturation in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. **Fish Physiology Biochemistry**, v.16, p.479-485, 1997.

PERLAS, L.A.; GIBSON, R.S. Household dietary strategies to enhance the content and bioavailability of iron, zinc and calcium of selected rice and maize-based Philippine complementary foods. **Maternal and Child Nutrition**, v.1, p.263-273, 2005.

PEZZATO, L.E. Uso de levedura desidratada na alimentação de peixes. In: Simpósio sobre tecnologia da produção e utilização da levedura desidratada na alimentação animal. **Anais...** CBNA, Campinas, 13p. 1997.

PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C.; BARROS, M.M.; FURUYA, W.M.; PINTO, L.G.Q. Digestibilidade aparente da matéria seca e da proteína bruta e a energia digestível de alguns alimentos alternativos pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta scientiarum**, v.26, n.3, p.329-337, 2004.

PEZZATO, L.E.; MENEZES, A.; MARROS, M.M.; GUIMARÃES, I.G.; SCHICH, D. Levedura em dietas para alevinos de tilápia do Nilo. **Veterinária e Zootecnia**, v.13, n.1, p.84-94, 2006.

PONEZI, A.N.; SERRA, G.E. Levedura como fonte de enzimas de interesse industrial: Produção aplicação. ITAL. In: Workshop; **Produção de biomassa**: utilização em alimentação humana e animal. Campinas, SP. P.15-27, 1996

POWELL, J.J.; WHITEHEAD, M.W.; LEE, S. et al. Mechanisms of gastrointestinal absorption: dietary minerals and the influence of beverage ingestion. **Food Chemistry**, v.51,

p.381-388, 1994.

POWELL, J.J.; JUGDAOHSINGH, R.; THOMPSON, R.P.H. The regulation of mineral absorption in the gastrointestinal tract. **Processing Nutrition Society**, v.58, p.147-153, 1999.

RAIBAND, P. Bacterial interactions in the gut. In: Fuller, R. (ed.). **Probiotics, the scientific Basis**. London: Chapman & Hall, 9-28p, 1992.

RICHARDSON, N.; HIGGS, D.A.; BEAMES, R.M.; MCBRIDGE, J.R. Influence of dietary calcium, phosphorus, zinc and phytate level on cataract incidence, growth and histopathology in juvenile chinook salmon (*Onchrohynchus tshawytscha*). **Journal of Nutrition**, v.115, p.553-567, 1985.

ROBERTSEN, B.; ENGSTAD, R.; JORGENSEN, J.B. **β -glucans as immunostimulants in fish**. In: Stolen, J., Fletcher, T.C. (Eds) Modulators of fish immune responses. SOS Publications, Fair haven, NJ, p.83-99, 1994, 1994.

ROSSI, L.; MIGLIACCIO, S.; CORSI, A. MARZIA, M.; BIANCO, P.; TETI, A.; CAMBELLI, L.; CIANFARANI, S.; PAOLETTI, F.; BRANCA, F. Reduced growth and skeletal changes in zinc-deficient growing rats are due to imparied growth plate activity and inanition. **Journal of Nutrition**, v.131, p.1142-1146, 2001.

ROTH, H.P.; KIRCHGESSNER, M. Zn metalloenzyme activities. **Revista Nutrition Diet**, v.34, p.144-160, 1980.

ROWLAND, I.R. Metabolic interactions in the gut. In: Fuller, R. (ed.). **Probiotics, the scientific Basis**, London: Chapman & Hall, 29-53p, 1992.

RUMSEY, G.L.; KINSELLA, J.E.; SHETTY, K.J.; HUGHES, S.G. Effect of high dietary concentrations of brewer's dried yeast on growth performance and liver uricase in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Animal Feed Science and Technology**, v.33, p.177-183, 1991.

RUMSEY, G.L.; WINFREE, R.A.; HUGHES, S.G. Nutritional values of dietary nucleic acids and purine bases to rainbow trout. **Aquaculture**, v.108, p.97-110, 1992.

RUTHERFORD, J.C.; BIRD, A.J. Metal-responsive transcription factors that regulate iron, zinc, and copper homeostasis in eukaryotic cells. **Eukaryotic cell**, v.3, n.1, p.1-13, 2004.

SÁ, M.V.C.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; PADILHA, P.M. Optimum zinc supplementation level in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* juveniles diets. **Aquaculture**, v.238, p.385-401, 2004.

SÁ, M.V.C.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; PADILHA, P.M. Relative bioavailability of zinc in supplemental inorganic and organic sources for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fingerlings. **Aquaculture Nutrition**, v.11, p.273-281, 2005.

SÁ, M.V.C. **Absorção aparente, biodisponibilidade relativa e suplementação ótima de zinco em dietas para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. Botucatu, SP: UNESP, 2003, 189p. (Doutorado em Zootecnia), Universidade Estadual Paulista – Botucatu-SP. 2003.

SAHA, N.; DUTTA, S.; BHATTACHARJEE, A. Role of amino acid metabolism in air-breathing catfish, *Clarias batrachus* in response to exposure to a high concentration of exogenous ammonia. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.133, p.235-250, 2002.

SAKAI, M. Current research status of fish immunostimulants. **Aquaculture**, v.172, p.63-92, 1999.

SCHNELL, P.G.; AKIN, C. Functional properties of yeast grown on ethanol. **Journal of American Chemist Society**, v.56, n.1, p.82A-85A, 1979.

SANDSTRÖM, B. Micronutrient interactions: effects on absorption and bioavailability. **British Journal of Nutrition**, v.85, p. 181-185, sup.2, 2001.

SANCHEZ-MUNIZ, F.J.; HIGUERA, M.; VARELA, G. Alterations of erythrocytes of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) by the use of *Hansenula anomala* yeast as sole protein source. **Comparative Biochemic Physiology**, v.72, p.693-696, 1982.

SANCHEZ-MUNIZ, F.J.; HUGUERA, M. DE LA; MATAIX, F.J.; VARELA G. The yeast *ransenula anomala* as a protein source for rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Haematological aspects. **Camparative Biochemistry Physiology**, v.63A, p.153 – 157, 1979.

SATOH, N.; MURAKAMI, Y.; NAKANO, T.; SUGAWARA, M.; KAWAKAMI, H. ; IDOTA, T.; NAKAJIMA, I. Effects of dietary nucleotides on lipid metabolism and learning ability of rats. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v.59, p.1267-1271, 1995.

SATOH, S.; TABATA, K.; ISUME, K. et al. Effect of dietary tri-calcium phosphate on availability of zinc to rainbow trout. **Nippon Suisan Gakkaishi**, v.53, p.1199-1205, 1987.

SAVAGE, D.C. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. **Annual Review Microbiology**, v.31, p.107-133, 1977.

SCAPINELLO, C.; FURLAN, A.C.; OLIVEIRA, P.B.; FARIA, H.G.; PEDRO, M.R.S. Desempenho de coelhos em crescimento alimentados com levedura de recuperação (*Saccharomyces cerevisiae*) seca pelo método spray-dry. **Revista Unipar**, v.19, n.3, p.913-921, 1997.

SELVARAJ, V.; SAMPATH, K.; SEKAR, V. Administration of yeast glucan enhances survival and some non-specific and specific immune parameters in carp (*Cyprinus carpio*) infected with *Aeromonas hydrophila*. **Fish and Shelfish Immunology**, v.19, p.293-306, 2005.

SHEARER, K.; ASGARD, T.; ANDERSDOTTIR, G. et al. Whole-body elemental and proximate composition of Atlantic salmon (*Salmo salar*) during the life cycle. **Journal Fisheries Biology**, v.44, p.785-797, 1994.

SHEARS, M. A. AND FLETCHER, G. L. Regulation of Zn^{2+} uptake from the gastrointestinal tract of a marine teleost, the winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*). **Canadian Journal Fisheries Aquatic Science**, 40 (Suppl. 2): 197–205, 1983.

SHIN, Y.A.; EIGHORN, G.L. Interactions of metalions with polynucleotides and related compounds. XI. The reversible unwinding and rewinding of deoxyribonucleic acid by zinc (II) ions through temperature manipulation. **Biochemistry**, v.7, p.1026-1032, 1968.

SILVA, J.D.B.; GUIN, A.; SILVA, L.P.G.; JACOME, L.M.T.D.; GALÃO, A.F.; ALMEIDA, M.M.; PEREIRA, V.O. Utilização de diferentes níveis de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) em dietas e seus efeitos no desempenho, rendimento da carcaça e gordura abdominal em frangos de cortes. **Acta Scientiarum**, v.25, n.2, p.285-291, 2003.

SMIT, G.; STRAVER, M.H.; LUGTENBERG, B.J.J; KIJNE, J.W. Flocculence of *Saccharomyces cerevisiae* cells is induced by nutrient limitation, with cell surface hydrophobicity as a major determinant. **Applied Environmental Microbiology**, v.58, p.3709-3714, 1992.

SOUSA, R.R.P.; MATTOS, W.R.S. Digestibilidade aparente da proteína em dietas para o híbrido do pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: Reunião Anual da SBZ, 26. **Anais...** Porto Alegre. 231p. 1989.

SOUTHON, S.; GEE, J.M.; BAYLISS, C.E. et al. Intestinal microflora, morphology and enzyme activity in zinc-deficient and zinc-supplemented rats. **British Journal Nutrition**, v.5, p.603-611, 1986.

SPENCER, H.; KRAMER, L.; NORRIS, C. et al. Effect calcium and phosphorus on zinc metabolism in man. **American Journal Clinical Nutrition**, v.40, p.1213-1218, 1984.

SPINELLI, J.; HOULE, C.R.; WEKELL, J.C. Effect of phytates on the growth of rainbow trout fed purified diets containing varying quantities of calcium and magnesium. **Aquaculture**, v.30, p. 71-83, 1983.

SPRING, P. Yest's secret weapon aids animal production. **Feed Mix** (special), Minneapolis, n.1, p.32, 2000.

SPRY, D.J.; WOOD, C.M. Zinc influx across the isolated, perfused head preparation of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in hard and soft water. **Canadian Journal Fisheries Science**, v.45, p.2206-2215, 1988.

SWINKELS, J.W.; KORNEGAY, E.T.; ZHOU, W.; LINDERMAN, M.D.; WEBB, K.E. JR.; VERSTEGEN, M.W. Effectiveness of a zinc amino acid chelate and zinc sulfate in restoring serum and soft tissue zinc concentration when fed to zinc depleted pigs. **Journal Animal Science**, v.74, p.2420-2430, 1996.

SUN, L.T.; JENG, S.S. Comparative zinc concentrations in tissues of common carp and other aquatic organisms. **Zoology Study**, v.37, p.184-190, 1998.

TANDY, S.; WILLIAMS, M.; LEGGETT, A.; LOPEZ-JIMENEZ, M.; DEDES, M.; RAMESH, B.; SRAI, S. K.; SHARP, P. Nramp2 expression is associated with pH-dependent iron uptake across the apical membrane of human intestinal Caco-2 cells. **Journal Biology Chemistry**, v.275, p.1023-1029, 2000.

TABOR, C.W.; TABOR, H. Polyamines. **Annual Review Biochemistry**, v.53, p.749-790,

1984.

TACON, A.G.J. Standard methods for the nutrition and feeding of farmed fish and shrimp. vol.i The essential nutrients. Washington: **Argent Laboratories Press-Redmond**, p.95, 1990.

TACON, A.G.J.; COOKE, D.J. Nutritional value of dietary nucleic acids to trout. **Nutrition Reports International**, v.22, p.631-640, 1980.

TOVAR, D.; ZAMBONINO, J.; CAHU, C.; GATESOUPÉ, F.J.; VÁZQUEZ-JUÁREZ, R.; LÉSEL, R. Effect of live yeast incorporation in compound diet on digestive enzyme activity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. **Aquaculture**, v.204, p.113-123, 2002.

TOVAR-RAMIREZ, D.; INFANTE, J.Z.; CAHU, C.; GATESOUPÉ, F.J.; VÁZQUEZ-JUÁREZ, R. Influence of dietary live yeast on European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larval development. **Aquaculture**, v.234, p.415-427, 2004.

TSAI, S.F.; MARTIN, D.I.K.; LEONARD, I.Z.; D'ANDREA, A.D.; WONG, G.G.; ORKINAND, S.H. Cloning of cDNA for the major DNA-binding protein of the erythroid lineage through expression in mammalian cells. **Nature**, v.339, p.446-451, 1989.

UMBREIT, J.N.; CONRAD, M.E.; MOORE, E.G. et al. Iron absorption and cellular transport: the mobilferrin/paraferitin paradigm. **Seminars in Haematology**, v.35, p.13-26, 1998.

VALLEE BL, FALCHUK KH. The biochemical basis of zinc physiology. **Physiology Research**, v.73, p.79-118, 1993.

VÁZQUEZ-JUÁREZ, R.; ANDLID, T.; GUSTAFSSON, L. Cell surface hidrophobicity and is relation to adhesion of yeasts isolad from fish gut. **Colloids surfaces Biointerfaces**, v.2, p.199-208, 1994.

VÁZQUEZ-JUÁREZ, R.; ANDLID, T.; GUSTAFSSON, L. Adhesion of yeasts isplated from fish gut to grude intestinal mucus of rainbow trout *Salmo gairdneri*. **Molecular Marine Biology Biotechnology**. v.6, p.64-71, 1997.

VEIDE, J.; ANDLID, T. Improved extracellular phytase activity in *Saccharomyces serevisiae* by modifications in the *PHO* system. **International Journal of Food Microbiology**, v.15, n.108, p.60-67, 2006.

VILLARREAL, J.M.; BUENO, C.; ARENAS, F.; JABALQUINTO, A.M.; GONZÁLES-NILO, F.D.; ENCINAS, M.V.; CARDEMIL, E. Nucleotide specificity of *Saccharomices serevisiae* phosphoenolpyruvato carboxykinase kinetics, fluorescence spectroscopy, and molecular simulation studies. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v.38, p.576-588, 2006.

WATANABE, T.; KIRON, V.; SATOH, S. Trace minerals in fish nutrition. **Aquaculture**, v.151, p.185-207, 1997.

WACKER, W.E.C.; VALLEE, B.L. Nucleic acids and metals, I. Chromium, manganese, nickel, iron and other metalsin ribonucleic acids from diverse biological sources. **Journal**

Biology Chemistry, v.234, p.3257-3262, 1959.

WATANABE, A.L. **Suplementação de levedura desidratada (*Saccharomyces cerevisiae*) e derivados na alimentação de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*)**. Pirassununga, SP: USP, 2006, 82p. (Mestrado em Zootecnia). Universidade Estadual de São Paulo, Pirassununga, 2006.

WANG, M.S.; CHUANG, P.C.; SUN, L.T.; JENG, S.S. Localization of Zn-binding protein in the digestive tract tissue of common carp. **Fisheries Science**, v.68, p.484-493, 2002.

WEKELL, J.C.; SHEARER, K.D.; HOULE, C.R. High zinc supplementation of rainbow trout diets. **Program Fish Culture**, v.45, p.144-147, 1983.

WHITEHEAD, M.W.; THOMPSON, R.P.H.; POWELL, J.J. Regulation of metal absorption in the gastrointestinal tract. **Gut**, v.39, p.625-628, 1996.

WICKLUND-GLYNN, A.; OLSSON, P.E. Cadmium turnover in minnows *Phoxinus phoxinus*. preexposed to waterborne Cd. Environ. **Toxicology Chemistry**, 10, 383-394, 1991.

YOUSRI, R.F. Single cell protein its potential use for animal and human nutrition. **World Review Animal Production**, v.18, n.23, p.46-67, 1982.

CAPITULO 2

Desempenho produtivo e respostas metabólicas da tilápia do Nilo arraçoada com dietas suplementadas com levedura autolisada e zinco

RESUMO: A levedura se destaca como alimento funcional de excelente qualidade e disponibilidade que, juntamente com o zinco, em função de sua ampla participação metabólica têm sido analisados em dietas para animais. Neste estudo, avaliou-se o desempenho produtivo; porcentagem de proteína, extrato etéreo, peso seco e cinza no músculo; peso seco e cinza nos ossos; concentração de amônia e atividade cinética da fosfatase alcalina no fígado; amônia, atividade da fosfatase alcalina, uréia e lipídeos no plasma e; minerais no plasma, no fígado e nos ossos dos peixes. O delineamento experimental foi composto por nove dietas práticas formuladas para conter 32,0% de proteína digestível e 3240 kcal ED/kg de dieta com níveis de inclusão de levedura autolisada (%) e zinco (mg/kg), a saber: 0,0:0,0; 0,0:79,5; 2,0:0,0; 0,795:79,5; 2,0:200; 4,0:400; 6,0:600; 12,0:1200 e 14,0:1400, com três repetições/tratamento. Foram distribuídos aleatoriamente 135 alevinos de tilápia do Nilo com peso médio inicial de $7,27 \pm 0,19$ g em 27 aquários de 50L e alimentados *ad libitum* quatro vezes/dia por 128 dias. Concluiu-se que a suplementação de levedura autolisada e zinco nas dietas, melhora o desempenho produtivo e o metabolismo dos peixes; a suplementação de 2,0% de levedura autolisada determina melhor desempenho produtivo; níveis superiores a 6,0% de levedura autolisada e 600 mg de zinco nas dietas prejudicam o desempenho produtivo e o metabolismo de lipídeos nos peixes; níveis superiores a 4,0% de levedura autolisada e 400 mg de zinco/kg de dieta prejudicam o metabolismo de minerais.

Palavras chave: desempenho produtivo; levedura autolisada; metabólitos; minerais.

Growth performance and metabolic responses of Nile tilapia fed diets supplemented with autolised yeast and zinc

ABSTRACT: Yeast is considered a functional feedstuff with high quality and availability, and zinc because its wide metabolic participation, have been analyzed in fish diets. In this research was evaluated the growth performance; protein, lipid, dry weight and ash content in muscle; dry weight and ash in bones; ammonium concentration and alkaline phosphate activity in liver; ammonium concentration, alkaline phosphate activity, urea and lipids in plasma and; minerals in plasma, liver and bones of fish. A 128-days trial was evaluated in a completely randomized design with nine practical diets formulated to contain 32.0% DP and 3,240 kcal DE/kg diet with the following autolised yeast (%) and zinc (mg/kg) supplementation, respectively: 0.0:0.0; 0.0:79.5; 2.0:0.0; 0.795:79.5; 2.0:200; 4.0:400; 6.0:600; 12.0:1200 e 14.0:1400, and with three replicates/treatment. 135 Nile tilapia fingerlings with 7.27 ± 0.19 g average weight were randomly assigned into 27 50l-aquaria and fed *ad libitum* four times a day. Dietary autolised yeast and zinc supplementation improve growth performance and metabolism of fish; the 2.0% of autolised yeast supplementation determined better growth performance; levels higher than 6.0% of yeast and 600 mg of zinc in diets impaired growth performance and lipid metabolism in fish; levels higher than 2.0% of autolised yeast and 200 mg zinc/kg diet impaired the minerals metabolism.

Key words: productive performance; autolised yeast; metabolites; minerals.

INTRODUÇÃO

A busca por dietas que atendam as exigências nutricionais e proporcionem melhor *status* fisiológico e saúde aos animais tornou-se ferramenta importante para prevenir doenças e melhorar a produção. Desta forma, ingredientes e nutrientes com potencial para melhorar o desempenho e/ou apresentem funções específicas no metabolismo necessitam ser investigados.

Com base neste conceito, a levedura tem sido avaliada. Há algumas décadas a levedura (*Saccharomices cerevisiae*) era utilizada como alimento protéico, porém seu elevado conteúdo de nitrogênio não protéico (Butolo, 1997) e a deficiência de aminoácidos sulfurados (Furuya et al., 2000) tornaram inviável sua utilização em níveis elevados na dieta. Entretanto, resultados obtidos com sua utilização como pró-nutriente demonstraram potencial na melhora do desempenho (Li e Gatlin III, 2003; Hisano, 2005; Pezzato et al., 2006), saúde (Hisano et al., 2003; Watanabe, 2006) e resposta imunológica dos peixes (Li e Gatlin III, 2004). Isto a destaca hoje como alimento funcional de excelente qualidade e disponibilidade a ser incluído em dietas para animais.

Igualmente aos alimentos funcionais, alguns nutrientes têm sido estudados visando a saúde dos peixes. O zinco se destaca por participar como cofator de diversas enzimas (Glover e Hogstrand, 2002), da estruturação óssea (Sá et al., 2004), por proporcionar melhora no desenvolvimento (Sá et al., 2005), na condição de saúde (Henriques et al., 2003; Hisano et al., 2003) e por ser necessário para o bom funcionamento metabólico dos animais.

Entretanto, o nível de suplementação desses elementos deve ser atentamente avaliado, pois a relação antagonica existente entre os diferentes minerais de mesmo potencial iônico e a presença de fatores antinutricionais nos alimentos de origem vegetal pode determinar a formação de complexos que os indisponibilizam, com respostas fisiológicas indesejáveis (Sandstön, 2001; Sá et al., 2004). Estas poderão ser danosas ao organismo em função do excesso ou falta de minerais, afetando a homeostase necessária para o crescimento e a manutenção da saúde (Sá et al., 2005). Entretanto, os minerais quando disponíveis em níveis adequados nas dietas promovem ação positiva, prevenindo a incidência de doenças e melhorando o bem estar animal (Breck et al., 2003; Sá et al., 2005).

Desta forma, nesta pesquisa, avaliou-se a influência das dietas suplementadas com levedura autolisada e zinco no desempenho produtivo; concentração de amônia e atividade

cinética da fosfatase alcalina no fígado; amônia, atividade cinética da fosfatase alcalina, uréia e lipídeos no plasma e; minerais no plasma, no fígado e nos ossos de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Universidade Estadual Paulista – Unesp – Câmpus de Botucatu, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos – AquaNutri, Unidade integrada ao CAUNESP. Avaliou-se o desempenho produtivo, a concentração de amônia e a atividade cinética da fosfatase alcalina no plasma e no fígado e a concentração de uréia e minerais no plasma, no fígado e nos ossos dos peixes. Estes foram alimentados por 128 dias com dietas suplementadas com levedura autolisada e zinco.

As dietas foram formuladas segundo NRC (1993), Miranda et al. (2000 ab), Pezzato et al. (2002), Gonçalves et al. (2004, 2005), Furuya et al. (2001), Hisano (2005) e Guimarães (2006), de modo a apresentarem-se isoaminoacídicas, isoprotéicas (32% PD), isoenergéticas (3200 kcal ED/kg de dieta), mesma relação cálcio total/fósforo disponível e isofibrosas (Tabela 1). Para a confecção das dietas, os ingredientes foram moídos em partículas de 0,5 mm, pesados e homogeneizados manualmente e a mistura foi submetida ao processo de extrusão em equipamento de rosca simples.

Foram utilizados 135 alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) com peso médio de $7,27 \pm 0,19$ g, distribuídos aleatoriamente em 27 aquários retangulares com capacidade de 50,0L, numa densidade de cinco peixes/aquário. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado com nove dietas contendo níveis de levedura autolisada (0,0; 0,795; 2,0; 4,0; 6,0; 12,0 e 14,0%) e zinco (0,0; 79,5; 200; 400; 600; 1200 e 1400 mg/kg de dieta). Estes tratamentos foram confrontados com um tratamento suplementado com 79,50 mg de zinco/kg sem suplementação de levedura autolisada, como determinado por Sá et al. (2004) e, outro tratamento suplementado com 2,0% de levedura autolisada não suplementado com zinco, fundamentado nos resultados obtidos por Hisano (2005). Como fonte de zinco foi utilizado o sulfato de zinco heptaidratado qualidade comercial 21,0%.

Os peixes foram alimentados *ad libitum*, quatro vezes ao dia, 8h00, 11h00, 14h00 e 17h00, numa proporção que possibilitou máxima ingestão. Quando necessário, realizou-se a limpeza dos aquários e do filtro-biológico, por sifonagem, para retirada do acúmulo de resíduos das fezes. A temperatura da água foi controlada por termostato sendo em média $26,5 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ e a aeração foi mantida por soprador de ar.

Todos os peixes foram pesados no início e ao final do período experimental. Para tal utilizou-se balança de precisão (0,01g), sendo as pesagens antecedidas por 12 horas de jejum. Para a avaliação do desempenho produtivo foi determinado o ganho de peso, consumo aparente da dieta, conversão alimentar aparente, eficiência protéica e porcentagem de sobrevivência. Os peixes antes de serem pesados para avaliação do desempenho produtivo foram anestesiados com benzocaína (100 mg/L) [para coleta de sangue do vaso caudal com auxílio de seringa de 1,0 mL visando a obtenção do plasma]. Para determinação da concentração plasmática de amônia e minerais utilizou-se como anticoagulante o EDTA (3,0%) e, para a determinação da concentração plasmática de uréia e de lipídeos totais e a atividade cinética da fosfatase alcalina, solução de heparina (100 UI/mL de solução salina 0,7%).

A composição químico-bromatológica das dietas experimentais (Tabela 2) e filés dos peixes foram determinadas segundo AOAC (2000) no Laboratório de Bromatologia da FMVZ-Unesp/Botucatu, e a energia bruta das dietas em bomba calorimétrica (*Parr Instrument, Moline-IL*) no Laboratório de Química Analítica do Instituto de Biociências da Unesp – Botucatu.

Para determinação da concentração de amônia e da atividade cinética da fosfatase alcalina o fígado dos peixes foi extraído após incisão antero-posterior ventral e estocado em nitrogênio líquido ($-70,0^{\circ}\text{C}$) até realização das análises. Para as análises de minerais os ossos dos peixes foram extraídos de acordo com a metodologia adaptada de Mustin e Lovell (1992). Estas análises foram realizadas por espectrofotometria de chama (Freire et al., 2001), no Laboratório de Química Analítica do Instituto de Biociências da Unesp, Câmpus de Botucatu.

A análise de amônia foi realizada segundo metodologia desenvolvida por Gentezkow e Masen (1942), utilizando-se o reativo de Nessler. A análise de uréia foi realizada por colorimetria de ponto final pelo método de química seca *in vitro* por espectrofotômetro óptico (*Sistema Vitros 950 da Jhonson & Jhonson*) e a análise de lipídeos totais segundo

metodologia adaptada de Tonks (1970). Essas avaliações foram efetuadas no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Medicina, Câmpus de Botucatu.

A atividade cinética da fosfatase alcalina foi mensurada no plasma e no fígado utilizando-se kit de determinação por método cinético de tempo fixo (Labtest®). Foram utilizados extratos de fígado obtidos pela homogeneização de uma amostra de massa conhecida (25 mg de massa natural) em solução de ácido tricloroacético seguida de centrifugação em 5000 rpm/15 minutos.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância *Anova* e quando observadas diferenças significativas entre tratamentos aplicou-se o teste de comparação de médias de Tukey ao nível de cinco por cento de significância. Para as variáveis de metabólitos foi utilizada a técnica da análise de variação não paramétrica complementado com o teste de média de DUNN. Para a operacionalização utilizou-se o programa computacional PERFIL (Rosa, 1994).

RESULTADOS

Os parâmetros físico-químicos da água como temperatura, pH, oxigênio dissolvido, amônia, nitrito e alcalinidade foram, respectivamente; $26,47 \pm 0,38$ °C; $7,43 \pm 0,28$; $5,13 \pm 0,39$ mg/L; $0,03 \pm 0,05$ mg/L; $0,5 \pm 0,27$ ppm e $124,0 \pm 2,68$ mg/L. Estes resultados se mantiveram dentro da faixa considerada ótima para o desempenho da tilápia do Nilo (Boyd, 1990).

O desempenho produtivo dos peixes foi influenciado pela presença de levedura autolisada e zinco nas dietas (Tabela 3). Observou-se que a suplementação de levedura autolisada e zinco, isolados ou em conjunto, influenciaram o crescimento dos peixes, com melhores resultados ($P < 0,05$), para o desempenho produtivo nos peixes alimentados com as dietas suplementadas com até 6,0Lev:600Zn [Lev:Zn; levedura autolisada em porcentual e zinco em mg/kg de dieta, respectivamente]. Entretanto, a suplementação de 2,0Lev:0,0Zn determinou os melhores resultados de ganho de peso (GP), conversão alimentar aparente (CAA) e taxa de eficiência protéica (EP) dos peixes, enquanto a dieta contendo 14,0Lev:1400Zn resultou nos piores resultados.

A ação benéfica destes nutrientes no metabolismo dos peixes parece resultar no melhor aproveitamento nutricional nos níveis de inclusão de 2,0Lev:0,0Zn ou, suplementação de

0,0Lev:79,5Zn e 2,0Lev:200Zn nas dietas. O consumo de ração, proteína e porcentagem de sobrevivência dos peixes não diferiram entre os tratamentos.

As análises químico-bromatológicas do músculo dos peixes (Tabela 3) mostraram que os percentuais de proteína e extrato etéreo não apresentaram variações significativas com a suplementação de levedura autolisada e zinco nas dietas, sendo que os percentuais de peso seco e cinza aumentaram. Para os ossos, os percentuais de peso seco não apresentaram variações significativas e os valores de cinza oscilaram com os níveis de suplementação de levedura e zinco nas dietas. As análises de contrastes ortogonais realizadas para os níveis de inclusão de levedura e de zinco não revelaram diferenças no desempenho produtivo e nos percentuais de cinza no músculo e nos ossos dos peixes.

As análises dos resultados de concentrações de amônia e atividade cinética da enzima fosfatase alcalina no fígado e as concentrações de amônia, uréia e lipídeos e atividade cinética da fosfatase alcalina no plasma (Tabela 4) demonstraram oscilações nos valores observados entre os tratamentos sobre as concentrações de amônia, lipídeos totais e atividade cinética da fosfatase alcalina.

Na Tabela 5 estão apresentadas as concentrações de zinco e ferro no plasma e zinco, ferro, cobre, magnésio, cálcio e fósforo no fígado e na Tabela 6 as concentrações de zinco, ferro, cobre, magnésio, cálcio e fósforo nos ossos peixes alimentados com dietas suplementadas com levedura autolisada e zinco. Os resultados demonstraram que os níveis de inclusão de levedura autolisada e zinco influenciaram as concentrações destes minerais no plasma (exceção para o zinco), no fígado e nos ossos (exceção para o cálcio) dos alevinos.

A maior concentração plasmática de ferro foi obtida nos peixes que receberam a dieta suplementada com 0,795Lev:79,5Zn e a menor concentração nos peixes alimentados com 12,0Lev:1200Zn na dieta, embora não tenham ocorrido diferenças entre alguns tratamentos tanto para a maior quanto para a menor concentração deste mineral no plasma dos peixes. Para a concentração de cobre no fígado, as respostas foram semelhantes, sendo a maior concentração encontrada nos peixes alimentados com a dieta suplementada com 0,795Lev:79,50Zn e a menor concentração deste mineral nos peixes alimentados com dietas contendo 14,0Lev:1400Zn.

Para as concentrações de magnésio e cálcio no fígado e nos ossos observou-se oscilação nos valores. Entretanto, os resultados não mostraram inter-relação clara destes minerais com a suplementação de levedura e zinco nas dietas. Em relação às concentrações de fósforo no

figado e nos ossos dos peixes, igualmente, ocorreram diferenças entre tratamentos com o menor valor obtido nos peixes alimentados com a dieta ausente de suplementação dos ingredientes testes e o maior valor com a suplementação de 0,795Lev:79,50Zn nas dietas.

DISCUSSÃO

A ação positiva da utilização de levedura como pró-nutriente (Hisano et al., 2004; Hisano, 2005; Pezzato et al., 2006) e do zinco em níveis próximos a exigência para crescimento (Hidalgo et al., 2002; Breck et al., 2003; Barros et al., 2004; Sá et al., 2004; Kindermann et al., 2005). Estes autores ressaltaram a ação benéfica destes na absorção de nutrientes das dietas e no metabolismo dos peixes. A influencia no desempenho produtivo e nas concentrações de metabólitos e minerais no plasma, no fígado e de minerais nos ossos dos peixes deste estudo, estão em acordo com as afirmações apresentadas pelos autores citados, com tendência de melhor desempenho produtivo e metabolismo dos peixes, quando alimentados com dietas suplementadas em níveis de até 2,0% de levedura autolisada e 200mg de zinco/kg de dieta. Para a suplementação em níveis superiores a 4,0% de levedura autolisada e 400mg de zinco/kg de dieta houve tendência de piora destes parâmetros.

Os resultados positivos podem estar relacionados à melhora da fisiologia e metabolismo. Os melhores resultados observados na EP, CAA e GP com a suplementação de levedura e zinco em baixos níveis, mostraram possível melhora na absorção e deposição corporal do nitrogênio. A suplementação de levedura e zinco nas dietas apresentou interação positiva para tilápias do Nilo (Hisano et al., 2004). Entretanto, a utilização de elevados níveis de levedura nas dietas (como fonte protéica) apresentou redução no desempenho produtivo (Furuya et al., 2000; Baccarin e Pezzato, 2001) e alterações fisiológicas (Runsey et al., 1991; Li e Gatlin III, 2003), provavelmente em função dos níveis de nitrogênio não protéico presentes na levedura (Li e Gatlin III, 2004; Li et al., 2005).

Os resultados observados neste estudo demonstraram que a inclusão de 2,0% de levedura autolisada na dieta aumentou a concentração de amônia no plasma dos peixes e, a suplementação de zinco em conjunto com a levedura autolisada nas dietas parece ter inibido ou moderado o aumento desta. O zinco por atuar como promotor de crescimento (Yamaguchi, 1998; Sá et al., 2004) pode ter agido beneficemente no metabolismo do nitrogênio (Sá et al., 2005), proporcionando melhor deposição corporal deste e/ou auxiliando o metabolismo e

excreção da amônia. Embora sejam limitadas as informações sobre a participação do zinco no metabolismo dos peixes e ainda, sua participação no metabolismo do nitrogênio, os resultados permitem tal inferência.

A melhor taxa de eficiência protéica e desempenho produtivo resultaram na maior concentração de amônia no plasma dos peixes alimentados com dietas contendo 2,0% de levedura sem a inclusão de zinco. Isto sugere possível efeito deletério da levedura no metabolismo dos peixes alimentados com dietas suplementadas com níveis elevados. Entretanto, tal condição não se refletiu com a suplementação de até 14,0% de levedura e 1400mg de zinco/kg de dieta, podendo, a inclusão de zinco em conjunto com a levedura, ter influenciado positivamente o metabolismo da amônia pelos peixes. Tal resposta permite inferir que os peixes parecem resistentes a elevadas concentrações de amônia no plasma.

Os percentuais de extrato etéreo no músculo e as concentrações de lipídeos no plasma dos peixes demonstraram tendência similar de queda com a suplementação de levedura e zinco nas dietas. Tal evento pode estar relacionado a possível ação do zinco no metabolismo dos lipídeos (Henriques et al., 2003; Mocchegiani et al., 2004), com menor deposição de gordura. Respostas semelhantes foram descritas por Sá (2003) que não observou variação nos percentuais de extrato etéreo no músculo dos peixes ao suplementar de 0,0 a 400,0 mg de zinco/kg de dieta, o mesmo demonstrado por Hisano (2005) ao suplementar até 3,0% de levedura autolisada na dieta de tilápia do Nilo.

A avaliação da atividade da fosfatase alcalina plasmática fornece a atividade total desta enzima no organismo, resultante do metabolismo mineral ósseo, hepático e intestinal (Vieira, 1999). A maior atividade cinética da fosfatase alcalina é na fase de crescimento, devido à produção de colágeno preceder a mineralização óssea (Steln e Lian, 1993). A atividade da fosfatase alcalina óssea e hepática contribui com mais de 90,0% da atividade desta enzima e, intestinal em torno de 5,0% os quais respondem por praticamente toda a atividade enzimática circulante (Vieira, 1999). O fígado por participar ativamente do metabolismo dos minerais (Seve et al., 2004; Zambuzzi et al., 2005), de proteínas carreadoras e sua distribuição (Chimiente et al., 2004), do DNA e RNA polimerase δ e α , respectivamente, dependentes de zinco para a divisão celular (Lehninger et al., 1995; Falchuk, 1998) tem fundamental participação na síntese e atividade da enzima fosfatase alcalina (Zambuzzi et al., 2005). Está envolvido na estabilidade e expressão gênica por meio dos fatores de atividades de transcrição DNA e RNA polimerase no qual o zinco desempenha importante papel no reparo do DNA e

apoptose celular (Falchuk, 1998; Dreosti, 2001), podendo aumentar a síntese protéica e melhorar o crescimento (Apines-Amar et al., 2004) aumentando a síntese de IGF-I e proteína óssea (Ma e Yamaguchi, 2001 ab). A literatura apresenta ainda que a suplementação de minerais nas dietas provoca aumento das atividades enzimáticas (Apines-Amar et al., 2004; Liao et al., 2006; Cho et al., 2006).

Neste estudo, houve resposta similar, porém a atividade da fosfatase alcalina no plasma dos peixes alimentados com as dietas não suplementadas com zinco foi semelhante à dos peixes que receberam dieta suplementada com 12,0Lev:1200Zn. Portanto, o padrão de resposta da atividade da fosfatase alcalina no plasma, por não ter tido relação direta com o incremento no nível dietário de zinco, conforme esperado, não pode ser explicado somente pelo nível de suplementação deste mineral na dieta, demonstrando que outros fatores possam também ter influenciado tal resposta.

O aumento da concentração de zinco no fígado não foi observado no plasma e nem nos ossos dos peixes. Entretanto, segundo Sá et al. (2005), o fígado, apresenta elevado *turnover* de zinco, regulando a absorção e distribuição deste mineral no organismo, por meio de enzimas e proteínas denominadas metaloenzimas e metalotioneínas de zinco (Henriques e Cozzolino, 2001; Glover e Hogstrand, 2002).

Avaliando-se em conjunto as concentrações de zinco e ferro no plasma, fígado e ossos dos peixes, pode-se inferir que houve, ação antagônica do zinco absorvido no metabolismo do ferro. Isto pode ser observado pela concentração desses minerais nos ossos, sendo que nos maiores níveis de inclusão de levedura autolisada e zinco (6,0Lev:600Zn; 12,0Lev:1200Zn e 14,0Lev:1400Zn) nas dietas, as concentrações de ferro nos ossos reduziram significativamente. Entretanto, esta relação não foi observada no plasma e no fígado dos peixes. A ausência desta resposta, tanto no plasma quanto no fígado, talvez possa ser explicada pelo fato de que os compostos que circulam no plasma refletem o momento e, portanto, dificultam o estabelecimento de um padrão de resposta e que o fígado, por seu elevado metabolismo, também se comporte desta maneira principalmente com relação ao ferro, mineral bastante exigido por ser o principal constituinte do grupo heme que formará a hemoglobina (Feldman et al., 2000; Barros et al., 2002).

A concentração de cobre no fígado e nos ossos dos peixes foi igualmente influenciada pela suplementação de levedura e zinco nas dietas, não refletindo um padrão linear de resposta. Contudo, as menores concentrações de cobre foram determinadas, tanto no fígado

quanto nos ossos, na maior concentração dos ingredientes testes (14Lev:1400Zn) na dieta. Nos ossos, a maior concentração de cobre foi determinada nos peixes alimentados com a dieta suplementada com levedura autolisada ausente de zinco (2,0Lev:0,0Zn). A influência direta do cobre (80,0mg/kg dieta) na concentração de zinco no fígado foi reportada por Ferrari et al. (2004) para a tilápia do Nilo.

A relação entre esses minerais pode ser explicada, uma vez que as vias de absorção de cátions divalentes são similares (Rutherford e Bird, 2004), sendo que o zinco e o cobre se ligam aos mesmos transportadores intracelulares (Glover e Hogstrand, 2003). Entretanto, os processos metabólicos resultantes são diferentes, apresentando interações positivas ou negativas, dependentes das concentrações suplementadas às dietas (Sandström, 2001).

O cobre e o ferro são minerais com importante inter-relação por estarem envolvidos principalmente na eritropoiese, sendo que a deficiência destes pode determinar prejuízo na síntese de células vermelhas (Devlin, 1997). Embora não tenha sido determinada resposta direta e inversa da suplementação de concentrações elevadas de zinco na dieta para os níveis de ferro e cobre nos tecidos avaliados, pode-se inferir que num período experimental mais prolongado talvez houvesse prejuízo no metabolismo destes minerais com reflexo tanto no desempenho produtivo, quanto na saúde dos peixes.

Embora a literatura apresente possível efeito antagônico principalmente entre minerais bivalentes (Sandström, 2001), o aumento das concentrações de magnésio no fígado e as oscilações de respostas observadas nos ossos dos peixes de todos os tratamentos não caracterizam relação desfavorável dos ingredientes testes, principalmente zinco, sobre o metabolismo do magnésio. Contrário ao esperado, observou-se efeito favorável ao serem avaliadas as concentrações deste mineral no fígado dos peixes. Porém, esta ação positiva não está descrita na literatura.

Igualmente aos demais minerais avaliados, o cálcio não apresentou relação direta com os ingredientes testes suplementados às dietas, embora tenha apresentado tendência de aumento da concentração no fígado dos peixes alimentados com as dietas suplementadas com os ingredientes testes e menores valores na ausência de suplementação de zinco e levedura autolisada, 0,0Lev:79,5Zn e 2,0Lev:0,0Zn nas dietas. A manutenção de valores similares de cálcio no fígado, independente da concentração de zinco suplementada também foi descrita, para tilápia do Nilo por Sá et al. (2004). Porém estes autores descreveram aumento da

concentração no filé e ossos, o que não ocorreu neste estudo, uma vez que a concentração de cálcio nos ossos se manteve constante.

A literatura descreve a ação negativa do zinco no metabolismo do cálcio (Saris e Niva 1994; Sandström, 2001). Entretanto, nesta pesquisa isso pode não ter ocorrido em função da presença da levedura nas dietas, o que necessitaria ser melhor investigado. Contudo, pode-se inferir que seja em função do aumento da disponibilidade dos minerais, uma vez que houve redução da inclusão de farelo de soja na dieta e, por conseguinte, do ácido fítico, o qual age indisponibilizando diversos minerais (Gonçalves et al., 2005).

A concentração de fósforo no fígado respondeu a suplementação dos ingredientes testes na dieta (ausência menor valor). Porém, também não mostrou padrão linear de resposta, embora o maior valor tenha sido observado nos peixes alimentos com maiores níveis suplementares de ingredientes testes (14Lev:1400Zn) na dieta. Resposta similar foi observada nos ossos dos peixes dos diferentes tratamentos. Igualmente ao ocorrido com o cálcio, a presença de levedura autolisada na dieta favoreceu possivelmente a absorção de fósforo e determinou, portanto, maior concentração deste no fígado. Analisando-se em conjunto o metabolismo dos minerais mediante a avaliação do plasma, fígado e ossos dos peixes, fica evidente a dificuldade de se estabelecer a relação direta entre estes, embora seja possível a observação da inter-relação existente.

CONCLUSÕES

A suplementação de levedura autolisada e zinco nas dietas, melhora o desempenho produtivo e o metabolismo dos peixes; a suplementação de 2,0% de levedura autolisada determina melhor desempenho produtivo; níveis superiores a 6,0% de levedura autolisada e 600mg de zinco/kg nas dietas prejudica o desempenho produtivo e o metabolismo de lipídeos nos peixes; níveis superiores a 2,0% de levedura autolisada e 200mg de zinco/kg de dieta prejudicou o metabolismo de minerais.

Tabela 1. Composição porcentual das dietas experimentais suplementadas com levedura autolisada (*Lev*) e zinco (*Zn*)

Ingredientes	<i>Lev:Zn</i> ¹								
	0,0:0,0	0,0:79,5	2,0:0,0	0,795:79,5	2,0:200	4,0:400	6,0:600	12,0:1200	14:1400
Farelo de soja	58,50	58,50	58,00	58,00	57,00	56,00	54,50	48,00	45,00
Glúten de milho	5,78	5,78	5,60	5,88	6,15	6,37	6,72	9,32	10,80
Fubá de milho	7,00	7,00	6,60	7,00	7,00	6,56	6,13	6,30	6,30
Farelo de trigo	7,50	7,50	5,90	7,30	7,30	5,75	5,80	4,90	4,50
Quirera de arroz	13,33	13,29	13,75	13,06	12,46	12,91	12,21	10,00	9,59
Levedura autolisada	0,00	0,00	2,00	0,80	2,00	4,00	6,00	12,00	14,00
Cloreto de sódio	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Fosfato bicálcico	3,70	3,70	3,70	3,70	3,65	3,60	3,50	3,40	3,30
Sulfato de zinco ²	0,00	0,04	0,00	0,04	0,10	0,19	0,29	0,57	0,67
Celulose	1,85	1,85	2,05	1,89	2,00	2,23	2,40	2,95	3,23
Óleo de soja	0,60	0,60	0,67	0,60	0,60	0,65	0,64	0,59	0,56
L-lisina	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,37	0,42
DL-Metionina	0,57	0,57	0,57	0,57	0,57	0,57	0,56	0,53	0,52
Triptofano	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,06
Treonina	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Sup. (Min. + Vit.) ³	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Ant. (BHT) ⁴	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

¹ Níveis de levedura autolisada em porcentual e zinco em mg/kg de dieta.

² Fonte comercial de sulfato de zinco heptaidratado [ZnSO₄(7H₂O)] qualidade comercial 21,0% de zinco.

³ Suplemento mineral e vitamínico ausente de zinco (SupreMais) (níveis de garantia por kg do produto): vit. A = 1.200.000 UI; vit. D₃ = 200.000 UI; vit. E = 12.000 mg; vit. K₃ = 2.400 mg; vit. B₁ = 4.800 mg; vit. B₂ = 4.800 mg; vit. B₆ = 4.000 mg; vit. B₁₂ = 4.800 mg; ácido fólico = 1.200 mg; pantotenato de cálcio = 12.000 mg; vit. C = 48.000 mg; biotina = 48 mg; colina = 65.000 mg; niacina = 24.000 mg; ferro = 10.000 mg; cobre = 600 mg; manganês = 4.000 mg; iodo = 20,0 mg; cobalto = 2,0 mg e selênio = 20,0 mg.

⁴ Antioxidante (BHT) = Butil hidróxi tolueno.

Tabela 2: Análise químico-bromatológica e de minerais das dietas experimentais suplementadas com levedura autolisada (*Lev*) e zinco (*Zn*)

Nutrientes	<i>Lev:Zn</i> ¹								
	0,0:0,0	0,0:79,5	2,0:0,0	0,795:79,5	2,0:200	4,0:400	6,0:600	12,0:1200	14,0:1400
Energia bruta (kcal/kg)	4375	4378	4292	4307	4314	4397	4462	4341	4341
Proteína bruta (%)	39,37	37,47	36,64	37,49	37,46	36,53	37,62	39,26	37,98
Extrato etéreo (%)	1,08	1,03	1,05	1,21	1,06	1,13	1,07	1,05	1,00
Fibra bruta (%)	7,53	7,47	7,40	6,93	6,59	7,42	6,84	6,94	7,95
Matéria seca (%)	96,72	96,94	98,29	98,00	97,79	97,31	97,23	97,16	97,12
Matéria mineral (%)	7,98	8,04	7,81	7,85	7,83	7,80	8,18	8,13	7,68
Zinco (mg/kg)	203,58	258,59	222,41	261,31	328,85	823,70	988,14	1604,11	1821,17
Cálcio (mg/kg)	8649	7701	7907	8394	9842	9693	10409	14451	18713
Fósforo (mg/kg)	15694	15097	14996	15276	14912	14570	14798	14214	13880
Magnésio (mg/kg)	8219	7870	7878	7633	7802	8197	8188	8896	16764
Ferro (mg/kg)	434,49	554,95	384,54	554,29	470,12	519,03	359,16	471,90	557,40

¹ Níveis de levedura autolisada em porcentual e zinco em mg/kg de dieta.

Tabela 3: Média e desvio padrão do peso inicial, ganho de peso, consumo diário de ração, conversão alimentar aparente, consumo diário de proteína, taxa de eficiência protéica, porcentagem de sobrevivência, proteína, extrato etéreo, peso seco e cinza no músculo, peso seco e cinza nos ossos de alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com dietas suplementadas com levedura autolisada (*Lev*) e zinco (*Zn*) durante 128 dias

Parâmetros avaliados	<i>Lev:Zn</i> ¹									Contrastes	
	0,0:0,0	0,0:79,5	2,0:0,0	0,795:79,5	2,0:200	4,0:400	6,0:600	12,0:1200	14,0:1400	Contraste ² : Zinc	Contraste ³ : Lev
Peso médio inicial (g)	7,12±0,11	7,41±0,23	7,39±0,17	7,13±0,11	7,23±0,14	7,27±0,30	7,21±0,27	7,24±0,18	7,21±0,02	-	-
Ganho médio de peso (g/dia)	0,88±0,18ab	1,05±0,15b	1,12±0,06b	0,72±0,17ab	1,05±0,17b	0,97±0,15ab	0,95±0,10ab	0,74±0,21ab	0,59±0,17a	P>0,05	P>0,05
Consumo diário de ração (g/dia)	5,63±1,19	6,70±0,88	6,60±0,75	4,42±1,00	6,41±0,77	6,26±0,59	6,14±0,74	5,05±0,99	4,35±0,78	-	-
Conversão alimentar aparente	1,25±0,06ab	1,21±0,05a	1,19±0,33a	1,19±0,07a	1,16±0,04a	1,22±0,08a	1,22±0,06a	1,28±0,08ab	1,39±0,11b	P>0,05	P>0,05
Consumo diário de proteína (g/dia)	2,03±0,43	2,29±0,30	2,20±0,25	1,51±0,34	2,17±0,26	2,07±0,20	2,08±0,25	1,78±0,35	1,46±0,26	-	-
Eficiência protéica	2,22±0,12ab	2,43±0,10ab	2,52±0,07b	2,47±0,15ab	2,54±0,09b	2,48±0,16ab	2,43±0,12ab	2,22±0,15ab	2,15±0,18a	P>0,05	P>0,05
Sobrevivência (%)	86,67±23,09	100,00±0,00	93,33±11,55	86,67±23,09	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00	100,00±0,00	93,33±11,55	-	-
Proteína músculo (%)	88,49±2,59	90,82±1,45	89,22±0,64	89,63±0,66	91,11±0,83	90,22±2,03	88,27±1,31	89,60±1,55	89,99±0,78	-	-
Extrato etéreo músculo (%)	8,52±2,47	6,62±2,59	8,14±1,30	6,57±2,43	4,10±0,95	6,23±0,60	6,54±1,47	4,70±1,13	3,74±1,23	-	-
Peso seco músculo (%)	94,08±0,04a	94,26±0,16a	93,33±0,05a	94,53±0,07ab	93,90±0,20a	94,59±1,46ab	95,95±0,37b	95,58±0,05b	95,80±0,37b	-	-
Cinza músculo (%)	4,63±0,30a	4,67±0,15a	4,64±0,02a	4,89±0,38ab	4,95±0,04ab	4,78±0,12ab	4,98±0,13ab	5,23±0,15b	5,19±0,11b	P>0,05	P>0,05
Peso seco ossos (%)	93,99±0,43	94,65±0,39	94,91±0,05	94,49±0,06	94,22±0,20	94,42±0,04	94,51±0,24	93,80±0,03	93,41±1,25	-	-
Cinzas ossos (%)	70,92±0,50ab	69,38±0,60a	70,66±0,03ab	71,20±0,27b	70,90±0,43ab	69,89±0,03a	70,06±0,17a	70,21±0,02ab	70,60±0,70ab	P>0,05	P>0,05

¹ Níveis de levedura autolisada em porcentual e zinco em mg/kg de dieta.

² Contrastes ortogonais entre os níveis (0,0:79,5X0,795:79,5+2,0:200+4,0:400+6,0:600+12,0:1200+14,0:1400, *Lev:Zn*) de suplementação de zinco nas dietas.

³ Contrastes ortogonais entre os níveis (2,0:0,0X0,795:79,5+2,0:200+4,0:400+6,0:600+12,0:1200+14,0:1400, *Lev:Zn*) de suplementação de levedura autolisada nas dietas.

* Médias nas linhas seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).

Tabela 4: Média e desvio padrão da concentração de amônia e atividade da fosfatase alcalina no fígado e concentração de amônia, uréia e lipídeos e atividade da fosfatase alcalina no plasma de alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com dietas suplementadas com levedura autolisada (Lev) e zinco (Zn) durante 128 dias

Lev:Zn ¹	Fígado		Plasma			
	Amônia (nmols/mL)	Fosfatase alcalina (mmols/mL)	Amônia (nmols/mL)	Fosfatase alcalina (mmols/mL)	Uréia (mg/L)	Lipídeos (mg/mL)
0,0:0,0	7,15±0,61	46,40±5,67	275,68±17,60a	8,51b±1,21ab	17,76±1,62	3,18±0,18ab
0,0:79,5	7,40±0,90	40,80±4,16	263,14±6,34a	6,90±1,52a	16,82±1,24	4,78±2,43b
2,0:0,0	6,88±0,39	34,54±1,87	339,31±20,32b	7,75±0,61ab	15,58±0,71	3,83±0,13ab
0,795:79,5	7,19±1,21	34,26±16,47	256,64±7,05a	8,51±2,24ab	19,78±4,86	2,50±0,70ab
2,0:200	6,84±0,68	42,46±4,81	252,15±0,93a	12,68±0,91bc	20,41±5,71	3,10±0,20ab
4,0:400	7,39±0,09	54,56±6,02	265,15±10,92a	7,55±1,36a	16,20±2,35	4,13±0,08ab
6,0:600	6,95±0,49	38,92±1,80	272,27±40,89a	8,66±2,85ab	14,64±0,27	4,30±0,10ab
12,0:1200	6,97±0,88	42,28±3,27	280,94±25,81a	11,73±2,85abc	16,51±1,18	1,90±0,10a
14,0:1400	6,68±0,36	38,64±9,40	258,19±0,80a	15,15±0,63c	17,76±2,14	2,05±0,05a
Cont ²	-	-	P>0,05	P>0,05	-	P>0,05
Cont ³	-	-	P<0,05	P>0,05	-	P>0,05

¹ Níveis de levedura autolisada em porcentual e zinco em mg/kg de dieta.

² Contrastes ortogonais entre os níveis (0,0:79,5X0,795:79,5+2,0:200+4,0:400+6,0:600+12,0:1200+14,0:1400, Lev:Zn) de suplementação de zinco nas dietas.

³ Contrastes ortogonais entre os níveis (2,0:0,0X0,795:79,5+2,0:200+4,0:400+6,0:600+12,0:1200+14,0:1400, Lev:Zn) de suplementação de levedura autolisada nas dietas.

* Médias nas colunas seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).

Tabela 5: Concentração de zinco e ferro no plasma e zinco, ferro, cobre, magnésio, cálcio e fósforo no fígado de alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com dietas suplementadas com levedura autolisada (*Lev*) e zinco (*Zn*) durante 128 dias

<i>Lev:Zn</i> ¹	Plasma		Fígado					
	Zinco (µg/g)	Ferro (µg/g)	Zinco (µg/g)	Ferro (µg/g)	Cobre (µg/g)	Magnésio (mg/g)	Cálcio (mg/g)	Fósforo (µg/g)
0,0:0,0	849,41±4,14	335,85±42,08abc	145,32±1,33a	50,01±10,07a	111,80±20,88ab	2,71±0,69a	2,32±0,25a	111,82±5,60a
0,0:79,5	849,76±16,38	438,55±37,41bc	161,23±26,67a	72,02±14,03ab	94,80±7,57ab	3,07±0,56ab	3,44±0,70bc	151,38±0,83b
2,0:0,0	871,44±6,84	381,26±11,42abc	173,06±0,54ab	51,41±0,84a	106,10±5,80ab	3,29±0,66ab	3,09±0,13b	144,06±4,16b
0,795:79,5	818,92±0,11	521,87±200,18c	255,64±18,82d	83,30±12,17b	134,42±30,13b	5,33±0,35d	4,98±0,28f	246,42±12,90e
2,0:200	814,28±16,94	280,99±11,35ab	199,36±13,95bc	48,86±4,16a	119,10±3,15ab	4,12±0,29c	3,93±0,38cde	216,73±29,23d
4,0:400	827,96±10,67	246,83±3,48ab	210,02±4,68c	67,26±15,13ab	93,95±2,26ab	3,90±0,53bc	3,78±0,46cd	201,60±5,44cd
6,0:600	830,96±18,01	291,80±42,72ab	205,61±17,43c	108,26±7,74c	117,28±20,71ab	3,66±0,41bc	4,35±0,11de	178,78±7,33c
12,0:1200	814,30±6,53	233,77±0,90a	192,28±3,74bc	63,63±5,71ab	123,61±35,49b	3,80±0,78bc	3,94±0,23cde	151,27±0,79b
14,0:1400	811,94±7,92	389,59±132,12abc	207,12±1,83c	63,71±1,20ab	75,87±8,30a	4,21±0,41c	4,39±0,49ef	187,04±11,91c

¹ Níveis de levedura autolisada em porcentual e zinco em mg/kg de dieta.

* Médias nas colunas seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).

Tabela 6: Concentração de zinco, ferro, cobre, magnésio, cálcio e fósforo nos ossos de alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com dietas suplementadas com levedura autolisada (*Lev*) e zinco (*Zn*) durante 128 dias

<i>Lev:Zn</i> ¹	Zinco (mg/g)	Ferro (µg/g)	Cobre (µg/g)	Magnésio (mg/g)	Cálcio (mg/g)	fósforo (mg/g)
0,0:0,0	1,20±0,37b	156,23±19,34bcd	248,84±26,62b	31,58±0,90a	255,67±3,78	47,54±9,22a
0,0:79,5	1,18±0,33b	145,02±5,15bc	137,01±13,74a	31,45±0,39a	252,34±25,78	66,85±7,05abc
2,0:0,0	1,08±0,29a	152,00±19,42bc	421,11±29,86c	29,92±1,44ab	274,33±4,21	56,79±18,87ab
0,795:79,5	1,18±0,50b	157,91±7,71bcd	208,67±1,13b	31,42±0,52a	255,07±15,46	89,28±7,81bc
2,0:200	1,13±0,16ab	159,03±11,22cd	254,07±56,67b	30,20±0,71ab	272,86±1,84	65,94±24,51abc
4,0:400	1,07±0,57a	182,19±4,98d	116,87±16,48a	31,34±0,81a	263,52±11,01	81,98±9,90bc
6,0:600	1,15±0,41b	118,23±12,54a	86,38±3,68a	29,43±0,54b	262,53±1,70	93,72±20,05c
12,0:1200	1,17±0,13b	116,09±0,84a	205,41±6,56b	30,55±0,36ab	255,22±4,12	60,46±6,88abc
14,0:1400	1,19±0,29b	132,09±0,23ab	124,51±3,58a	30,30±0,35ab	260,41±9,63	163,61±13,87d

¹ Níveis de levedura autolisada em porcentual e zinco em mg/kg de dieta.

* Médias nas colunas seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,05).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC Association of official agricultural chemists. **Official methods of analysis**, 2000, 12ed. Washington, D.C.:

APINES-AMAR, M.J.S.; SATOH, S.; CAIPANG, C.M.A.; KIRON, V.; WATANABE, T.; AOKI, T. Amino acid-chelate: a better source of Zn, Mn and Cu for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture**, v.240, p.345-358, 2004.

BACCARIN, A.E.; PEZZATO, L.E. Efeito da levedura desidratada de álcool em dietas para tilápia do Nilo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, p.549-556, 2001.

BARROS, M.M.; PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C.; SÁ, M.V.C.; SAMPAIO, F.G. Complexo zinco aminoácido em dietas práticas para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum**, v.26, n.4, p.437-441, 2004.

BARROS, M.M.; PEZZATO, L.E.; KLEEMANN, G.K.; HISANO, H.; ROSA, G.J.M. Níveis de vitamina C e ferro para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.3447-3455, 2002.

BOYD, C. **Water quality in ponds for aquaculture**. Alabama: Birmingham Publiscing, 1990, 482p.

BRECK, O.; BJERKAS, E.; CAMPBELL, P.; ARNESEN, P.; HALDORSEN, P.; WAAGGO, R. Caract preventative role of mammalian blood neal, histidine, iron and zinc in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) of diferent strains. **Aquaculture Nutrition**, v.9, p341-350, 2003.

BUTOLO, J.E. Uso da levedura desidratada na alimentação de aves. In: Simpósio sobre tecnologia da produção e utilização da levedura desidratada na alimentação animal, 1997, Campinas. **Anais...** Campinas, CBNA, p.51-83, 1997.

CHO, Y.S.; CHOI, B.N.; KIM, K.H.; KIM, S.K.; KIM, D.S.; BANG, I.C.; NAM, Y.K. Differential expression of Cu/Zn superoxide dismutase mRNA during exposures to heavy metals in rockbream (*Oplegnathus fasciatus*). **Aquaculture**, v.253, p.667-679, 2006.

CHIMIENTI, F.; DERGNAS, S.; FAVIER, A.; SEVE, M. Identification and Cloning of a β -cell-specific zinc transporter, ZnT-8, localized into insulin secretory granules. **Diabets**, v.53, p.2330-2337, 2004.

DEVLIN, T.M. **Textbook of biochemistry with clinical correlations**. John Wiley & Sons, Inc. Copyright. 1997, 1007p.

DREOSTI, I.E. Zinc and the gene. **Mutat Research**, v.18, n.1-2, p.161-167, 2001.

FALCHUK, K.H. The molecular basis for the role of zinc in developmental biology. **Molecular Cellular Biochemistry**, v.188, p.41-48, 1998.

FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**, 2000, (Ed.

Fifth).

FERRARI, J.E.C.; BARROS, M.M.; PEZZATO, L.E.; GONÇALVES, G.S.; HISANO, H.; KLEEMANN, G.K. Níveis de cobre em dietas para a tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*. **Acta Scientiarum**, V.26, n.4, p.429-436, 2004.

FREIRE, E.S.; HISANO, H.; GONÇALVES, G.S.; ROLDAN, P.S.; PEZZATO, L.E.; FLORENTINO, A.O.; PADILHA, P.M. Determinação de Cr₂O₃ utilizado como marcador de rações em fezes de peixes por GFAAS após mineralização em forno de microondas. In: Encontro Regional de Química da Sociedade Brasileira de Química, 31, 2001, Araraquara. **Proceedings...** Araraquara, Brasil: Instituto de Química da UNESP, p.73, 2001.

FURUYA, W.M.; SERON, S.; VARGAS, L. Níveis de levedura desidratada *spray dried* na dieta de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Ciência Rural**, v.30, n.4, p.699-704, 2000.

FURUYA, W.M.; PEZZATO, L.E.; PEZZATO, A.C.; BARROS, M.M. Coeficientes de digestibilidade e valores de aminoácidos digestíveis de alguns ingredientes para Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.1143-1149, 2001.

GENTZKOW, C.J.; MASEN, J.M. Na accurate method for the determination of blood urea nitrogen by direct Nesslerization. **Journal of Biological Chemistry**, v.143, p.531-544, 1942.

GLOVER, C.N.; HOGSTRAND, C. *In vivo* characterisation of intestinal zinc uptake in freshwater rainbow trout. **Journal of Experimental Biology**, v.205, p.141-150, 2002.

GLOVER, C.N.; HOGSTRAND, C. Effects of dissolved metals and other hydrominerals on *in vivo* intestinal zinc uptake in freshwater rainbow trout. **Aquatic toxicology**, v.62, p.281-293, 2003.

GONÇALVES, G.S.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; HISANO, H.; FREIRE, E.S.; FERRARI, J.E.C. Digestibilidade aparente e suplementação de fitase em alimentos vegetais para a tilápia do Nilo. **Acta Scientiarum**, v.26, n.3, p.313-321, 2004.

GONÇALVES, G.S.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; KLEEMAN, G.K.; ROCHA, D.F. Efeitos da suplementação de fitase sobre a disponibilidade aparente de Mg, Ca, Zn, Cu, Mn e Fe em alimentos vegetais para a tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.2155-2163, 2005.

GUIMARÃES, I.G. **Digestibilidade aparente, pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), de alimentos extrusados**. Botucatu, SP: UNESP, 2006, p.67 (Mestrado em Zootecnia: Nutrição e Produção Animal) – Universidade Estadual Paulista, 2006.

HENRIQUES, G.S.; HIRATA, M.H.; COZZOLINO, S.M.F. Aspectos recentes da absorção e biodisponibilidade do zinco e suas correlações com a fisiologia da isoforma testicular da enzima conversora de angiotensina. **Revista de Nutrição**, v.16, n.3, p.333-345, 2003.

HENRIQUES, G.S.; COZZOLINO, S.M.F. Determination of metallothionein levels in tissues of yong rats fed zinc-enriched diets. **Revista de Nutrição**, v.14, n.3, p.163-169, 2001.

HIDALGO, M.C.; EXPÓSITO, A.; PALMA, J.M.; HIGUERA, M. Oxidative stress generated by dietary Zn-deficiency: studies in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v.34, p.183-193, 2002.

HISANO, H. **Levedura desidratada íntegra, autolisada e componentes da parede celular como pró-nutrientes para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**: Botucatu, SP: UNESP, 2005, p.90 (Doutorado em Zootecnia: Nutrição e Produção Animal) – Universidade Estadual Paulista, 2005.

HISANO, H.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; KLEEMANN, G.K.; FREIRE, E.S.; GONÇALVES, G.S.; ZUANON, J.A.; SÁ, M.V.C. Yeast and zinco an hematological parameters of Nile tilapia fingerlings *Oreochromis niloticus*. In: Abstract Book of World Aquaculture Society, 2003. **Proceedings...** Salvador, Brasil: WAS, 2003, v.2, p.575.

HISANO, H.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; FREIRE, E.S.; GONÇALVES, G.S.; FERRARI, J.E.C. Zinco e levedura desidratada de álcool como pró-nutrientes para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum**, v.26, n.2, p.171-179, 2004.

KINDERMANN, B.; DÖRING, F.; FUCHS, D.; PFAFL, M.W.; DANIEL, H. Effects of increased cellular zinc levels on gene and protein expression in HT-29 cells. **BioMetals**, V.18, p.243-253, 2005.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de Bioquímica**. 1995, 2ª ed. Trad. Simões A.A.; Lodi, W.R.N. São Paulo: Sarvier.

LIAO, H.J.; CHEN, Y.H.; JENG, S.S. Association of zinc with connective tissue in the digestive tract of common carp. **Fisheries Science**, v.72, p.893-902, 2006.

LI, P.; BURR, G.S.; WHITEMAN, K.W.; DAVIS, K.B.; VEGA, R.R.; NEILL, W.H.; GATLIN III, D.M. A preliminar study on the effects of dietary supplementation of brewers yeast and nucleotides, singular or in combination, on juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*). **Aquaculture Research**, p.1-8, 2005.

LI, P.; GATLIN III, D.M. Evacuation of brewers yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a feed supplement for hybrid striped bass (*Morone chrysops* X *M. saxatilis*). **Aquaculture**, v.219, p.681-692, 2003.

LI, P., GATLIN III, D.M. Dietary brewers yeast and the prebiotic Grobiotic™AE influence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops*×*M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. **Aquaculture**, v.231, p.445-456. 2004.

MA, Z.J.; YAMAGUCHI, M. Role of endogenous zinc in the enhancement of bone protein synthesis associated with bone growth of newborn rats. **Journal Bone Mineral Metabolites**, v.19, p.38-44, 2001a.

MA, Z.J.; YAMAGUCHI, M. Stimulatory effect of zinc and growth factor on bone protein component in newborn rats: enhancement with zinc and insulin-like growth factor I. **International Journal Molecular Medicine**, v.7, p.73-78, 2001b.

MIRANDA, E.C.; PEZZATO, A.C.; PEZZATO, L.E.; GRANER, C.F.; ROSA, G.J.; PINTO, L.G.Q. Relação cálcio/fósforo disponível em rações para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.6, p.2162-2171, 2000a.

MIRANDA, E.C.; PEZZATO, A.C.; PEZZATO, L.E.; FURUYA, W.M. Disponibilidade aparente de fósforo em ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum**, v.22, n.3, p.669-675, 2000b.

MOCCHIGIANI, E.; GIACCONI, R.; CIPRIANO, C.; MUTI, E.; GASPARINI, N.; MALAVOLTA, M. Are zinc-bound metallothionein isoforms (I+II and III) involved in impaired thymulin production and thymic involution during ageing. **Immunity & Ageing**, v.1, n.5, p.1-7, 2004.

MUSTIN, W.G.; LOVELL, R.T. Na-L-Ascorbyl-2-monophosphate as a source of vitamin C for channel catfish. **Aquaculture**, v.105, p.95-110, 1992.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of fish**. 1993. 114p. Washington, D.C.: National Academy of Science.

PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C.; BARROS, M.M. PINTO, L.G.Q.; FURUYA, W.M.; PEZZATO, A.C. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1595-1604, 2002.

PEZZATO, L.E.; MENEZES, A.; MARROS, M.M.; GUIMARÃES, I.G.; SCHICH, D. Levedura em dietas para alevinos de tilápia do Nilo. **Veterinária e Zootecnia**, v.13, n.1, p.84-94, 2006.

ROSA, G.J.M. **Desenvolvimento de aplicativo para análises de perfil na experimentação zootécnica**. Botucatu, SP: UNESP, 1994, p.72 (Mestrado em Zootecnia: Nutrição e Produção Animal) – Universidade Estadual Paulista, 1994.

RUMSEY, G.L.; KINSELLA, J.E.; SHETTY, K.J.; HUGHES, S.G. Effect of high dietary concentrations of brewer's dried yeast on growth performance and liver uricase in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Animal Feed Science and Technology**, v.33, p.177-183, 1991.

RUTHERFORD, J.C.; BIRD, A.J. Metal-responsive transcription factors that regulate iron, zinc, and copper homeostasis in eukaryotic cells. **Eukaryotic cell**, v.3, n.1, p.1-13, 2004.

SÁ, M.V.C.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; PADILHA, P.M. Optimum zinc supplementation level in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* juveniles diets. **Aquaculture**, v.238, p.385-401, 2004.

SÁ, M.V.C.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; PADILHA, P.M. Relative bioavailability of zinc in supplemental inorganic and organic sources for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fingerlings. **Aquaculture Nutrition**, v.11, p.273-281, 2005.

SANDSTRÖM, B. Micronutrient interactions: effects on absorption and bioavailability. **British Journal of Nutrition**, v.85, p. 181-185, sup.2, 2001.

SARIS, N.E.L.; NIVA, K. Is Zn²⁺ transported by the mitochondrial calcium uniporter? **Febbs**

Letters, v.356, p.195-198, 1994.

SEVE, M.; CHIMIENTI, F.; DEVERGNAS, S.; FAVIER, A. In silico identification and expression of SLC30 family genes: An expressed sequence tag data mining strategy for the characterization of zinc transporters tissue expression. **BMC Genomics**, v.5, n.32, p.1-9, 2004.

STELN, G.S.; LIAN, J.B. Molecular mechanisms mediating proliferation/differentiation interrelationships during progressive development of the osteoblast phenotype. **Endocrinology Review**, v.14, p.424-442, 1993.

TONKS, D.B.; **Quality control in clinical laboratories diagnostic reagents**. 1970. Division, Ontário.

VIEIRA, J.G.H. Considerações sobre marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo e sua utilidade prática. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia Metabólica**, v.43, n.6, p.415-422, 1999.

WATANABE, A.L. **Suplementação de levedura desidratada (*Saccharomyces cerevisiae*) e derivados na alimentação de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*)**. Pirassununga, SP: USP, 2006, 82p. (Mestrado em Zootecnia). Universidade Estadual de São Paulo, Pirassununga, 2006.

YAMAGUSHI, M. Role of zinc in bone formation in bone resorption. **Journal Trace Elemental Experience Medicine**, v.11, p.119-135, 1998.

ZAMBUZZI, W.F.; NEVES, M.C.M.; OLIVEIRA, R.C.; SILVA, T.L.; CESTARY, T.M.; BUZALAF, M.A.R.; GRANJEIRO, J.M.; TAGA, R.; TAGA, E.M. Reação tecidual e perfil de fosfatases após o implante de matriz óssea desmineralizada xenogênica em músculo de ratos. **Ciencia Odontológica Brasileira**, v.8, n.2, p.90-98, 2005.

CAPITULO 3

Parâmetros hematológicos da tilápia do Nilo alimentada com dietas suplementadas com levedura autolisada e zinco e submetidas ao estresse pelo frio

RESUMO: A levedura e o zinco por demonstrarem ação benéfica na manutenção da higidez animal tornaram-se objetivo de estudos na área de nutrição e saúde animal. Nesta pesquisa avaliou-se parâmetros hematológicos da tilápia do Nilo alimentada com dietas suplementadas com levedura autolisada e zinco, antes (fase I) e após (fase II) o estresse pelo frio. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado constituído de nove dietas formuladas para conter 32,0% PD e 3240 kcal ED/kg com níveis crescentes de levedura autolisada (%) e zinco (mg/kg), a saber: 0,0:0,0; 0,0:79,5; 2,0:0,0; 0,795:79,5; 2,0:200; 4,0:400; 6,0:600; 12,0:1200 e 14,0:1400 com três repetições/tratamento. Na fase I, 135 alevinos com peso médio de $7,27 \pm 0,19$ g foram distribuídos em 27 aquários 50L e mantidos a $26,0 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ durante 128 dias. A alimentação foi *ad libitum* quatro vezes/dia. Após esse período avaliou-se: número de eritrócitos, porcentagem de hematócrito, taxa de hemoglobina, volume corpuscular médio, concentração de hemoglobina corpuscular média, proteína plasmática total, leucócitos totais, porcentagem de linfócitos, neutrófilos e monócitos. Posteriormente, iniciou-se a fase II, sendo que nove peixes/tratamento foram transferidos para 27 aquários de 40L cada (três/aquário) e submetidos à baixa temperatura ($13,0^{\circ}\text{C}$) por sete dias. Após, foram avaliados os mesmos parâmetros hematológicos da fase I. O número de eritrócitos foi significativamente influenciado pelos níveis de inclusão de levedura autolisada e zinco nas dietas. Após o estresse pelo frio os peixes que demonstraram maior prejuízo na eritropoiese foram os que receberam dietas 0,795:79,50 (Lev:Zn) e 14:1400 (Lev:Zn). A ausência dos nutrientes testes determinou queda significativa no hematócrito, leucócitos totais e proteína plasmática total. A combinação de levedura autolisada e zinco na dieta, não refletiu num padrão de melhora do perfil hematológico; níveis elevados de levedura autolisada e zinco determinaram condições sub-ótimas de saúde; o estresse pelo frio determina leucopenia, linfopenia, neutrofilia e monopenia.

Palavras-chave: Hematologia; *Oreochromis niloticus*; desafio pelo frio; saúde; pró-nutriente, minerais.

Hematologic parameters of Nile tilapia fed diets supplemented with autolised yeast and zinc and submitted to cold stress

ABSTRACT: Due to the benefits of yeast and zinc on animal health maintenance, their study have been considered in many researches in animal nutrition and health area. In this research was evaluated hematological parameters of Nile tilapia fed diets supplemented with autolised yeast and zinc, before (phase I) and after (phase II) cold stress. The experimental design were completely randomized with nine diets formulated to contain 32.0% DP and 3,240 kcal/kg DE with increasing levels of autolised yeast and zinc (mg/kg), as: 0.0:0.0; 0.0:79.5; 2.0:0.0; 0.795:79.5; 2.0:200; 4.0:400; 6.0:600; 12.0:1200; 14.0:1400 and three replicates/treatment. In phase I, 135 fingerlings with 7.21 ± 0.19 g average weight were distributed in 27 50l-aquaria and kept to $26.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ during 128 days. Fish were fed *ad libitum* four times/day. After this period evaluated: erythrocytes number, hematocrit, hemoglobin, corpuscular volume, mean corpuscular volume, total plasmatic protein, total leucocytes, lymphocytes, neutrophils and monocytes percentage. After these analyses phase II began and nine fish from each treatment were transferred into 27 40l-aquaria (three/aquarium) and submitted to cold temperature (13.0°C) during seven days. After this period it were analyzed the same hematological parameters of phase I. The number of erythrocytes was significantly influenced by autolised yeast and zinc in diets. After cold stress fish fed diets supplemented with 0.795:79.50 (Lev:Zn) and 14:1400 (Lev:Zn) presented impaired erythrocyte synthesis. Absence of test nutrients determines significant decrease in hematocrit, total leukocyte and total plasmatic protein. The combination of autolised yeast and zinc in diet did not reflect in better hematological parameters; high levels of dietary autolised yeast and zinc determined quite good health conditions; cold stress determines leukopenia, lymphopenia, neutrophilia and monopenia.

Key words: Hematology; *Oreochromis niloticus*; cold stress; healthy; pro-nutrient, minerals.

INTRODUÇÃO

Os pró-nutrientes por melhorarem o desempenho produtivo e o sistema de defesa e os minerais por participarem de diversas funções enzimáticas tornaram-se objetivo de estudos na área de nutrição e saúde animal. Segundo Barros et al. (2006) o novo conceito de balanceamento de rações considera que, além de nutrir o animal visando o máximo desempenho, é necessário nutrir ainda, seu sistema de defesa. Tal prática, além de possibilitar as respostas zootécnicas almejadas e a saúde dos peixes, permite que se obtenha maior resistência orgânica para superar a ação de agentes estressores, componentes inevitáveis sob condições intensivas de cultivo.

Por conseguinte, a levedura tem sido avaliada e têm demonstrado seu potencial na melhora da saúde, bem estar e crescimento dos peixes. Igualmente, o zinco tem demonstrado ser essencial no metabolismo animal por ter funções específicas em ampla variedade de enzimas, hormônios de crescimento, estrutura óssea e sistema imunológico.

A levedura por apresentar estimulantes naturais em sua composição surge como fonte alternativa de pró-nutrientes (Rodriguez et al., 2003; Li e Gatlin III, 2004; Pezzato et al., 2006) proporcionando melhora no metabolismo (Tovar et al., 2002) e bem estar animal (Butolo, 2001). A ação benéfica de sua utilização em dietas para a aquicultura tem sido relatada por diversos autores, com melhora no desenvolvimento inicial, sobrevivência e melhor *status* nutricional (Runsey et al., 1991; Rostad et al., 1993; Hisano et al., 2004; Barnes et al., 2006; Watanabe, 2006; Pezzato et al., 2006), saúde (Hisano, 2005) e resposta imune (Rodríguez et al., 2003; Li e Gatlin III, 2003). Entretanto, quando utilizada como única fonte protéica em dietas para peixes tem resultado em prejuízo ao desenvolvimento e metabolismo e ainda anemia microcítica hipocrômica (Sánchez-Muniz et al., 1982).

Pesquisas com zinco têm demonstrado melhora no desempenho produtivo (Watanabe et al., 1997; Li e Gatlin III, 2003; 2004; Sá et al., 2004) e saúde dos peixes (Henriques et al., 2003; Hisano et al., 2003). Em condições de deficiência deste mineral relatou-se baixos índices de ganho de peso, piora na conversão alimentar e menor ingestão diária de alimento (Hidalgo et al., 2002) podendo ainda, prejudicar as funções dos hormônios da tireóide (Freake et al., 2001; Rossi et al., 2001) e a eritropoiese (Sá et al., 2004). Foi também relatada a interação antagônica entre o zinco e outros minerais de mesmo caráter iônico bivalente (Sandström, 2001; Sá et al., 2005).

Desta forma, o presente experimento objetivou avaliar a suplementação de levedura autolisada e zinco em dietas para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) nos parâmetros hematológicos e suas implicações metabólicas antes e após o desafio pelo frio, por meio do hemograma completo.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Universidade Estadual Paulista – Unesp – Câmpus de Botucatu, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos – AquaNutri – Unidade integrada ao CAUNESP. O experimento constou de duas fases, anterior e posterior ao estresse pelo frio. Inicialmente os peixes foram arraçoados com as dietas experimentais objetivando estabelecer a condição nutricional em função dos níveis de zinco e levedura presentes nas dietas, fase I, anterior ao estresse. Posteriormente, foram submetidos ao estresse por baixa temperatura, fase II, com a finalidade de se avaliar as diferentes condições nutricionais.

Fase I

Na fase anterior ao estresse pelo frio, alevinos de tilápia do Nilo, obtidos da Piscicultura Aracanguá/SP foram alojados em caixas de 250L, num sistema de recirculação de água, pelo período de 15 dias para adaptação ao sistema, onde foram alimentados *ad libitum* com a dieta controle, utilizada no período experimental. Após esse período, 135 alevinos com peso médio de $7,27 \pm 0,19$ g, foram distribuídos aleatoriamente em 27 aquários retangulares com capacidade de 50L cada, numa densidade de cinco peixes/aquário. A estrutura experimental foi, incluía filtro físico-biológico, distribuição de água e ar de acordo com as necessidades experimentais. A renovação média de água foi de 13,19 mL/s ou renovação completa em 63,20 minutos.

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado com nove dietas contendo níveis de levedura autolisada (0,0; 0,795; 2,0; 4,0; 6,0; 12,0 e 14,0%) e zinco (0,0; 79,5; 200; 400; 600; 1200 e 1400 mg de Zn/kg de dieta). Estes tratamentos foram confrontados com dois tratamentos, um contendo 79,50 mg de zinco suplementar/kg e ausente

da suplementação de levedura autolisada, como determinado por Sá et al., (2004) e, outro tratamento suplementado com 2,0% de levedura autolisada e ausente de zinco, fundamentado nos resultados obtidos por Hisano (2005) (Tabela 1). Como fonte de zinco utilizou-se o sulfato de zinco heptaidratado, qualidade comercial 21,0%.

Nesta fase inicial os peixes foram alimentados *ad libitum*, quatro vezes ao dia: 8h00; 11h00, 14h00 e 17h00, numa proporção para máxima ingestão sem perdas, repetido o processo alimentar duas vezes num período de 10 minutos de intervalo por horário de alimentação durante todo o período experimental inicial (Fase I), que foi de 128 dias. As dietas foram armazenadas em freezer a $-4,0^{\circ}\text{C}$ e semanalmente os potes foram abastecidos e estocados no período noturno em geladeira a $12,0^{\circ}\text{C}$, minimizando as perdas de nutrientes. Quando necessário realizou-se a limpeza dos aquários e demais estruturas, por sifonagem, para retirada do acúmulo de resíduos das fezes. Procedimento este mantido em todos os aquários.

Para manutenção dos parâmetros de qualidade da água, o sistema de abastecimento foi dotado de filtro físico-biológico, sistema de aquecimento controlado por termostato eletrônico e digital e aeração mantida por soprador de ar externo. Quando necessário foi realizada a sifonagem do filtro físico-biológico. A temperatura da água dos aquários foi mantida dentro da faixa de conforto para a espécie, $26,0 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, a qual foi aferida às 8h00 e 17h00. O controle do pH e o teor de oxigênio dissolvido da água foram efetuados semanalmente, por meio de peagômetro e oxímetro digital e, quinzenalmente com kits comerciais para controle de amônia e nitrito e a alcalinidade por soluções padrão, respectivamente.

As avaliações hematológicas foram realizadas antes (128º dia) e após o desafio pelo frio (7º dia após início da queda de temperatura). A coleta de sangue foi efetuada do vaso caudal com seringa de 1mL banhada em anticoagulante EDTA (3,0%) com os peixes anestesiados em benzocaína (100mg/L de água).

A contagem do número de eritrócitos e leucócitos totais foi realizada pelo método do hemocitômetro em câmara de Neubauer, utilizando-se azul de toluidina a 0,01% em pipeta de Thoma como solução diluente e corante. A diferenciação dos leucócitos foi realizada em esfregaço sanguíneo corado com May-Grünwald Giemsa.

A taxa de hemoglobina foi determinada pelo método da cianometahemoglobina, utilizando-se kit de determinação fotocolorimétrica (Analisa Diagnóstica®), segundo Collier (1944). Para determinação da porcentagem de hematócrito utilizou-se centrifuga para

microhematócrito em 5000 rpm durante 5 minutos (Goldenfarb et al., 1971) e a proteína plasmática total foi mensurada utilizando-se refratômetro manual de Goldenberg. As variáveis acima apresentadas foram avaliadas segundo as técnicas descritas por Jain (1986). Posteriormente a essas análises foram calculados os índices hematimétricos volume corpuscular médio [$VCM = (Htc \times 10)/\text{eritrócitos}$] e concentração de hemoglobina corpuscular média [$CHCM = (Hb/Htc) \times 100$], segundo Wintrobe (1934).

A contagem diferencial de leucócitos foi realizada nas extensões em lâminas. Estas foram previamente limpas com detergente e água e, desengordurada com éter etílico PA e acetona PA e, secas com auxílio de gaze. Devidamente identificadas, foram confeccionadas três lâminas por tratamento, acondicionados em caixas apropriadas e posteriormente coradas com corantes hematológicos May-Grünwald Giemsa utilizando-se a técnica descrita por Tavares-Dias e Moraes (2004). A contagem diferencial foi realizada em microscópio com aumento de 100 vezes, contando-se 200 células e estabelecendo-se o percentual de cada componente celular (linfócitos, neutrófilos e monócitos).

Fase II

Estresse pelo frio

Após a avaliação hematológica inicial (128º dia) os peixes permaneceram na mesma estrutura, com o sistema de aquecimento desligado, objetivando baixar gradativamente a temperatura para posterior mudança dos animais para a sala de desafio. A partir do momento em que a temperatura da água dos aquários de ambas as estruturas experimentais estavam iguais, nove peixes de cada tratamento foram transferidos para sala experimental de desafio pelo frio com 27 aquários de 40L cada com filtros individualizados e aeração. Foram distribuídos aleatoriamente 81 peixes, na densidade de três/aquário, constituindo cada peixe uma unidade experimental, sendo mantido o mesmo delineamento experimental utilizado anteriormente, com nove repetições por tratamento.

Após a distribuição dos peixes, a temperatura da água dos aquários foi reduzida gradativamente do conforto térmico para a espécie até 13,0°C durante sete dias. Os animais foram alimentados *ad libitum*, porém não foi mensurado o alimento consumido. Ao final deste período foram avaliados os mesmos parâmetros hematológicos iniciais: contagem do número de eritrócitos e leucócitos totais, taxa de hemoglobina, porcentagem de hematócrito e

proteína plasmática total. Foram calculados os índices hematimétricos e determinada a contagem diferencial dos leucócitos.

Análise estatística

Os dados foram submetidos à técnica de análises multivariada pelo modelo de medidas repetidas considerando nove grupos independentes, complementada com os intervalos de confiança simultâneo de Hotelling. Para a operacionalização utilizou-se o programa computacional PERFIL (Rosa, 1994).

RESULTADOS

Os parâmetros de qualidade de água, monitorados na fase I, estiveram dentro do considerado adequado para manutenção da condição de saúde dos peixes segundo Boyd (1990).

Na Tabela 2 estão apresentados os valores médios do número de eritrócitos, porcentagem de hematócrito, taxa de hemoglobina, número de leucócitos totais e proteína plasmática total, fases I e II, antes e após o desafio pelo frio, respectivamente. O número de eritrócitos foi significativamente influenciado pelos níveis de suplementação de levedura e zinco. Na fase I níveis elevados de zinco (1200 e 1400 mg/kg dieta) na dieta determinaram os menores valores de eritrócitos nos peixes, independente do nível de suplementação de levedura autolisada, sendo o mesmo resultado observado nos peixes que receberam dieta isenta de suplementação de zinco e que continha 2,0% de levedura autolisada na dieta. Após o estresse pelo frio os peixes que demonstraram maior prejuízo na eritropoiese foram os que receberam dietas suplementadas com 0,795Lev:79,50Zn e 14,0Lev:1400Zn (Lev:Zn; levedura autolisada em percentual e zinco em mg/kg de dieta, respectivamente), valores estes condizentes com a condição anterior ao estresse. A menor porcentagem de hematócrito foi igualmente determinada nos peixes destes mesmos tratamentos, o que também foi observado para a taxa de hemoglobina. Já, a menor concentração de proteína plasmática total foi observada nos peixes que receberam dieta suplementada com 14,0Lev:1400Zn de levedura autolisada e zinco, respectivamente.

Comparando-se a condição anterior e posterior ao estresse observou-se que a ausência dos nutrientes testes determinou queda significativa na porcentagem de hematócrito, número de leucócitos totais e proteína plasmática total. A não suplementação de levedura autolisada determinou queda na síntese de células vermelhas, número de leucócitos totais e proteína plasmática total. Já, a ausência de suplementação de zinco determinou prejuízo significativo na síntese de células brancas totais e proteína plasmática total.

Alteração significativa no volume do eritrócito (VCM) (Tabela 3) foi observado somente nos peixes alimentados com a dieta suplementada com 14,0Lev:1400Zn de levedura autolisada e zinco, respectivamente. Este menor valor reflete a taxa de hemoglobina e a porcentagem de hematócrito também encontrados nestes animais.

Na fase anterior ao estresse pelo frio não foi observada influência dos nutrientes testes na síntese dos diferentes tipos de leucócitos: linfócito, neutrófilo e monócito (Tabela 4). Porém, após o estresse todos os três tipos avaliados foram significativamente alterados. A menor porcentagem de linfócito foi observada nos peixes arraçados com a dieta suplementada com 6Lev:600Zn. Observou-se, no entanto, para esses animais, os maiores valores de neutrófilo e monócitos. A suplementação dietária 4,0Lev:400Zn determinou a maior porcentagem de linfócitos. Já, as menores porcentagens de neutrófilo e monócito foram observadas para 0,795Lev:79,50Zn e 12,0Lev:1200Zn, respectivamente.

DISCUSSÃO

Os valores hematológicos determinados na fase I estão dentro da faixa considerada para peixes hípidos corroborando com os resultados obtidos por Barros et al. (2002); Hisano et al. (2003); Barros et al. (2004); Falcon (2004); Ferrari et al. (2004); Sá et al. (2004); Hisano (2005) e Kleemann (2006), em condições experimentais semelhantes e, ainda, por Feldman et al. (2000).

A combinação de levedura autolisada e zinco nas dietas não determinou melhora no perfil hematológico dos peixes. Resultados semelhantes foram anteriormente descritos por Hisano (2005) ao suplementar até 3,0% de levedura autolisada na dieta para a tilápia do Nilo, porém o autor ressaltou tendência de aumento nos valores de eritrócitos. Alterações positivas no perfil hematológico de peixes foram anteriormente descritas por Li e Gatlin III (2003) para o híbrido *Striped bass* com a inclusão de levedura *Saccharomyces cerevisiae* na dieta (1,0; 2,0

e 4,0%), com destaque para tendência de melhora na saúde dos peixes com a suplementação de 1,0%, observados por meio de parâmetros imunológicos. A ação benéfica na saúde dos peixes com a suplementação dietária de levedura e zinco foi também descrita por Hisano et al. (2003).

Os valores sanguíneos deste estudo demonstraram que a dieta ausente de suplementação de levedura autolisada e zinco (Tabela 1) apresentou níveis nutricionais disponíveis para suprir as exigências nutricionais da tilápia do Nilo, determinando *status* nutricional adequado. Isto pode explicar os valores próximos obtidos com a suplementação de levedura autolisada, zinco e levedura autolisada e zinco.

Melhora significativa na eritropoiese foi observada por Sá et al. (2004) ao suplementarem níveis de 0,0 a 400,0 mg de Zn/kg de dieta para tilápia do Nilo. Resultados que não ficaram claramente evidenciados neste estudo. O zinco presente nas enzimas anidrase carbônica e superóxido dismutase (Hambidge, 1986) tem função de proteção e manutenção da integridade da membrana dos eritrócitos (O'Dell et al., 1987), sendo que a deficiência deste resultou em baixa contagem de células (Kraus et al., 1997).

Os resultados demonstraram que as dietas fornecidas aos peixes não apresentaram deficiência na disponibilidade de zinco. As informações escassas relacionadas à ação do zinco na eritropoiese limitam a discussão dos resultados obtidos, embora se observe que o zinco, mesmo em concentrações elevadas, não parece ter influenciado de forma negativa os valores de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, leucócitos e proteína plasmática na fase anterior ao desafio pelo frio. A suplementação dos níveis acima da exigência nutricional poderia ter determinado inter-relação metabólica deste mineral com o ferro (Devlin, 1997; Sá et al., 2005) e comprometido o metabolismo deste com prejuízo na síntese de hemoglobina pela possível inibição da transferência do ferro da ferroquelatase a protoporfirina IX, com conseqüente comprometimento da formação do grupo heme (Devlin, 1997).

Considerando-se a ação benéfica de oligossacarídeos não digestíveis no estímulo a absorção de diversos minerais (Scholz-Ahrens et al., 2001) e na capacidade de melhora da resposta inata (Ortuño et al., 2002; Li e Gatlin III, 2004; Selvaraj et al., 2005) exercida pelo glucano que compõe entorno de 7,7% da célula de levedura (Cabib et al., 1982 e Runsey et al., 1992), seria esperado que em níveis baixos de inclusão (pró-nutrientes) esta viesse a ter efeito benéfico na saúde dos peixes. Esta hipótese pode ser observada pela tendência de

melhora nos parâmetros sanguíneos com a inclusão de levedura autolisada, principalmente quando os animais sofreram estresse pelo frio.

A avaliação do perfil hematológico é considerada ferramenta importante na análise do estado de saúde dos peixes (Noga, 2000; Barros et al., 2006) que estimulado, seja pelo estresse causado por infecções e/ou variações ambientais, podem responder positiva ou negativamente às dietas fornecidas. Neste estudo observou-se que embora na fase I a ausência destes nutrientes (0,0Lev:0,0Zn) na dieta tenha mantido os parâmetros hematológicos dentro do considerado normal em condições adequadas de temperatura, abaixo do conforto térmico a exigência de nutrientes pode ter sido maior, condição refletida na queda da porcentagem de células vermelhas ($P<0,05$). Embora não de forma significativa observou-se redução de 15,92% no número de eritrócitos; 24,57% na taxa de hemoglobina e 11,50% no VCM. A avaliação do leucograma e da concentração de proteína plasmática total corroborou com a menor condição de saúde dos peixes deste tratamento (0,0Lev:0,0Zn). O aumento da porcentagem de neutrófilos traduz o esforço do organismo em vencer possíveis condições patogênicas instaladas em função da queda de resistência do organismo. No entanto, Vruwink et al. (1993) descreveram que a deficiência de zinco prejudica a função fagocítica do neutrófilo. Os resultados relatados após o estresse pelo frio foram anteriormente descritos por Falcon et al. (no prelo) e Barros et al. (no prelo).

Neste estudo, os peixes que receberam dieta ausente de suplementação de levedura autolisada e zinco não desenvolveram anemia, embora a queda na taxa de hemoglobina e na porcentagem de hematócrito indique tendência deste quadro hematológico. No entanto, os peixes que receberam a dieta suplementada com 0,795Lev:79,50Zn a 14,0Lev:1400Zn, respectivamente, desenvolveram quadro de anemia microcítica hipocrômica, característica da deficiência de ferro. Observou-se níveis abaixo do normal para peixes hígidos no número de eritrócitos, porcentagem de hematócrito e taxa de hemoglobina. Resultados semelhantes foram observados por Sá et al. (2005) que ao fornecer dietas práticas e purificadas para alevinos de tilápia do Nilo observaram influência do zinco no metabolismo do ferro. Esta ação pode demonstrar a possível inter-relação dos minerais disponíveis principalmente zinco-ferro ao nível celular e dos níveis de nitrogênio não protéico advindos da suplementação de levedura autolisada. Nos demais tratamentos os peixes podem ter sustentado o perfil hematológico em função da reserva corpórea de ferro, indicando possivelmente que o nível de zinco suplementado não estaria, no tempo avaliado, influenciando significativamente o

metabolismo do ferro. A possível ação da levedura na eritropoiese foi descrita por Sanchez-Muniz et al. (1982) que ao substituírem a proteína da dieta para truta arco-íris pela levedura *Hansenula anomala* observaram possível ação degenerativa dos eritrócitos.

O prejuízo na manutenção dos parâmetros hematológicos dos peixes sob condições de baixa temperatura (estresse crônico) foi anteriormente descrito por Falcon (2004) ao avaliar o estado de higidez da tilápia do Nilo alimentada com dietas contendo suplementação de vitamina C e lipídeos. Os valores determinados por este autor não atingiram níveis baixos quanto os do presente experimento. Vale ressaltar que o estresse deste estudo foi agudo com menor temperatura quando comparado ao estudo citado. Noga (2000) relatou que as respostas hematológicas dos peixes, aclimatados e submetidos à condição crônica de redução da temperatura são menores.

Os peixes expostos á baixa temperatura apresentam redução do metabolismo, o que pode afetar a condição fisiológica e, pode determinar redução do perfil hematológico. Observou-se alterações significativas principalmente nas células do sistema de defesa, com leucopenia independente da suplementação ou não de levedura autolisada e zinco e, ainda, linfopenia, neutrofilia e monopenia. Quadro de leucopenia sob condições de estresse por temperatura foi anteriormente descrito por Dunn et al. (1989) para *Carassius auratus* e por Falcon et al. (no prelo) para tilápia do Nilo, os quais observaram ainda, igualmente as respostas deste estudo, aumento significativo do número de neutrófilos. Desta forma, é certo o prejuízo exercido pelo estresse pelo frio às condições de higidez dos peixes, mesmo em condições nutricionais adequadas.

CONCLUSÕES

A combinação de levedura autolisada e zinco nas dietas, não reflete num padrão de melhora do perfil hematológico; níveis elevados de levedura autolisada e zinco na dieta determinam condições sub-ótimas de saúde; o estresse pelo frio determina leucopenia, linfopenia, neutrofilia e monopenia.

Tabela 1. Composição percentual das dietas experimentais suplementadas com levedura autolisada (*Lev*) e zinco (*Zn*) para a tilápia do Nilo¹

Ingredientes	<i>Lev:Zn</i> ²								
	0,0:0,0	0,0:79,5	2,0:0,0	0,795:79,5	2,0:200	4,0:400	6,0:600	12,0:1200	14,0:1400
Farelo de soja	58,50	58,50	58,00	58,00	57,00	56,00	54,50	48,00	45,00
Glúten de milho	5,78	5,78	5,60	5,88	6,15	6,37	6,72	9,32	10,80
Fubá de milho	7,00	7,00	6,60	7,00	7,00	6,56	6,13	6,30	6,30
Farelo de trigo	7,50	7,50	5,90	7,30	7,30	5,75	5,80	4,90	4,50
Quirera de arroz	13,33	13,29	13,75	13,06	12,46	12,91	12,21	10,00	9,59
Levedura autolisada	0,00	0,00	2,00	0,80	2,00	4,00	6,00	12,00	14,00
Cloreto de sódio	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Fosfato bicálcico	3,70	3,70	3,70	3,70	3,65	3,60	3,50	3,40	3,30
Calcário calcítico	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,15	0,18
Sulfato de zinco ³	0,00	0,04	0,00	0,04	0,10	0,19	0,29	0,57	0,67
Celulose	1,85	1,85	2,05	1,89	2,00	2,23	2,40	2,95	3,23
Óleo de soja	0,60	0,60	0,67	0,60	0,60	0,65	0,64	0,59	0,56
L-lisina	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,37	0,42
DL-Metionina	0,57	0,57	0,57	0,57	0,57	0,57	0,56	0,53	0,52
Triptofano	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,06
Treonina	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Sup. (Min.+Vit.) ⁴	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Ant. (BHT) ⁵	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

¹ Formulação das rações realizadas segundo: NRC (1993); Miranda et al. (2000ab); Pezzato et al. (2002); Gonçalves et al. (2004; 2005); Furuya et al. (2001); Hisano (2005); Guimarães (2006).

² Níveis de levedura autolisada em porcentual e zinco em mg/kg de dieta.

³ Fonte comercial de sulfato de zinco heptaidratado [$\text{ZnSO}_4(7\text{H}_2\text{O})$] qualidade comercial 21,0% de zinco.

⁴ Suplemento vitamínico e mineral ausente de zinco (SupreMais) (níveis de garantia por kg do produto): vit. A = 1.200.000 UI; vit. D₃ = 200.000 UI; vit. E = 12.000 mg; vit. K₃ = 2.400 mg; vit. B₁ = 4.800 mg; vit. B₂ = 4.800 mg; vit. B₆ = 4.000 mg; vit. B₁₂ = 4.800 mg; ácido fólico = 1.200 mg; pantotenato de cálcio = 12.000 mg; vit. C = 48.000 mg; biotina = 48 mg; colina = 65.000 mg; niacina = 24.000 mg; ferro = 10.000 mg; cobre = 600 mg; manganês = 4.000 mg; iodo = 20 mg; cobalto = 2 mg e selênio = 20 mg.

⁵ Antioxidante (BHT) = Butil hidróxi tolueno.

Tabela 2: Média e desvio padrão do número de eritrócitos (Erit), porcentagem de hematócrito (Htc), taxa de hemoglobina (Hb), número de leucócitos totais (Leuc) e proteína plasmática total (PPT) de alevinos de tilápia do Nilo alimentados com dietas suplementadas com níveis de levedura autolisada (*Lev*) e zinco (*Zn*) e submetidos a estresse pelo frio

<i>Lev:Zn</i> ¹	Erit (10 ⁶ /μL)		Htc (%)		Hb (%)		Leuc (μL)		PPT (mg/dL)	
	Fase I	Fase II	Fase I	Fase II	Fase I	Fase II	Fase I	Fase II	Fase I	Fase II
0:0	2,26±0,22abA	1,90±0,19bA	29,00±4,00B	21,62±4,08bcA	7,00±1,04A	5,28±0,83bcA	91100±3150B	36600±18219A	3,98±1,28B	2,60±0,43bcA
0,0:79,5	2,36±0,21bB	1,70±0,16bA	28,30±3,19A	23,32±4,88cA	7,34±0,92A	5,50±1,43bcA	76300±29186B	30100±10871A	4,02±0,66B	2,74±0,42cA
2,0:0,0	2,16±0,24abA	1,78±0,29bA	26,20±2,84A	23,38±6,62cA	6,24±0,70A	5,76±1,09bcA	85400±16422B	29800±7719A	3,68±0,56B	2,50±0,31bcA
0,795:79,5	2,00±0,26aB	1,40±0,19aA	24,60±2,22B	17,52±1,74abA	6,56±1,06A	4,38±0,59abA	76300±17109B	30100±5952A	3,06±0,30A	2,36±0,29bA
2,0:200	2,36±0,26bB	1,68±0,34abA	28,30±2,05B	20,06±3,50bcA	7,02±0,67A	5,44±0,86bcA	83300±19276B	31400±8181A	3,22±0,30A	2,32±0,24bA
4,0:400	2,22±0,22abA	1,84±0,38bA	25,50±3,48A	22,32±2,12bcA	6,68±1,03A	5,88±0,96bcA	77800±31473B	35500±10416A	3,96±0,80B	2,88±0,19cA
6,0:600	2,36±0,23bA	1,96±0,42bA	29,20±3,05A	25,12±4,79cA	6,98±0,88A	6,14±1,24cA	72400±12959B	26800±8592A	4,08±0,95B	2,44±0,34bA
12,0:1200	2,00±0,27aA	1,80±0,26bA	25,40±3,70A	24,32±4,61cA	6,06±0,98A	5,86±1,42bcA	82200±21647B	22800±4685A	2,88±0,67A	2,54±0,85bA
14,0:1400	1,94±0,23aB	1,36±0,18aA	28,00±1,77B	14,48±1,87aA	7,76±0,80B	3,22±1,27aA	91200±18546B	21900±2903A	2,96±0,50B	1,92±0,31aA
Cont: Zn ²	P>0,05	-	-	P>0,05	-	P>0,05	-	-	-	P<0,05
Cont: Lev ³	P>0,05	-	-	P>0,05	-	P>0,5	-	-	-	P>0,05

¹ Níveis de levedura autolisada em porcentual e zinco em mg/kg de dieta.

² Contrastes ortogonais entre os níveis (0,0:79,5X0,795:79,5+2,0:200+4,0:400+6,0:600+12,0:1200+14,0:1400, Lev:Zn) de suplementação de zinco nas dietas.

³ Contrastes ortogonais entre os níveis (2,0:0,0X0,795:79,5+2,0:200+4,0:400+6,0:600+12,0:1200+14,0:1400, Lev:Zn) de suplementação de levedura autolisada nas dietas.

* Médias nas colunas seguidas por letras minúsculas iguais não representam diferenças entre tratamentos pelo teste de Tukey (P<0,05) no mesmo momento e maiúsculas não representam diferenças estatísticas (P<0,05) pela técnica de análises multivariada entre fases.

Tabela 3: Média e desvio padrão do volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) de alevinos de tilápia do Nilo alimentados com dietas suplementadas com níveis de levedura autolisada (*Lev*) e zinco (*Zn*) e submetidos a estresse pelo frio

<i>Lev:Zn</i> ¹	VCM (fL)		CHCM (%)	
	Fase I	Fase II	Fase I	Fase II
0:0	128,44±8,48A	113,62±17,67A	24,10±1,07	24,58±2,99
0,0:79,5	121,08±16,25A	137,00±24,82A	26,00±2,39	23,48±4,34
2,0:0,0	123,54±16,07A	132,10±27,04A	24,02±3,60	25,30±3,93
0,795:79,5	124,54±12,29A	124,78±10,83A	26,72±4,38	25,08±2,04
2,0:200	120,28±7,08A	122,08±22,57A	24,76±1,66	27,14±0,68
4,0:400	115,66±9,82A	124,98±23,46A	26,32±1,55	26,34±3,25
6,0:600	124,80±19,83A	128,98±19,93A	23,86±2,15	24,62±3,00
12,0:1200	127,26±11,13A	135,14±14,44A	23,94±2,13	24,08±3,96
14,0:1400	144,32±9,92B	108,04±3,56A	27,66±1,63	22,18±7,49

¹ Níveis de levedura autolisada em porcentual e zinco em mg/kg de dieta.

* Médias nas linhas seguidas por letras maiúsculas iguais não representam diferenças estatísticas ($P < 0,05$) entre fases pela técnica de análises multivariada.

Tabela 4: Média e desvio padrão do número de linfócitos (Linf), neutrófilos (Neut) e monócitos (Mon) de alevinos de tilápia do Nilo alimentados com dietas suplementadas com níveis de levedura autolisada (*Lev*) e zinco (*Zn*) e submetidas a estresse pelo frio

<i>Lev:Zn</i> ¹	Linf		Neut		Mon	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
0,0:0,0	77,60±15,36A	62,75±8,02ceA	15,00±12,34A	33,38±9,59abcB	7,40±4,74A	3,88±1,78abcA
0,0:79,5	89,00±7,20A	71,00±4,78defA	6,50±4,43A	26,00±6,09abB	4,50±3,10A	2,63±2,53abA
2,0:0,0	94,30±7,40B	49,30±14,92abA	10,00±6,04A	44,90±14,39cdB	5,40±2,16A	5,20±1,99bcdA
0,795:79,5	83,60±11,48A	77,40±8,47fA	10,80±9,54A	19,60±8,97aA	5,40±2,30A	3,00±1,87abA
2,0:200	82,00±8,49B	55,13±7,21bcA	12,20±6,18A	40,25±5,49cB	5,80±3,05A	4,63±1,98bcdA
4,0:400	76,80±12,42A	76,10±12,97fA	16,20±9,14A	25,20±13,17abA	6,90±4,02A	2,70±1,79abA
6,0:600	84,70±9,87B	36,70±23,06aA	10,90±7,70A	55,20±20,32dB	4,40±4,11A	7,80±5,77dA
12,0:1200	79,10±11,33A	69,63±10,17defA	14,90±8,13A	29,13±9,99abA	6,00±3,76B	1,13±0,41aA
14,0:1400	78,80±9,35B	59,60±6,94bcdA	15,00±8,80A	34,40±5,52bcB	5,80±1,20A	6,00±3,16cdA
Cont ² : Zn	-	P>0,05	-	P>0,05	-	P>0,05
Cont ³ : Lev	-	P>0,05	-	P>0,05	-	P>0,05

¹ Níveis de levedura autolisada em porcentual e zinco em mg/kg de dieta.

² Contrastes ortogonais entre os níveis (0,0:79,5X0,795:79,5+2,0:200+4,0:400+6,0:600+12,0:1200+14,0:1400, Lev:Zn) de suplementação de zinco nas dietas.

³ Contrastes ortogonais entre os níveis (2,0:0,0X0,795:79,5+2,0:200+4,0:400+6,0:600+12,0:1200+14,0:1400, Lev:Zn) de suplementação de levedura autolisada nas dietas.

* Médias nas colunas seguidas por letras minúsculas iguais não representam diferenças entre tratamentos pelo teste de Tukey (P<0,05) no mesmo momento e maiúsculas não representam diferenças estatísticas (P<0,05) pela técnica de análises multivariada entre fases.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARNES, M.E.; DURBEN, D.J. REEVES, S.G; SANDERS, R. Dietary yeast culture supplementation improves initial rearing of McConaughy strain rainbow trout. **Aquaculture Nutrition**, v.12, p.388-394, 2006.
- BARROS, M.M.; PEZZATO, L.E.; KLEEMANN, G.K.; HISANO, H.; ROSA, G.J.M. Níveis de vitamina C e ferro para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.3447-3455, 2002.
- BARROS, M.M.; PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C.; SÁ, M.V.C.; SAMPAIO, F.G. Complexo zinco aminoácido em dietas práticas para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum**, v.26, n.4, p.437-441, 2004.
- BARROS, M.M.; RANZANI-PAIVA, M.J.T.; PEZZATO, L.E.; FALCON, D.R.; GUIMARÃES, I.G. Respostas hematológicas e de desempenho produtivo de tilápias do Nilo alimentadas com dietas contendo níveis de ácido fólico. **Prelo**.
- BARROS, M.M.; PEZZATO, L.E.; FALCON, D.R.; GUIMARÃES, I.G. **Nutrição e saúde de peixes**. II Colégio Latino Americano de Nutrição Animal – Clana. CD-Rom, 2006.
- BOYD, C. **Water quality in ponds for aquaculture**. Alabama: Birmingham Publiscing, 1990, 482p.
- BUTOLO, J.E. Leveduras vivas e termolizadas na alimentação animal. In: Simpósio sobre ingredientes alternativos na alimentação animal, 2001, Campinas. **Anais...** Campinas, 2001, p.191-198.
- CABIB, E.; ROBERTS, R.; BOWERS, B.; Synthesis of the yeast cell wall and its regulation. **Annual Review Biochemistry**, v.51, p.763-793, 1982.
- COLLIER, H.B. The standardization of blood haemoglobin determinations. **Canadian Medical Assistance Journal**, v.50, p.550-552, 1944
- DEVLIN, T.M. **Textbook of biochemistry with clinical correlations**. John Wiley & Sons, Inc. Copyright. 1997, 1007p.
- DUNN, S.E.; MURAD, A.; HOUSTON, A.H. Leucocyts and leucopoietic capacyt in thermally acclimated goldfish, *Carassius auratus* L. **Journal Fish Biology**, v.34, p.901-911, 1989.
- FALCON, D.R. **Lipídeo e vitamina C em dietas práticas para a tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus***. Botucatu, SP: UNESP, 2004, p.149 (Mestrado em Zootecnia: Nutrição e Produção Animal) – Universidade Estadual Paulista, 2004.
- FALCON, D.R.; BARROS, M.M.; PEZZATO, L.E.; SOLARTE, W.V.N.; GUIMARÃES, I.G. Leucograma da tilápia do Nilo arraçoada com dietas suplementadas com níveis de vitamina C e lipídeos submetidas a estresse por baixa temperatura. **No Prelo**.

FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 2000, (Ed. Fifth).

FERRARI, J.E.C.; BARROS, M.M.; PEZZATO, L.E.; GONÇALVES, G.S.; HISANO, H.; KLEEMANN, G.K. Níveis de cobre em dietas para a tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*. **Acta Scientiarum**, v.26, n.4, p.429-436, 2004.

FREAK, H.C.; GOVONI, K.E.; GUDA, K. HUANG, C.; ZINN, S.A. Actions and interactions of thyroid hormone and zinc status in growing rats. **Journal of Nutrition**, v.131, n.4, p.1135-1141, 2001.

FURUYA, W.M.; PEZZATO, L.E.; PEZZATO, A.C.; BARROS, M.M. Coeficientes de digestibilidade e valores de aminoácidos digestíveis de alguns ingredientes para Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.1143-1149, 2001.

GOLDENFARB, P.B.; BOWYER, F.P.; HALL, E.; BROSIUS, E. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. **American Journal Clinyc Patology**, Baltimore, v.56, n.1, p.35-39. 1971.

GONÇALVES, G.S.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; HISANO, H.; FREIRE, E.S.; FERRARI, J.E.C. Digestibilidade aparente e suplementação de fitase em alimentos vegetais para a tilápia do Nilo. **Acta Scientiarum**, v.26, n.3, p.313-321, 2004.

GONÇALVES, G.S.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; KLEEMAN, G.K.; ROCHA, D.F. Efeitos da suplementação de fitase sobre a disponibilidade aparente de Mg, Ca, Zn, Cu, Mn e Fe em alimentos vegetais para a tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.2155-2163, 2005.

GUIMARÃES, I.G. **Digestibilidade aparente, pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), de alimentos extrusados**. Botucatu, SP: UNESP, 2006, p.67 (Mestrado em Zootecnia: Nutrição e Produção Animal) – Universidade Estadual Paulista, 2006.

HAMBIDGE, K.M.; CASEY, C.E.; KREBS, N.F. Zinc. in W. Mertz editor. **Trace elements in human and animal nutrition**, Academic Press, San Diego, EUA, p.1-137, 1986.

HIDALGO, M.C.; EXPÓSITO, A.; PALMA, J.M.; HIGUERA, M. Oxidative stress generated by dietary Zn-deficiency: studies in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v.34, p.183-193, 2002.

HISANO, H. **Levedura desidratada íntegra, autolisada e componentes da parede celular como pró-nutrientes para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**: Botucatu, SP: UNESP, 2005, p.90 (Doutorado em Zootecnia: Nutrição e Produção Animal) – Universidade Estadual Paulista, 2005.

HISANO, H.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; FREIRE, E.S.; GONÇALVES, G.S.; FERRARI, J.E.C. Zinco e levedura desidratada de álcool como pró-nutrientes para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum**, v.26, n.2, p.171-179, 2004.

HISANO, H.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; KLEEMANN, G.K.; FREIRE, E.S.; GONÇALVES, G.S.; ZUANON, J.A.; SÁ, M.V.C. Yeast and zinc n hematological

parameters of Nilo tilapia fingerlings *Oreochromis niloticus*. In: Abstract Book of World Aquaculture Society, 2003. **Proceedings...** Salvador, Brasil: WAS, 2003, v.2, p.575.

JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**. 4.ed. Lea & Febiger, Philadelphia. 1986.

KLEEMANN, G.K. **Farelo de algodão como substituto ao farelo de soja, em rações para a tilápia do Nilo**. Botucatu, SP: UNESP, 2006, p.60 (Doutorado em Zootecnia: Nutrição e Produção Animal) – Universidade Estadual Paulista, 2006.

KRAUS, A.; ROTH, H.P.; KIRCHGESSNER, M. Influence of vitamin C, vitamin E and β -carotene on the osmotic fragility and the primary antioxidant system of erythrocytes in zinc-deficient rats. **Archives for Tierernahrung**, v.50, p.257-269, 1997.

LI, P.; GATLIN III, D.M. Evacuation of brewers yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a feed supplement for hybrid striped bass (*Morone chrysops* X *M. saxatilis*). **Aquaculture**, v.219, p.681-692, 2003.

LI, P., GATLIN III, D.M. Dietary brewers yeast and the prebiotic GrobioticTMAE influence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops*×*M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. **Aquaculture**, v.231, p.445-456. 2004.

MIRANDA, E.C.; PEZZATO, A.C.; PEZZATO, L.E.; GRANER, C.F.; ROSA, G.J.; PINTO, L.G.Q. Relação cálcio/fósforo disponível em rações para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.6, p.2162-2171, 2000a.

MIRANDA, E.C.; PEZZATO, A.C.; PEZZATO, L.E.; FURUYA, W.M. Disponibilidade aparente de fósforo em ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum**, v.22, n.3, p.669-675, 2000b.

NOGA, E. Fish leukocyte responses. In: Feldman, B.F.; Zinkl, J.G.; Jain, N.C. **Veterinary hematology**, (Ed. Fifth). 2000, P.436-439.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requeriments of fish**. 1993. 114p. Washington, D.C.: National Academy of Science.

O'DELL, B.L.; BROWNING, J.D.; REEVES, P.G. Zinc deficiency increases the osmotic fragility of rat erythrocytes. **Journal of Nutrition**, v.117, p.1883-1889, 1987.

ORTUÑO, J.; CUESTA, A.; RODRÍGUEZ, A.; ESTEBAN, M.A.; MESEGUER, J. Oral administration of yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, enhances the cellular innate immune response of gilthead seabream (*Spaurus aurata* L.). **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.85, p.41-50, 2002.

PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C.; BARROS, M.M. PINTO, L.G.Q.; FURUYA, W.M.; PEZZATO, A.C. Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1595-1604, 2002.

PEZZATO, L.E.; MENEZES, A.; MARROS, M.M.; GUIMARÃES, I.G.; SCHICH, D. Levedura em dietas para alevinos de tilápia do Nilo. **Veterinária e Zootecnia**, v.13, n.1, p.84-94, 2006.

RODRIGUEZ, A.; CUESTA, A.; ORTUÑO, J.; ESTEBAN, M.A.; MESEGUER, J. Immunostimulant properties of a cell wall-modified whole *Saccharomices cerevisiae* strain administered by diet to seabream (*Sparus aurata* L.). **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.96, p.183-192, 2003.

ROSA, G.J.M. **Desenvolvimento de aplicativo para análises de perfil na experimentação zootécnica**. Botucatu, SP: UNESP, 1994, p.72 (Mestrado em Zootecnia: Nutrição e Produção Animal) – Universidade Estadual Paulista, 1994.

ROSSI, L.; MIGLIACCIO, S.; CORSI, A. et al. Reduced growth and skeletal changes in zinc-deficient growing rats are due to impaired growth plate activity and inanition. **Journal Nutrition**, v.131, p.1142-1146, 2001.

ROSTAD, G.; AASJORD, P.M.; ROBERTSEN, B. Adjuvant effect of a yeast glucan in vaccines against furunculosis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Fish Selfish Immunology**, v.3, p.179-190, 1993.

RUMSEY, G.L.; KINSELLA, J.E.; SHETTY, K.J.; HUGHES, S.G. Effect of high dietary concentrations of brewer's dried yeast on growth performance and liver uricase in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Animal Feed Science and Technology**, v.33, p.177-183, 1991.

RUMSEY, G.L.; WINFREE, R.A.; HUGHES, S.G. Nutritional values of dietary nucleic acids and purine bases to rainbow trout. **Aquaculture**, v.108, p.97-110, 1992.

SÁ, M.V.C.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; PADILHA, P.M. Optimum zinc supplementation level in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* juveniles diets. **Aquaculture**, v.238, p.385-401, 2004.

SÁ, M.V.C.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; PADILHA, P.M. Relative bioavailability of zinc in supplemental inorganic and organic sources for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fingerlings. **Aquaculture Nutrition**, v.11, p.273-281, 2005.

SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J.; HIGUERE, M.; VARELA, G. Alterations of erythrocytes of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) by the use of *Hansenula anomala* yeast as sole protein source. **Compendium Biochemistry Physiology**, v.72A, p.693-696, 1982.

SANDSTRÖM, B. Micronutrient interactions: effects on absorption and bioavailability. **British Journal of Nutrition**, v.85, p. 181-185, sup.2, 2001.

SCHOLZ-AHRENS, K.E.; SCHAAFSMA, C.; HEUVEL, E.G.; SCHREZENMEIR, J. Effects of probiotic on mineral metabolism. **American Journal Clinical Nutrition**, v.73, p.459S-464S, 2001.

SELVARAJ, V.; SAMPATH, K.; SEKAR, V. Administration of yeast glucan enhances survival and some non-specific and specific immune parameters in carp (*Cyprinus carpio*) infected with *Aeromonas hydrophila*. **Fish & Selfish Immunology**, v.19, p.293-306, 2005.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R. **Hematologia de peixes teleósteos**, Willimpress Complexo Gráfico. Ribeirão Preto, SP. 2004, 144p.

TOVAR, D.; ZAMBONINO, J.; CAHU, C.; GATESOUBE, F.J.; VÁZQUEZ-JUÁREZ, R.; LÉSEL, R. Effect of live yeast incorporation in compound diet on digestive enzyme activity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. **Aquaculture**, v.204, p.113-123, 2002.

VRUWINK, K.J.; KEEN, C.L.; GERSHWIN, M.E.; MARESCHI, J.P.; HURLEY, L.S. The effect of experimental zinc deficiency on development of the immune system. *In: Nutrient Modulation of the Immune Response*, (Ed. Cunningham-Rundles, S.), Marcel Dekker Inc, New Work. P.263-279, 1993.

WATANABE, T.; KIRON, V.; SATOH, S. Trace minerals in fish nutrition. **Aquaculture**, v.151, p.185-207, 1997.

WATANABE, A.L. **Suplementação de levedura desidratada (*Saccharomyces cerevisiae*) e derivados na alimentação de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*)**. Pirassununga, SP: USP, 2006, 82p. (Mestrado em Zootecnia). Universidade Estadual de São Paulo, Pirassununga, 2006.

WINTROBE, M.M. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. **Folia Haematologica**, v.51, p.32-49. 1934.

Implicações

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* apresenta excelente qualidade nutricional e, a suplementação desta na dieta para peixes poderá proporcionar melhora no desempenho produtivo, saúde e possivelmente aumentar a resistência a infecções ou ao estresse resultante do sistema de cultivo. Para peixes observa-se que sua utilização como alimento funcional ou pró-nutriente tem apresentado melhora no desenvolvimento dos animais. O nível de inclusão deste alimento nas dietas parece estar próximo a 2,0% e os resultados observados nos experimentos realizados com a tilápia do Nilo indicam melhora no desempenho produtivo, no metabolismo e na fisiologia dos peixes alimentados com a suplementação de levedura nas dietas.

A utilização da levedura como pró-nutriente merece destaque, e vários experimentos realizados com diferentes espécies de peixes, indicam que este nutriente quando em baixos níveis nas dietas, melhoram o *status* nutricional dos peixes. Isso pela possível ação benéfica da levedura na absorção de nutrientes e/ou pela sua composição proporcionar às dietas melhor balanço de aminoácidos e vitaminas e, ainda, por apresentarem polissacarídeos de parede celular e ácidos nucleicos, conhecidos por melhorar o desempenho produtivo, a saúde e beneficiar os mecanismos de defesa imune dos animais.

Os mecanismos pelos quais as células de levedura agem no sistema fisiológico e metabólico dos peixes ainda são desconhecidos, mas os benefícios observados mostram seu potencial de utilização nas dietas. Entretanto, novas pesquisas são necessárias para melhor esclarecimentos.

A combinação de levedura autolisada e zinco quando suplementado em baixos níveis nas dietas parece melhorar o sistema metabólico e o desempenho produtivo dos peixes. Resultados observados (Hisano et al., 2004) no Laboratório AquaNutri da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ – Unesp/Botucatu, mostraram que a relação destes nutrientes nas dietas melhorou as condições fisiológicas, metabólicas, o desempenho produtivo e a saúde dos peixes. A suplementação de levedura e zinco nas dietas apresenta possível interação destes nutrientes no metabolismo dos peixes.

A suplementação de micro-minerais em dietas para peixes é importante, principalmente quando sua disponibilidade nas dietas está aquém da exigência ou sua absorção é inibida por ligantes que o indisponibilizam. Como relatado na literatura micro-minerais como, zinco, ferro e cobre merecem atenção, haja visto, os inúmeros processos metabólicos que estes direta

ou indiretamente participam no organismo. O zinco é conhecido por participar como cofator de mais de 300 enzimas e no metabolismo de inúmeras proteínas, fundamentais para a manutenção do *status* nutricional, mineralização óssea, estruturação corporal, síntese de DNA e RNA, produção e diferenciação celular e beneficiar o sistema de defesa imune específico e não específico.

A suplementação de zinco em dietas para peixes tem apresentado melhora no desempenho produtivo, na saúde e no metabolismo destes. Resultados observados em experimentos realizados (Sá et al., 2004) no Laboratório AquaNutri da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ – Unesp/Botucatu, demonstraram a necessidade de suplementação de zinco em dietas a base de ingredientes vegetais para obtenção de melhor desempenho produtivo e saúde dos peixes. O zinco por agir em funções específicas e vitais ao metabolismo animal pode melhorar a fisiologia do trato gastrointestinal e aumentar a absorção de nutrientes. A inclusão de zinco nas dietas ausente da suplementação de levedura apresentou tendência de melhora no desempenho produtivo e no metabolismo dos peixes. Possivelmente, por ter aumentado sua disponibilidade nas dietas e melhorado a absorção dos nutrientes.

Em níveis elevados de suplementação de zinco e levedura (12,0Lev:1200Zn e 14,0:1400Zn) os resultados observados apresentaram prejuízo no metabolismo e no desempenho produtivo dos peixes. Isso mostra que a inclusão de zinco nas dietas é dependente da disponibilidade deste mineral e, possivelmente da formulação, visto que, os ingredientes utilizados na composição das dietas em muitas vezes apresentam diferentes concentrações e disponibilidade deste mineral. Portanto, é fundamental a observação do nível de inclusão de zinco, composição nutricional e a concentração e disponibilidade deste mineral na dieta dos peixes.

A composição nutricional das dietas pode melhorar ou não a saúde dos peixes, a qual é diretamente dependente do *status* nutricional dos animais, condições ambientais, variações climáticas, conforto térmico e estresse aplicado. A exposição dos peixes a condições adversas do meio exige *status* nutricional adequado e, respostas fisiológicas, metabólicas e imune, capazes de suportar tais alterações que podem ser prejudiciais ao organismo. O estresse pelo frio é uma forma de avaliação do *status* nutricional, das condições fisiológicas e metabólicas dos peixes e, fundamental para entender os mecanismos pelos quais os peixes se utilizam para a manutenção de funções vitais ao organismo.

O estresse pelo frio prejudicou a saúde e o metabolismo dos peixes, independente das dietas fornecidas. Ocorreu redução nos parâmetros hematológicos avaliados e, conseqüentemente, a redução de leucócitos nos peixes após o estresse pelo frio pode levar a redução nas respostas do sistema de defesa dos peixes, tornando-os mais sensíveis a infecções. Os resultados revelaram que permanecendo o estresse pelo frio nas condições em que foram mantidos os peixes (13°C) por período superior ao utilizado no presente experimento pode levá-los a morte.