

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

**PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E ENZIMÁTICOS PARA JUNDIÁ
(*Rhamdia quelen*) ALIMENTADOS EM ALTA E BAIXA
FREQUÊNCIA COM DIFERENTES NÍVEIS DE PROTEÍNA**

PAULA NOVELLI RAMALHO DE SOUSA

Trabalho de Dissertação
apresentado ao Programa de
Pós-graduação em Zootecnia
como parte das exigências para
obtenção do título de Mestre em
Zootecnia.

BOTUCATU - SP

Junho - 2012

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

**PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E ENZIMÁTICOS PARA JUNDIÁ
(*Rhamdia quelen*) ALIMENTADOS EM ALTA E BAIXA
FREQUÊNCIA COM DIFERENTES NÍVEIS DE PROTEÍNA**

PAULA NOVELLI RAMALHO DE SOUSA
Zootecnista

Orientador: Prof Dr Claudio Angelo Agostinho
Co-orientadora: Prof^a Dr^a Luciana Francisco Fleuri

Trabalho de Dissertação
apresentado ao Programa de
Pós-graduação em Zootecnia
como parte das exigências para
obtenção do título de Mestre em
Zootecnia.

BOTUCATU - SP
Junho - 2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Sousa, Paula Novelli Ramalho de, 1978-
S725p Parâmetros bioquímicos e enzimáticos para jundiá
(*Rhamdia quelen*) alimentados em alta e baixa frequência com
diferentes níveis de proteína / Paula Novelli Ramalho de
Sousa. - Botucatu : [s.n.], 2012
vi, 49 f. : il., color, grafs., tabs.

Dissertação(Mestrado)-Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu,
2012

Orientador: Claudio Angelo Agostinho
Co-orientador: Luciana Francisco Fleuri
Inclui bibliografia

1. Peixe - Alimentação e rações. 2. Proteínas - Metabo-
lismo. 3. Enzimas. I. Agostinho, Claudio Angelo. II. Fleuri,
Luciana Francisco. III. Universidade Estadual Paulista " "
Julio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia. IV. Título.

À minha família, aos meus pais e minha irmã, por todo apoio, por estradas sinuosas, palavras ditas e não ditas que me ajudaram a alcançar este objetivo.

A minha madrastra Neide que sempre me incentivou e nunca me deixou desistir.

Ao meu marido Rodrigo que resgatou em mim o gosto pela pesquisa, mostrando sempre o melhor caminho para chegar até aqui, mesmo tendo que suportar toda a distância que nos separou nos últimos meses.

Agradecimentos

À Deus, pela força e pela maravilhosa vida que me presenteou até agora.

À minha mãe Ana, que sempre me apoiou mesmo tão distante.

Ao meu pai Silvio, por sempre acreditar em mim. À minha madrastra Neide pelos incontáveis conselhos e pela ajuda no casamento que ainda aconteceu no meio disso tudo.

À minha irmã Silvia, meu cunhado Arturo e meus sobrinhos lindos, Giovanna e Fabrizio que sempre me trouxeram muitas alegrias todos esses anos e pelos conselhos.

Aos meus avós, Jane, Wanderley e Fifina, pela sabedoria de vida compartilhada.

À minha nova família que entrou em vida durante este trabalho, Marcia, Reginaldo, Aline, Zé Rodrigo e Benício.

Setor de Aquicultura

Ao meu orientador Claudio que sempre me incentivou, me acolheu de braços abertos e pelo constante empenho e amor ao que faz.

Aos funcionários do setor de piscicultura João e Obedias pela grande ajuda e pelos momentos de alegrias e risadas durante os experimentos e churrascos.

Aos estagiários, Anderson, Madame, Choko, Ling, que sempre colaboraram de alguma forma para o desenvolvimento das pesquisas.

Aos amigos, Daniel, Cecília e Raphaela que foram fundamentais para o desenvolvimento do experimento, sem eles parte deste seria praticamente impossível. Muito Obrigada!

Laboratório de Bioquímica

À minha co-orientadora Luciana que me guiou e auxiliou nas análises deste experimento, mas, sobretudo, por ter me apresentado esta área fascinante da ciência que seguirei para o resto de minha carreira.

Aos estagiários do laboratório, em especial a Mariana, pela assistência com as análises, em especial por ajudar a lavar milhares de tubos de ensaio.

Ao Rafael, funcionário do Departamento de Química/Bioquímica, por ajudar a me familiarizar com o laboratório, equipamentos e todos os reagentes com que trabalhei.

A todos os funcionários e professores dos Departamentos, de Produção e de Melhoramento e Nutrição Animal que contribuíram com minha formação desde o tempo da graduação.

Aos funcionários de programa de Pós-graduação, Seila e Carlos, por sempre estarem prontos a esclarecer qualquer dúvida, pelas conversas e pela ajuda na parte burocrática.

À Sueli Agostinho, por me ajudar e me aconselhar nos momentos importantes, mesmo às vésperas do meu casamento.

Ao professor Carlos Padovani pela indispensável ajuda na estatística final deste trabalho.

Ao CNPq pela bolsa de mestrado.

Finalmente, ao grande amor da minha vida, separados por anos, mas unidos novamente pelo destino na melhor hora possível; sem suas palavras, persistência, objetividade, todo este trabalho não seria possível. Foi você que me mostrou que a zootecnia poderia ser algo maravilhosamente interessante e que no final tudo dá certo.....meu companheiro, Te Amo!

SUMÁRIO

	Página
ÍNDICE DE TABELAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vi
CAPÍTULO I	01
CONSIDERAÇÕES INICIAIS	02
1. Panorama da Aquicultura Nacional	02
2. O Jundiá.....	03
3. Proteínas na alimentação de peixes.....	04
4. Frequência alimentar	07
5. Metabolismo	08
5.1. Alanina aminotransferase	12
5.2. Aspartato aminotransferase.....	13
6. Referências Bibliográficas.....	15
CAPÍTULO II	18
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E ENZIMÁTICOS PARA JUNDIÁ (<i>Rhamdia</i>	
<i>quelen</i>) ALIMENTADOS EM ALTA E BAIXA FREQUÊNCIA COM DIFERENTES	
NÍVEIS DE PROTEÍNA.....	19
Resumo	19
Abstract	20
1. Introdução.....	21
2. Material e Métodos	22
2.1. Instalações e condições experimentais	22
2.2. Delineamento experimental	22
2.3. Parâmetros metabólicos e enzimáticos	23
2.4. Índice lipossomático	25
2.5. Análise estatística	25
3. Resultados.....	26
3.1. Parâmetros de desempenho.....	26
3.2. Parâmetros bioquímicos do sangue	26
3.3. Atividade enzimática	26
3.4. Índice lipossomático	27

3.5.Parâmetros bioquímicos no fígado	27
3.6.Parâmetros bioquímicos no músculo	28
4.Discussão	28
5.Referências	32
6.Lista de tabelas.....	35
7.Legenda de figuras	43
CAPÍTULO III	48
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	49
1.Implicações.....	49
2.Dificuldades metodológicas encontradas	49

ÍNDICE DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1: Ingredientes e composição das dietas experimentais.	35
Tabela 2: Média e desvio padrão da glicose (mg dL^{-1}) segundo frequência e proteína na dieta em diferentes momentos.....	36
Tabela 3: Média e desvio padrão para proteína plasmática (mg mL^{-1}) segundo frequência alimentar e proteína da dieta em diferentes momentos.....	37
Tabela 4: Mediana e valores mínimo e máximo de atividade da alanina aminotransferase (UI mL^{-1}) segundo frequência e proteína nos diferentes momentos de avaliação.....	38
Tabela 5: Mediana e valores mínimo e máximo de atividade da enzima aspartato aminotransferase (UI mL^{-1}) segundo frequência e proteína nos diferentes momentos de avaliação.....	39
Tabela 6: Média e desvio padrão do ILS (%) segundo frequência alimentar e proteína da dieta nos momentos de avaliação	40
Tabela 7: Coeficientes de variação para proteína total (mg g^{-1}) e glicogênio ($\mu\text{mol glicose g}^{-1}$) no fígado nos diferentes momentos de avaliação	41
Tabela 8: Coeficientes de variação para proteína total (mg g^{-1}) e glicogênio ($\mu\text{mol glicose g}^{-1}$) no músculo nos diferentes momentos de avaliação.....	42

INDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1: Interconexões entre o ciclo da uréia e o ciclo do ácido cítrico, destino do grupo amino e do esqueleto carbônico dos aminoácidos.	11
Figura 2: Reações de transaminação e desaminação com liberação de amônia (NH ₄) entrando para o ciclo da uréia.....	12
Figura 3: Via catabólica da alanina	13
Figura 4: Via catabólica do aspartato	13

CAPÍTULO II

Figura 5: Dispensadores automáticos de reação instalados sobre os tanques-rede no viveiro	43
Figura 6: Concentração de glicogênio hepático ($\mu\text{mol glicose g}^{-1}$) de jundiás alimentados com diferentes frequências de alimentação e níveis de proteína na dieta durante 60 dias.....	44
Figura 7: Proteína total do fígado (mg g^{-1}) de jundiás alimentados com diferentes frequências e níveis de proteína na dieta durante 60 dias.	45
Figura 8: Concentração de glicogênio ($\mu\text{mol glicose g}^{-1}$) no músculo de jundiás alimentados com diferentes frequências de alimentação e níveis de proteína na dieta durante 60 dias.....	46
Figura 9: Proteína total do músculo (mg g^{-1}) de jundiás alimentados com diferentes frequências e níveis de proteína na dieta durante 60 dias	47

CAPÍTULO I

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. Panorama da Aquicultura Nacional

A pesca no mundo já ultrapassa 100 milhões de toneladas por ano. Neste cenário a aquicultura no Brasil passou de 300 mil toneladas para 415,6 mil desde 2003 até o ano de 2009, segundo dados do Ministério da Pesca e Aquicultura em censo estatístico realizado em 2008-2009. A produção de pescado no Brasil cresceu 15% entre o período de 2007 a 2009, sendo que o extrativismo contribuiu somente com 5% (BRASIL, 2010). A captura em áreas de pesca vem sofrendo constante diminuição nos últimos anos (LOPERA-BARRERO et al., 2011). Na comparação do crescimento da produção das atividades zootécnicas no período de 2007 a 2009, observa-se que a aquicultura registrou crescimento relativo de 43,8%, ao passo que aves e suínos registraram apenas 12,9% e 9,2%, respectivamente, e a bovinocultura apresentou retração na ordem de 8,6% (BRASIL, 2010). A demanda continua a aumentar com o passar dos anos e a aquicultura é a opção que está surgindo para suprir o déficit por proteína animal na alimentação humana.

A região Nordeste contribuiu com 34% (411.463 toneladas) da produção nacional, a região Sul com 25% (316.257 toneladas), a Norte com 21% (263.814 toneladas), a Sudeste com 14% (177.249 toneladas) e a Centro-Oeste com 6% (72.030 toneladas) em 2009, segundo dados do Ministério da Pesca e Aquicultura. As principais espécies utilizadas na aquicultura destas regiões são: tilápia, carpa, tambaqui, camarão-cinza, lagosta, pintado e pacu. Sendo que mexilhões, ostras e alguns bagres, como o jundiá, são produzidos, principalmente na região Sul, sobretudo no estado de Santa Catarina. A relevância da participação dos produtos pesqueiros para alimentação humana fica evidenciada considerando que os mesmos já contribuem com mais de 16% do total de proteína animal consumida mundialmente, aliado ao fato de que somente as importações dos Estados Unidos e da Europa representaram o montante de US\$ 54,0 bilhões em 2008 (FAO, 2009).

Do total da produção mundial de pescados, estima-se que 84,2% (121,8 milhões de toneladas) foram destinadas ao consumo humano, enquanto 15,8% (22,8 milhões de toneladas) foram utilizadas para a fabricação de farinhas, óleos e outros subprodutos

(FAO, 2009). Sendo assim, estudos e pesquisas são necessários para aprimorar e viabilizar a fabricação de alimento para aquicultura com o uso de seus subprodutos e, ao mesmo tempo, fontes alternativas de insumos.

O Brasil se destaca por possuir grande extensão de áreas alagadas ainda não exploradas e com grande potencial de produção. Contudo, necessita superar alguns obstáculos para se tornar um dos maiores produtores do mundo, tais como: deficiências e carências técnicas e estruturais do setor produtivo, grande número de intermediários, falta de organização do sistema de transferência de tecnologia, dificuldades na cadeia de distribuição e comercialização de pescado já que é altamente perecível, falta de qualificação profissional, falta de unificação de sistemas produtivos, estudos mais abrangentes com as espécies nativas e exóticas produzidas no Brasil (LOPERA-BARRERO et al., 2011).

O grande potencial hídrico brasileiro viabiliza a piscicultura em tanques-rede, que pode ser caracterizada como sistema superintensivo, que necessita de alta taxa de renovação de água e apresenta menor custo de implantação. O uso de tanques-rede possibilita a obtenção de mais de um ciclo por ano, quando manejado corretamente e em condições climáticas ideais. Além disso, é um sistema de produção com baixo custo de implantação e que pode ser instalado em áreas já alagadas, dispensando a movimentação de terra. Assim sendo, a dimensão territorial do país, a disponibilidade hídrica, a vantagem climática, a diversidade de espécies cultiváveis, o grande potencial genético e a grande disponibilidade de insumos a serem utilizados na alimentação dos animais, viabilizam o crescimento da produção aquícola no Brasil.

2. O Jundiá

O jundiá (*Rhamdia quelen*) é um peixe de couro nativo da região Sul do Brasil, contudo os peixes deste gênero podem ser encontrados desde o sudeste do México ao centro da Argentina. Resguardando-se sua ambígua classificação descrita pelos pesquisadores, pertencente à ordem dos peixes Siluriformes e da família Heptapteridae. É uma espécie de hábito alimentar onívoro e bentônico que se reproduz com facilidade, aceita bem a alimentação artificial, possui bom rendimento de carcaça e apresenta rápido crescimento e bom desempenho, tanto em temperaturas mais baixas, quanto mais elevadas. Reidel et al. (2010) encontraram rendimento de carcaça entre 78% e 87% para

jundiás alimentados com diferentes níveis de proteína e valores semelhantes foram encontrados por Melo et al. (2002) para peixes juvenis entre 40 e 45 g alimentados com diferentes fontes de óleo na dieta.

Segundo alguns autores, o crescimento é maior nos machos do que nas fêmeas em condições naturais até o terceiro ou quarto ano de vida, quando a situação se inverte (WEIS e CASTELLO, 1980). As fêmeas podem atingir 66,5 cm, enquanto que os machos 52,0 cm. Habitam lagos e fundos de rios, entre pedras e troncos apodrecidos junto às margens e vegetação. As larvas alimentam-se de zooplâncton, já os adultos são onívoros com hábito alimentar noturno.

A exigência proteica para o jundiá pode variar de 28 a 50% de proteína bruta dependendo da fase de criação, com relação de aproximadamente 10,3 kcal de energia digestível por grama de proteína (BALDISSEROTTO, 2004). Estudos realizados por Moro et al. (2010) ressaltaram também a importância da relação carboidrato:lipídeo (CHO:L) na dieta de jundiá, chegando a relação ideal de 5,3. Apesar dos peixes, incluindo o jundiá, não utilizarem de maneira eficiente os carboidratos como fonte de energia, os autores concluíram que o uso de dietas com tal relação CHO:L é benéfica, diminuindo a gordura corporal e melhorando a utilização da proteína. Entretanto, quantidades elevadas de carboidrato podem ser prejudiciais podendo afetar as atividades enzimáticas, metabólicas e o glicogênio hepático. Em relação à inclusão dos lipídeos na dieta para o jundiá, assim como para outras espécies, alguns estudos apresentam o óleo vegetal com alternativa ao uso do óleo de origem animal (MELO et al., 2002; VARGAS et al., 2008; BOURAOUI et al., 2011).

O sistema de produção predominante para o jundiá no Brasil é em tanques escavados, entretanto a criação de jundiá em tanques-rede cresce a cada ano, assim como as pesquisas e projetos de extensão que vêm sendo realizadas para tal espécie, principalmente nas regiões Sul e Sudeste do Brasil. Atualmente, esta espécie figura entre as mais produzidas no estado de Santa Catarina (AMARAL et al., 2011)

3. Proteínas na alimentação de peixes

O aumento na produtividade requer o uso de rações formuladas para atender as exigências nutricionais da espécie, pois o alimento natural não é capaz de atendê-las em

condições intensivas de cultivo. As rações comerciais possuem de 25 a 40% de proteína bruta, o que implica em elevada participação de ingredientes proteicos, e isso corresponde a mais de 50% de seu custo total de produção (FURUYA et al., 2005). O Brasil possui grande disponibilidade de matéria prima de origem vegetal tanto quanto animal para a produção de rações para organismos aquáticos, sendo assim, estudos são necessários para formulação do alimento ideal para os organismos aquáticos com melhor utilização dos insumos disponíveis e menor custo de produção.

Muitos estudos realizados para determinar a exigência em proteína para organismos aquáticos podem apresentar valores superestimados, uma vez que parte dos aminoácidos da dieta pode ser catabolizada na forma de esqueleto carbônico (carboidrato e gorduras) e utilizada como fonte de energia pelos peixes, aumentando o custo da alimentação e, ao mesmo tempo, a excreção de amônia com maior potencial poluente (WOOD, 1993; WILSON, 1989; LOVELL, 1989, apud GONÇALVES et al., 2009). Por outro lado, em muitas espécies o metabolismo do glicogênio é mais lento e a glicose para suporte metabólico é obtida dos aminoácidos da dieta.

Para as espécies tropicais nativas, poucas são as informações dos valores digestíveis da proteína e da energia da maioria dos alimentos nacionais em função do manejo alimentar aplicado. Segundo Ustaoglu Tiril & Alagil (2009) não há diferenças nos valores de digestibilidade da proteína pela truta arco-íris quando se aumenta a frequência de alimentação. Somando-se a isso, a menor eficiência alimentar também pode estar relacionada à taxa de alimentação. Windell et al. (1978) observaram que a truta arco-íris quando arraçadas com taxas de alimentação entre 0,4 e 0,6% do peso corporal apresentaram coeficientes de digestibilidade aparente para proteína bruta superiores aos apresentados pelos peixes arraçados com 1,6 % do peso corporal ao dia.

Outro fator que deve ser considerado é o peso dos peixes. Inaba et al. (1962) estudaram o efeito de diferentes estágios de crescimento em trutas sobre o coeficiente de digestibilidade de uma dieta padrão e, concluíram que peixes maiores apresentam melhores coeficientes de digestibilidade aparente da proteína. Assim como o tipo de alimento utilizado pode afetar a digestibilidade e o destino ou caminho metabólico da proteína. O maior nível de proteína na dieta não significa necessariamente que os aminoácidos estão sendo destinados ao crescimento muscular e sim, podem estar sendo destinados a outras vias metabólicas. A deficiência no suprimento de proteína na dieta

pode determinar retardo no crescimento e perda de peso, contudo, quando fornecida em excesso, a proteína é catabolizada e usada como energia, aumentando a excreção de nitrogênio no ambiente, com consequente poluição.

Gonçalves et al. (2009) concluíram que é possível utilizar níveis inferiores a 34% de proteína digestível (PD) em rações para juvenis de tilápia com base no conceito de proteína ideal e determinaram o melhor índice de eficiência econômica para peixes alimentados com ração com 30% de proteína digestível (PD) e 3.000 kcal/kg de energia digestível (ED), ou seja, relação ED:PD de 10 kcal g⁻¹. Entre os principais fatores que influenciam a exigência proteica na alimentação dos peixes estão a qualidade da proteína, o teor de energia não proteica (carboidratos e lipídeos) e a relação energia/proteína bruta (BRANDT, 1991). O excesso de energia não proteica como resultado da formulação com alta relação energia digestível/proteína bruta (ED:PB) pode inibir a ingestão voluntária antes do consumo suficiente da dieta, o que prejudica a utilização de outros nutrientes. O conhecimento da adequada relação proteína/carboidrato na alimentação dos peixes é fundamental para o estabelecimento do nível ótimo de nitrogênio na ração, prevenindo perdas de nitrogênio e evitando danos ambientais (Melo et al. 2006). Os mesmos autores concluíram que os níveis das enzimas alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), glutamato desidrogenase (GDH) e arginase são significativamente afetados pela composição da dieta de *Rhanda quelen* e podem ser usadas como ferramenta metabólica para avaliar os melhores níveis de proteína nas dietas para esta espécie.

Os níveis de proteína na ração interferem no custo de produção. Segundo Botaro et al. (2007) é possível reduzir o nível de proteína digestível de 27% (29,1% de PB) para 24,3% (26,6% de PB) em dietas para tilápia do Nilo produzidas em tanque-rede com suplementação de aminoácidos. Avaliar o efeito de uma maior frequência alimentar comparada com os diferentes níveis de proteína da ração e aproveitamento dos aminoácidos podem diminuir ainda mais estes custos.

Observa-se que diversos são os fatores que afetam a digestibilidade e o metabolismo da proteína nos animais aquáticos, entretanto, a partir de rações balanceadas e utilização do manejo alimentar adequado torna-se possível obter melhores respostas de conversão alimentar, aumentar o lucro e, principalmente, diminuir o impacto ambiental.

4. Frequência alimentar

O manejo alimentar correto é indispensável para melhorar o crescimento e uniformidade dos peixes, sem o comprometimento sanitário, pois o excesso de alimento jogado na água, além de provocar alterações metabólicas, implica na deterioração da qualidade da água.

Recomenda-se que o manejo alimentar para as espécies filtradoras, que se alimentam com maior frequência na natureza, seja realizado de maneira que os peixes recebam a ração em pequenas porções e mais vezes ao dia (MEER et al., 1997). Sousa et al. (2012) avaliando diferentes frequências e período de alimentação com alimentadores automáticos para juvenis de tilápias observaram maior peso final e melhor aproveitamento da ração para peixes alimentados 24 vezes (de hora em hora, dia e noite) comparados aos alimentados 12 vezes (a cada duas horas). Além disso, sugerem que a maior frequência alimentar pode resultar em economia de 360 kg de ração para cada tonelada de peixe produzida quando comparada com a menor frequência, diminuindo o desperdício e melhorando a qualidade da água, viabilizando a produção sustentável de peixes em tanques-rede.

Em estudo realizado com larvas de tilápia concluiu-se que a maior frequência de alimentação aumenta a disponibilidade da ração durante o dia, reduz a competição pelo alimento, aumenta a uniformidade do lote e proporciona melhor desempenho das tilápias, possibilitando produtividade de 2,5 a 3,2 vezes maior que peixes alimentados em menor frequência durante a noite ou dia/noite (SOUSA, 2010). Segundo Alexandre, (2010) a alta frequência alimentar pode melhorar o desempenho dos peixes, desde que o alimento não seja fornecido em excesso. Yao et al. (1994), analisando os efeitos da frequência de alimentação em ayu (*Plecoglossus altivelis*), relataram que os peixes alimentados quatro vezes ao dia apresentaram níveis mais baixos de triglicerídeos do que aqueles alimentados somente duas vezes ao dia.

No cultivo de peixes em geral, podem ser utilizados três sistemas para o fornecimento de ração: a alimentação manual, por demanda e a automática. A alimentação automática para tilápias nilóticas (NOVATO, 2000; OLIVEIRA, 2007) e para o *Dicentrarchus labrax* (AZZAYDI et al., 2000) tem apresentado melhores resultados em comparação aos outros métodos. Deve-se considerar também a taxa de arraçoamento, pois altas taxas juntamente com estratégias de manejo alimentar podem

determinar acúmulo de gordura corporal associado ao menor incremento na deposição de proteína muscular. Assim, especial atenção é necessária na escolha da estratégia de alimentação e frequência alimentar.

Agostinho et al. (2004), desenvolveram um dispensador automático de ração para tanques-rede que consiste em um reservatório que libera quantidades programadas de ração nos intervalos necessários. Este equipamento proporciona precisão na oferta de ração, evitando desperdícios e assegurando quantidades de ração em intervalos pré-determinados, os quais possibilitam melhor resultado no ciclo de recria dos animais.

Segundo Ballantyne (2001), o excesso de aminoácidos não é armazenado nos peixes; e desse modo são desaminados e convertidos em compostos energéticos. Quando os aminoácidos provenientes da proteína da dieta chegam aos tecidos, parte destes também é degradado, pois os aminoácidos adicionados à ração para corrigir possível desequilíbrio do alimento ou provenientes de digestão anterior já foram perdidos. Sendo assim, a maneira de corrigir este problema é alimentar os peixes o máximo de vezes possível durante o dia para que os aminoácidos livres da alimentação possam chegar a tempo aos tecidos enquanto os aminoácidos digeridos da alimentação anterior ainda estejam livres e disponíveis.

O custo de produção também pode ser significativamente reduzido pela adoção do manejo alimentar adequado, aumentando assim a rentabilidade e competitividade do setor aquícola.

5. Metabolismo

O conjunto de enzimas relacionadas ao metabolismo de açúcares, gorduras e proteínas é bastante distinto e comporta-se de maneira diferente para os diferentes organismos, sendo que as respostas às mudanças na dieta podem ser variáveis para as inúmeras espécies de peixes. Existem vários trabalhos correlacionando as enzimas do metabolismo energético e de proteínas e o estado nutricional dos peixes (KIM et al., 1992; METÓN et al., 1999; MELO et al., 2006; PERES e OLIVA-TELES, 2007). Componentes destes três grupos de nutrientes são passíveis de serem usados como combustível para as vias metabólicas, tais reações na presença de oxigênio irão liberar CO₂ e água com a produção de energia.

Os nutrientes necessários em quantidades substanciais são chamados macronutrientes como, proteínas, carboidratos e lipídeos, sendo a proteína o mais oneroso destes. Portanto compreender o metabolismo dos peixes, direcionando a oferta dos carboidratos como fonte de energia, poupando assim as proteínas, resulta em vantagens no custo de produção e proporciona menor risco a natureza. Deve-se considerar que o valor nutricional da dieta está relacionado à digestibilidade dos ingredientes, sua absorção e disponibilidade para o metabolismo (MORAES e ALMEIDA, 2011). Neste sentido, Pezzato et al. (2004) determinaram a digestibilidade aparente e valor nutricional de alguns alimentos alternativos pela tilápia do Nilo e que podem ser utilizados para confecção de rações para peixes tropicais, encontrando bons valores de coeficiente de digestibilidade aparente para fontes de origem vegetal como silagem de milho, raspa de mandioca e levedura de álcool. Estudos relacionados à disponibilidade metabólica também evidenciaram o uso de diferentes dietas e fontes de alimentos e seu aproveitamento pelos peixes (Melo et al., 2006; Abdel-Tawwab et al., 2010; Moro et al., 2010; Bouraoui, et al., 2011).

Proteínas são macromoléculas que contém carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio e, em alguns casos, enxofre. As unidades estruturais fundamentais da proteína são os aminoácidos que são unidos por ligações peptídicas. Todos os aminoácidos possuem um terminal carboxila e outro amino ligados ao carbono central. São 20 os aminoácidos presentes naturalmente, que são agrupados formando as diferentes proteínas. Os aminoácidos essenciais para os peixes são: metionina, treonina, fenilalanina, lisina, valina, leucina, histidina, triptofano e isoleucina. As proteínas não têm seus valores nutricionais baseadas somente na sua composição de aminoácidos, mas sim em como estes aminoácidos estão disponíveis à ação das enzimas (JOBBLING, 1994).

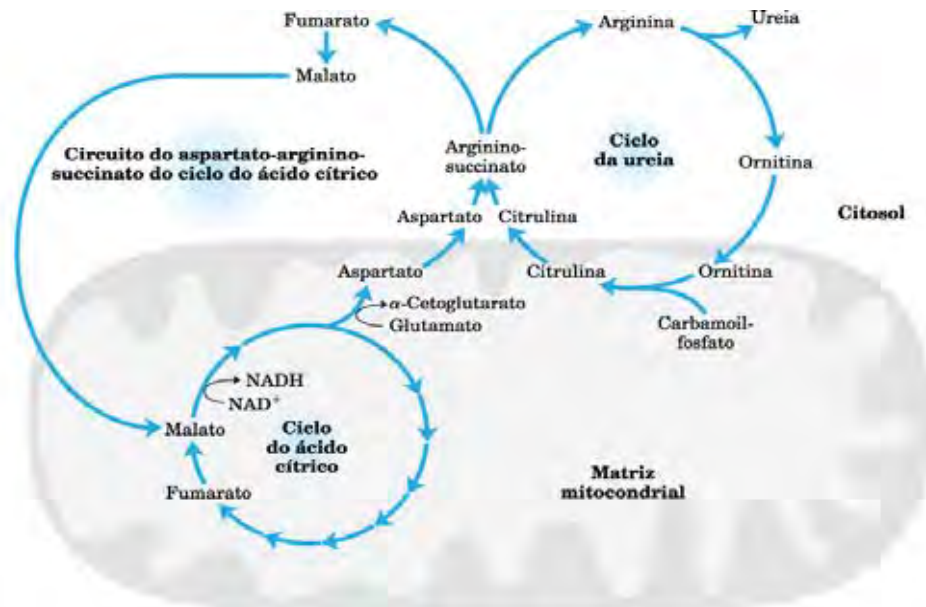
As necessidades de proteína para os peixes diminui com a idade, isso porque os peixes mais jovens apresentam rápido crescimento, com conversão metabólica maior que os peixes adultos. Isso pode determinar a superestimação das exigências do animal, e como o excesso de aminoácidos não pode ser armazenado, estes são, então, usados como fonte de energia ao invés dos carboidratos e dos lipídeos da dieta. Ao mesmo tempo, os peixes são capazes de usar e metabolizar mais facilmente as proteínas em vez dos carboidratos. As proteínas da dieta têm normalmente duas vias metabólicas, o

catabolismo para a produção de energia e o anabolismo para a síntese de novas proteínas. O crescimento relacionado à ingestão de proteínas pode ser determinado da relação entre a síntese e a degradação desta proteína, contudo, a síntese proteica apresenta alto custo energético para o metabolismo, podendo corresponder a 42% do total de energia consumida pelo organismo. Outro aspecto a ser considerado quando do metabolismo das proteínas é o limite no qual os peixes não são mais capazes de usá-las para o crescimento, estocando-as e usando como fonte de energia, produzindo, conseqüentemente, altos índices de amônia na água pelo processo metabólico de hidrólise chamado desaminação (JOBLING, 1994). Deve-se considerar ainda que o desbalanço nutricional pode causar redução na ingestão e retardo no crescimento.

Antes dos macronutrientes chegarem às vias metabólicas o alimento deve sofrer digestão. Alguns fatores podem influenciar esta atividade química e enzimática como idade, fisiologia, clima, genética, saúde; sendo assim estudos são necessários para unir o conhecimento em nutrição e manejo alimentar com os mecanismos fisiológicos e metabólicos dos peixes.

O fígado é o principal órgão que cataboliza aminoácidos e isso pode explicar as altas concentrações de aminoácidos livres neste órgão (BALLANTYNE, 2001). A oxidação dos aminoácidos no fígado é maior que suas outras vias, como a gliconeogênese. O catabolismo dos aminoácidos resulta na produção de amônia nos peixes, sendo a primeira reação deste processo a transaminação, em que o grupo amino do aminoácido é transferido para um α -cetoglutarato formando glutamato e mais um precursor do ciclo de produção de energia, como piruvato. O glutamato é então desaminado pela glutamato desidrogenase (GDH) formando α -cetoglutarato novamente. A GDH é ativada por ADP, AMP e inibida por ATP e GTP, sendo assim quando os níveis de ATP estão baixos e os de ADP estão altos, as reações de transaminação e desaminação oxidativa dos aminoácidos serão favorecidas fornecendo energia a partir das proteínas. Outra via é o ciclo da purina nucleotídeo que engloba a transferência inicial do grupo amino do aminoácido para o oxalacetato por meio de uma aminotransferase. O aspartato formado é desaminado pela via do fumarato e malato, por enzimas que usam as purinas como intermediários das reações, entrando para o ciclo de Krebs e voltando a oxalacetato, o qual também junto com o aspartato e um α -cetoglutarato podem formar o glutamato que será desaminado novamente (Figura 1). O

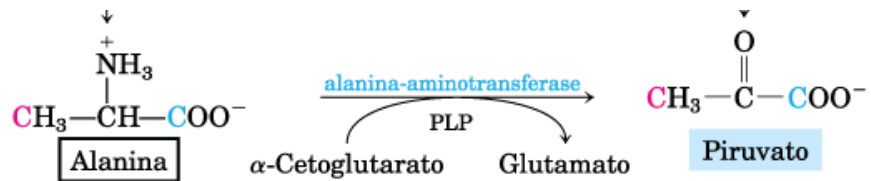
oxalacetato por sua vez pode ingressar como precursor do ciclo de produção de energia (Figura 2).



Lehninger, 2011

Figura 1: Interconexões entre o ciclo da uréia e o ciclo do ácido cítrico, destino do grupo amino e do esqueleto carbônico dos aminoácidos.

Neste sentido, o metabolismo do glutamato nos peixes é bastante diferente dos mamíferos. O glutamato é primeiramente desaminado nos peixes produzindo amônia, enquanto que nos mamíferos o glutamato é, na maioria das vezes, transaminado a aspartato. Contudo as vias metabólicas do glutamato variam entre as espécies de peixes e devem ser melhor estudadas.

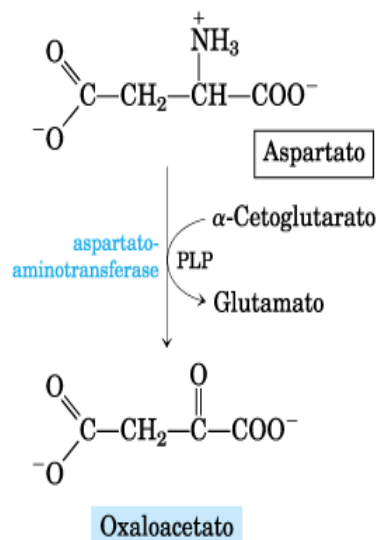


Lehninger, 2011

Figura 3: Via catabólica da alanina.

5.2. Aspartato aminotransferase

A aspartato aminotransferase (AST) ou transaminase oxalacética catalisa a transferência reversível de grupos amina do aspartato para o α -cetoglutarato, com formação de glutamato e oxalacetato. Este é reduzido a malato por ação da malato desidrogenase (MDH), enquanto que a coenzima NADH é oxidada a NAD.



Lehninger, 2011

Figura 4: Via catabólica da aspartato.

As reações catalisadas pelas aminotransferases (transaminases) acima exercem papéis importantes, tanto na síntese, como na degradação de aminoácidos. Além disso, como abrangem a formação de piruvato ou ácidos dicarboxílicos, atuam como ligação

entre o metabolismo dos aminoácidos e carboidratos, entrando para o ciclo de Krebs. Atividades mais expressivas de tais enzimas são encontradas no fígado e músculo esquelético e medidas por meio do soro ou plasma sanguíneo não hemolisados.

Neste contexto esta dissertação compreende o estudo o qual está apresentado no capítulo II referente à alimentação de jundiá com ração contendo dois níveis de proteína em alta e baixa frequência de alimentação, na fase juvenil, avaliando parâmetros bioquímicos e das enzimas do metabolismo proteico, juntamente com o índice lipossomático a fim de analisar a performance metabólica dos peixes em relação às dietas.

O Capítulo – II, intitulado **“Parâmetros bioquímicos e enzimáticos para jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados em alta e baixa frequência com diferentes níveis de proteína”**. Redigido conforme normas do periódico **“Aquaculture”**.

6. Referências

- ABDEL-TAWWAB, M. et al. Effect of dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 298, p. 267-274, 2010.
- AGOSTINHO, C. et al. **Dispensador automático de ração**. PI 0403612-3, 23 ago. 2004.
- ALEXANDRE, J. S. **Taxa de alimentação e frequência alimentar para surubins criados em tanque rede**: desempenho produtivo e digestibilidade de proteína. 2010. 51 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.
- AMARAL, H. J.; GARCIA, S.; MELLO, G. L. Jundiá: um peixe sob medida para a região sul do Brasil. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v. 21, p. 46-49, 2011.
- AZZAYDI, M. et al. The influence of nocturnal vs. diurnal feeding under winter conditions on growth and feed conversion of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 182, p. 329-338, 2000.
- BALDISSEROTTO, B.; RADÜNZ NETO, J. **Criação do Jundiá**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2004. 232 p.
- BALLANTYNE, J. S. Amino acid metabolism. **Fish Physiology**, Amsterdam, v. 20, p. 77-107, 2001.
- BOTARO, D. et al. Redução da proteína da dieta com base no conceito de proteína ideal para tilápias-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) criadas em tanques-rede. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 36, p. 517-525, 2007.
- BOURAOUI, L. et al. Effect of dietary fish meal and fish oil replacement on lipogenic and lipoprotein lipase activities and plasma insulin in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 17, p. 54-63, 2011.
- BRANDT, T. M. Temperate basses, *Morone* spp., and black basses, *Micropterus* spp., In: WILSON, R. P. **Handbook of nutrient requirements of finfish**. Boston: CRC Press, 1991. p. 163-166.
- BRASIL, Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura. Brasil 2008 - 2009**. Brasília, DF, 2010. 99p.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Yearbook of fishery and aquaculture statistics**. Rome: Fisheries and Aquaculture Department, 2009.
- FURUYA, W. et al. Aplicação do conceito de proteína ideal para redução dos níveis de proteína em dietas para tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 34, p. 1433-1441, 2005.

GONÇALVES, G. S. et al. Níveis de proteína digestível e energia digestível em dietas para tilápias-do-nilo formuladas com base no conceito de proteína ideal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 38, p. 2289-2298, 2009.

INABA, D. et al. Digestibility of dietary components in fishes. 2 – Digestibility of dietary proteins and starch in rainbow trout. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, Tokyo, v. 29, n. 3, p. 242-244, 1962.

JOBLING, M. **Fish bioenergetics**. Londres: Chapman & Hall, 1994. 309 p.

KIM, I. et al. Effect of fasting or feeding diets containing different levels of protein or amino acids on the activities of the liver amino acid degrading enzymes and amino acid oxidation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 107, p. 89-105, 1992.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. C.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. 5. ed. São Paulo: Artmed, 2011. 1274 p.

LOPERA-BARRERO, N. M. et al. **Produção de organismos aquáticos: uma visão geral no Brasil e no mundo**. Guaíba: Agrolivros, 2011. 320 p.

MEER, M. B. V.; HERWAARDEN, H.; VERDEGEM, M. C. J. Effect of number of meals and frequency of feeding on voluntary feed intake of *Colossoma macropomum* (Cuvier). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 28, p. 419-432, 1997.

MELO, J. F. B. et al. Desenvolvimento e composição corporal de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com dietas contendo diferentes fontes de lipídios. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 2, p. 323-327, 2002.

MELO, J. F. B. et al. Effects of dietary levels of protein in nitrogenous metabolism of *Rhamdia quelen* (Teleostei: Pimelodidae). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, Oxford, v. 145, p. 181-187, 2006.

METÓN, I. et al. Effect of diet composition and ration size on key enzymes activities of glycolysis-gluconeogenesis, the pentose phosphate pathway and amino acid metabolism in liver of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 82, p. 223-232, 1999.

MORAES, G.; ALMEIDA, L. C. Biochemical aspects of nutrition of Neotropical freshwater fish: Metabolic implications. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE NUTRIÇÃO E SAÚDE DE PEIXES, 4., 2011, Botucatu. **Anais...** Botucatu: FEPAF, 2011. p. 29-36.

MORO, G. V. et al. Dietary non-protein energy sources: growth, digestive enzyme activities and nutriente utilization by the catfish jundiá, *Rhamdia quelen*. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 41, p. 394-400, 2010.

NOVATO, P. F. C. **Comparação entre os sistemas de alimentação de demanda, manual e automático sobre o desempenho da Tilápia Vermelha (*Oreochromis spp.*)**.

2000. 87 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura)-Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2000.

OLIVEIRA, F. A. **Taxas e intervalos de alimentação na produção de tilapia em tanque-rede com dispensador automático de ração**. 2007. 81 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

PERES, H.; OLIVA-TELES, A. Effect of dietary essential amino acid pattern on growth, feed utilization and nitrogen metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 267, p. 119-128, 2007.

PEZZATO, L. E. et al. Digestibilidade aparente da material seca e da proteína bruta e a energia digestível de alguns alimentos alternativos pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum Animal Sciences**, Maringá, v. 26, n. 3, p. 329-337, 2004.

REIDEL, A. et al. Rendimento corporal e composição química de jundiás alimentados com diferentes níveis de proteína e energia na dieta, criados em tanques-rede. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 39, n. 2, p. 233-240, 2010.

SOUSA, R. M. R. et al. Productive performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed at different frequencies and periods with automatic dispenser. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 64, n. 1, p. 192-197, 2012.

SOUSA, R. M. R. et al. Desempenho produtivo da tilápia do Nilo em lotes revertidos ou não, alimentados em diferentes frequências. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 47., 2010, Salvador. **Anais...** Viçosa: SBZ, 2010.

USTAOĞLU TIRIL, S.; ALAGİL, F. Effects of feeding frequency on nutrient digestibility and growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed a high lipid diet. **Turkish Journal of Veterinarian Animal Science**, Kavaklıdere, v. 33, n. 4, p. 317-322, 2009.

VARGAS, R. J. et al. Replacement of fish oil with vegetable oils in diets for Jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy and Gaimard 1824): effects on performance and whole body fatty acid composition. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 39 p. 657-665, 2008.

WEIS, M. L. C.; CASTELLO, J.P. Interpretação da idade e cálculo da curva de crescimento do jundiá, *Rhamdia quelen* (QUOY & GAIMARD, 1824) do banhado de Santa Catarina - RS. **Ciência e Natura**, Santa Maria, v. 5, p. 103-126, 1980.

WINDELL, J. T.; FOLTZ, J. W.; SAROKON, A. J. Effect of fish size, temperature and amount digestibility of a pelleted diet by rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Transactions of the American Fisheries Society**, Bethesda, v. 107, n. 4, p. 613-616, 1978.

WOOD, C. M. Ammonia and urea metabolismo and excretion. In: EVANS, D. H. (Ed.). **The physiology of fish**. Boca Raton: CRC Press, 1993. 425 p.

YAO S. J.; UMINO T.; NAKAGAWA H. Effect of feeding frequency on lipid accumulation in ayu. **Fisheries Science**, Tokyo, v. 60, p. 667-671, 1994.

CAPÍTULO II

**Parâmetros bioquímicos e enzimáticos para jundiá (*Rhamdia quelen*)
alimentados em alta e baixa frequência com diferentes níveis de proteína**

Resumo

Nas várias atividades agropecuárias o manejo alimentar adequado é fundamental para se alcançar o melhor desempenho produtivo, assim como o correto balanceamento dos nutrientes oferecidos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência dos níveis de proteína na ração e do número de ofertas de alimento ao dia sobre os parâmetros metabólicos e atividade das enzimas do metabolismo proteico, associados ao índice lipossomático (ILS) de 864 jundiás de 45g cultivados em tanque-rede. Os peixes foram alimentados por 60 dias com dieta contendo dois níveis de proteína (28 e 32%) e duas frequências de alimentação (três e 24 vezes ao dia), com seis repetições reproduzidas no tempo. Dois peixes de cada tanque foram abatidos no início, meio e final do trabalho para as análises bioquímicas. A atividade da enzima aspartato aminotransferase (AST) aumentou durante o tempo dos ensaios para a dieta com 28% de proteína e maior frequência. O aumento da concentração de glicose no sangue com a diminuição da proteína na dieta para a frequência alimentar de três vezes ao dia, assim como para a maior frequência com a dieta de 32% de proteína aos 30 dias, associadas à diminuição da atividade enzimática (AST) sugere que com a maior frequência o aumento da proteína dietética não é necessário para suprir as demandas metabólicas. Houve tendência de diminuição do glicogênio hepático para os peixes alimentados mais vezes ao dia com a dieta contendo 32% de proteína ao final do experimento, sendo a glicogenólise responsável pela manutenção dos níveis de glicose. Os níveis de proteínas plasmáticas foram maiores para os peixes alimentados com maior nível de proteína e menor frequência alimentar. A maior frequência pode melhorar o aproveitamento da ração com menor nível de proteína, direcionando a proteína da dieta para suprir as demandas proteicas e energéticas.

Palavras-chave: metabolismo proteico, exigência proteica, alimentação automática, atividade enzimática.

**Biochemical and enzymatic parameters for silver catfish (*Rhamdia quelen*)
fed with high and low feeding frequencies and different protein levels**

Abstract

The proper feeding management is important to achieve the best productive performance at the various agricultural activities, as well as the correct nutrients balance offered is indispensable. This study aimed at evaluating the influence of dietary protein levels and the number of food offerings per day on the metabolic parameters and the activity of protein metabolism enzymes, along with the liposomatic index (LSI) of 864 silver catfish of 45g grown in cages. The fish were fed 60 days with a diet containing two protein levels (28 and 32%) and two feeding frequencies (three and 24 times a day), with six replicates per treatment reproduced in time. Two fish per cage were slaughtered at the beginning, middle and end of the experiment for biochemical analysis. The aspartate aminotransferase enzyme activity (AST) increased during the experimental time for the diet with 28% protein level and higher feeding frequency. The increase in blood glucose concentration for the lower dietary protein level and the feeding frequency of three times a day as for to higher frequency with the diet of 32% protein at 30 days, associated with decreased enzyme activity (AST) proposes that increased dietary protein level is not required to meet the metabolic demands. There was a tendency of decreased hepatic glycogen for fish fed 24 times a day with the diet containing 32% protein at the end of the experiment, therefore glycogenolysis was responsible for maintaining glucose levels. The plasma protein levels were higher for fish fed with more protein in the diet and lower feeding frequency. Thus, the higher frequency can improve food utilization with a lower protein level, so the diet protein can be used to fulfill protein and energetic demand.

Key words: protein metabolism, protein requirement, automatic feeding, enzymatic activity.

1. Introdução

Os peixes utilizam as cadeias carbônicas dos aminoácidos não somente para a síntese de proteínas e, conseqüente, crescimento muscular, mas também para composição de açúcares e gorduras. Nas várias espécies de peixes o catabolismo do glicogênio é lento e a glicose para as demandas metabólicas é principalmente obtida dos aminoácidos, sendo que há grande variação destas vias metabólicas entre peixes carnívoros e onívoros e o conjunto de enzimas relacionado a tais atividades é bastante distinto, gerando diferentes respostas entre as espécies (Melo et al., 2006). Neste sentido, o catabolismo e o anabolismo das proteínas nos peixes necessitam ser estudados para o melhor entendimento de suas exigências nutricionais. A taxa de crescimento dos peixes pode resultar do aumento da síntese proteica, diminuição da degradação proteica ou a combinação de ambos, a qual é afetada por fatores bióticos e abióticos (Dabrowski e Guderley, 2002).

Estudos anteriores demonstraram que o aumento da frequência alimentar promove maior ganho de peso, melhor digestibilidade da proteína e melhores taxas de crescimento na produção de peixes, permitindo o aumento da taxa de alimentação sem que haja desperdícios (Oliveira, 2007; Sousa, et al. 2012; Castro et al., 2012) e ainda pode melhorar a qualidade da água (Phillips et al., 1998). Contudo o metabolismo necessita ser melhor estudado para constatação de tais afirmações.

Para que a ração seja fracionada mais vezes ao dia e se consiga melhor aproveitamento da taxa de alimentação para peixes produzidos em tanques-rede existe a necessidade do uso de alimentadores automáticos, caso contrário o custo com a mão de obra pode incrementar demasiadamente o custo total de produção. O alimentador automático permite fornecer a ração mais vezes durante o dia ou noite, em horários e quantidades pré-definidas conforme o consumo, diminuindo o desperdício, a poluição, a competição por alimento e os gastos com mão-de-obra. O uso de alimentadores automáticos já foi descrito por alguns autores em métodos laboratoriais para estudos de crescimento, (Jobling, 1994). Contudo a taxa de alimentação não era considerada, sendo assim a ração em excesso poderia ser lixiviada e comprometer a qualidade da água.

Os níveis de proteína na ração interferem, da mesma maneira, nos custos de produção. É possível reduzir o nível de proteína digestível de 27% (29,1% de PB) para

24,3% (26,6% de PB) em dietas para tilápia do Nilo criadas em tanque-rede com suplementação de aminoácidos (Botaro et al., 2007). Dependendo do efeito da maior frequência alimentar, dos níveis de proteína da ração e do aproveitamento dos aminoácidos os custos podem ser minimizados.

O jundiá (*Rhamdia quelen*) é um peixe onívoro que se adapta bem a alimentação artificial, possui rápido crescimento e bom desempenho, mesmo em temperaturas mais baixas. Estudos vêm sendo realizados referentes às exigências nutricionais e digestibilidade de alguns nutrientes para esta espécie (Moro et al., 2010; Rodrigues et al., 2012), e estudos das demandas nutricionais e o efeito destes nutrientes no metabolismo intermediário são importantes para complementar tais trabalhos.

Neste sentido, o presente trabalho apresenta a avaliação do índice lipossomático e dos parâmetros bioquímicos e enzimáticos do jundiá *Rhamdia quelen* submetido à alta e baixa frequência alimentar com diferentes níveis de proteína na ração.

2. Material e Métodos

2.1. Instalações e condições experimentais

O projeto foi desenvolvido no Setor de Aquicultura da Fazenda Experimental Lageado, UNESP, Câmpus de Botucatu. 864 juvenis de jundiás com 45 g em média foram distribuídos em 24 tanques-rede com malha de tela 5/8'' recoberta com PVC, tampa de estrutura metálica e boias de flutuação nas seguintes dimensões: 1,0 metro de largura x 1,0 metro de comprimento x 1,2 metro de altura que foram distribuídos em um reservatório de 2000m² de espelho d'água. O experimento foi conduzido durante os meses de agosto e setembro de 2011 e a temperatura média durante o período experimental permaneceu entre 18° e 22°C.

2.2. Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em fatorial com 2 níveis de proteína (28 e 32%) e 2 frequências de alimentação (três e 24 vezes ao dia), em 6 repetições por tratamento com medidas repetidas no tempo (0, 30 e 60 dias). O tempo 0 constituiu no primeiro dia em que os peixes foram arraçoados de acordo com os tratamentos propostos.

A ração formulada com os dois níveis de proteína propostos (28 e 32%), na proporção de 10,3 kcal/g de PB (Tabela 1) foi oferecida no período noturno das 18 horas às 6 horas da manhã, parcelada de acordo com as frequências sugeridas, durante 60 dias. A taxa de arraçoamento diário foi de 2% do peso vivo e a quantidade de ração oferecida foi ajustada quinzenalmente quando era realizada a pesagem de todos os peixes de cada tratamento.

Para que essa frequência de alimentação fosse possível foram utilizados dispensadores automáticos de ração (Agostinho et al, 2004) instalados sobre os tanques-rede (Figura 5). O painel de controle é composto de temporizadores que acionam e interrompem o mecanismo de fornecimento de ração, sendo, de tal modo, possível manipular a quantidade de ração, os intervalos entre as refeições, o período e a frequência de alimentação.

2.3. Parâmetros metabólicos e enzimáticos

Foram utilizados dois peixes por repetição (12 por tratamento) para análise dos parâmetros bioquímicos e enzimáticos do sangue, fígado e músculo. O sangue foi coletado através de punção da veia caudal, quatro horas após a última refeição com seringas contendo solução 3% EDTA. Para tal procedimento os animais foram anestesiados com solução de eugenol 40 mg L⁻¹ durante 10 minutos (Cunha et al., 2010) e pesados. Após centrifugação do sangue, o plasma foi separado e congelado em nitrogênio líquido. Os peixes foram eutanaziados, por secção da medula espinhal, e os tecidos (fígado e músculo) removidos e congelados em nitrogênio líquido para posterior análise dos parâmetros. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Bioquímica do Departamento de Química e Bioquímica, Instituto de Biociências, UNESP, Câmpus de Botucatu.

2.3.1. Proteínas totais

As proteínas totais do plasma, fígado e músculo foram determinadas pelo método do Biureto segundo Gornall et al. (1949), método colorimétrico no qual o hidrogênio da proteína compete com um sal formando coloração característica. Para as proteínas totais do sangue foi usado 0,1 mL de plasma de cada repetição adicionado a 1,9 mL de sulfito de sódio e 4 mL de reativo de biureto, com leitura após 30 minutos em espectrofotômetro ajustado para 535 nm de absorbância. Fígado e músculo foram

homogeneizados em solução tampão fosfato pH 7,0; 0,01M, na concentração de 500 mg mL⁻¹ e centrifugados a 6000 rpm, 4°C, 15 minutos por duas vezes, sendo o sobrenadante utilizado para determinação das proteínas. Nestes casos 0,2 mL de soro de cada tratamento foi adicionado a 0,8 mL de sulfito de sódio e 4 mL de biureto, com posterior leitura em espectrofotômetro a 535 nm. Os valores foram determinados usando-se curva padrão referência de caseína 5 mg mL⁻¹.

2.3.2. Glicose do plasma

Os parâmetros de glicose no sangue foram medidos individualmente com o kit comercial (Roche), que tem como princípio a determinação fotométrica da glicose pelo método da glicose-oxido-redutase, validado em laboratório. A enzima glicose oxidase catalisa a oxidação de β -D-glicose para D-glicono- δ -lactona. Esta enzima é altamente específica para o anômero β da glicose e não afeta o anômero α . Assim em uma amostra que contém os isômeros α e β , a medida que a enzima consome a β -D-glicose, mais α -D-glicose é convertida em β e toda a glicose é oxidada e determinada. A glicose oxidase catalisa a reação a seguir:



O peróxido de hidrogênio formado reage com 4-aminoantipirina e fenol, sob ação catalisadora da peroxidase, por reação oxidativa de acoplamento, formando uma antipirilquinonimina vermelha cuja intensidade de cor é proporcional à concentração da glicose na amostra.

2.3.3. Glicogênio hepático e muscular

As concentrações de glicogênio do fígado e músculo foram determinadas por hidrólise alcalina seguida por precipitação com etanol de acordo com metodologia adaptada de Bidinotto et al. (1997) e posterior determinação da glicose pelo método fenol-sulfúrido de DuBoie (1956). Foram utilizadas alíquotas de 200 mg de fígado e 400 mg de músculo homogeneizado com tampão fosfato pH 7,0; 0,01M, submetidas à digestão com 1 mL de hidróxido de potássio 6M em banho-maria. Alíquotas de 250 μ L digeridas foram precipitadas com 3 mL de etanol 95% e 100 μ L de sulfato de potássio 10%. As amostras foram centrifugadas a 3.000 rpm por 5 minutos sendo então o precipitado solubilizado em água e usado para determinação da glicose. Na reação fenol-sulfúrica 0,5 mL da amostra foi adicionada a 0,5 mL de fenol 5% e 2,5 mL de

ácido sulfúrico concentrado, sendo submetida a leitura em espectrofotômetro a 490 nm. Os valores foram determinados por curva de referência de solução de glicose 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e os valores de glicogênio expressos em μmol de glicosil-glicose por grama de tecido.

2.3.4. Atividade enzimática para transaminase pirúvica e oxalacética

A atividade das enzimas foi determinada por kits comerciais (Labtest) específicos para tais enzimas. O princípio de determinação do kit se dá pela leitura em espectrofotômetro de coloração característica do produto resultante da reação de catálise da transaminase pirúvica (GPT/ALT), que transfere os grupos amina da alanina para o α -cetoglutarato, com formação de glutamato e piruvato, o qual é reduzido a lactato por ação da lactato desidrogenase (LDH), enquanto que a coenzima NADH é oxidada a NAD. A consequente leitura da absorbância em 340 nm é diretamente proporcional à atividade da enzima na amostra. O mesmo princípio aplica-se para a transaminase oxalacética (GOT/AST) que sofre transaminação a glutamato e oxalacetato, o qual é reduzido a malato pela malato desidrogenase (MDH) com a consequente oxidação da coenzima NADH em NAD que pode ser lida em espectrofotômetro a 340 nm.

2.4. Índice lipossomático

A gordura visceral foi retirada e pesada dos dois peixes de cada tanque-rede sacrificados para as análises bioquímicas e enzimáticas. O índice lipossomático (ILS) no início do experimento, aos 30 e 60 dias foi determinado pela equação:

$$\text{ILS} = (\text{peso gordura/peso corporal}) \times 100$$

2.5. Análise Estatística

Os resultados foram submetidos a análise de variância para o modelo de medidas repetidas no tempo no esquema de dois fatores independentes complementada com o teste de comparações múltiplas de Bonferroni, considerando o nível de 5% de significância (Johnson & Wichern, 2002).

3. Resultados

3.1. Parâmetros de desempenho

Não houve diferença significativa para o peso aos 0, 30 e 60 dias, sendo que os valores encontrados foram 45,92 g; 60,94 g e 73,73 g, respectivamente, para os peixes alimentados com 28% de proteína na menor frequência; e 45,48 g; 60,26 g e 75,53 g para a dieta contendo 32% de proteína na menor frequência. Para a frequência de 24 vezes ao dia, a média de peso encontrada foi 45,72 g; 50,90 g e 73,18 g para 28% de proteína na dieta e 45,72 g; 62,11 g e 75,40 g para 32%, aos 0, 30 e 60 dias respectivamente.

3.2. Parâmetros bioquímicos do sangue

Os valores para glicose sanguínea estão apresentados na Tabela 2 variando ($P < 0,05$) durante o período para 28% de proteína quando fixada a menor frequência alimentar. Após os 30 dias, na maior frequência quando fixada a proteína de 32% na dieta a concentração de glicose no sangue foi maior, $102,08 \text{ mg dL}^{-1}$ contra $72,33 \text{ mg dL}^{-1}$ para a frequência de três vezes ao dia ($P < 0,05$).

Os níveis de proteína total circulante no sangue não variaram aos 30 dias de experimento para 95% de confiança (Tabela 3) nas diferentes frequências e níveis de proteína na dieta. Contudo, os valores encontrados para 28% e 32% de proteína quando fixada a maior frequência foram diferentes no período inicial; e para a menor frequência foram diferentes após 60 dias ($P < 0,05$), evidenciando que a quantidade de proteína circulante aumentou durante o experimento quando utilizada a menor frequência alimentar.

3.3. Atividade enzimática

A atividade da enzima alanina aminotransferase (ALT) apresentada aos 30 dias, que variou de $2,65 \text{ UI mL}^{-1}$ a $13,52 \text{ UI mL}^{-1}$ com menor nível de proteína na dieta quando fixada a baixa frequência, cessou aos 60 dias de experimento. Do mesmo modo, a atividade de $37,00 \text{ UI mL}^{-1}$ apresentada para maior frequência com menor nível de proteína na dieta no início do experimento não representa valor expressivo e cessou nos períodos analisados subsequentemente (Tabela 4). Contudo, os valores médios,

mínimos e máximos para atividade da aspartato aminotransferase (AST) apresentaram diferença ($P<0,05$), aumentando a atividade ao longo do período experimental quando alimentados com a dieta com 28% de proteína na maior frequência alimentar. Houve diferença ($P<0,05$) para a atividade enzimática após 30 dias entre os níveis de proteína quando fixada a maior frequência alimentar. Após 60 dias a maior frequência também diferiu da menor quando fixado o nível de 28% de proteína na dieta (Tabela 5).

3.4. Índice lipossomático

A gordura visceral, avaliada pelo índice lipossomático (ILS), não sofreu alteração ($P>0,05$) durante o período do experimento nos diferentes tratamentos para maior frequência alimentar. A Tabela 6 mostra valores para o ILS aos 0, 30 e 60 dias, evidenciando aumento de gordura visceral ($P<0,05$) somente para os animais alimentados com maior nível de proteína na dieta na menor frequência aos 60 dias.

3.5. Parâmetros bioquímicos no fígado

A proteína total no fígado apresentou comportamento semelhante para animais alimentados com baixa frequência, tanto para 28% quanto para 32% de proteína na dieta, diminuindo na metade do período e voltando a aumentar posteriormente (Figura 7). Já, nos peixes alimentados com a maior frequência alimentar o aumento da proteína hepática foi constante ao longo do período experimental. O coeficiente de variação, que significa o quanto os valores se afastaram da média, foi bastante diferente entre os tratamentos ao longo do experimento, sendo maior nos tratamentos com 28% de proteína e alta frequência; e 32% de proteína e baixa frequência alimentar após 30 dias de tratamento (Tabela 7), evidenciando menor uniformidade entre as médias dos tratamentos.

Os valores encontrados para o coeficiente de variação do glicogênio hepático foi maior para os animais alimentados menos vezes ao dia com menor nível de proteína na dieta após 30 e 60 dias, sugerindo menor homogeneidade do tratamento (Tabela 7), com tendência de maior concentração do glicogênio ao final do experimento para os peixes alimentados com menor frequência e menos proteína; e queda do glicogênio hepático para o tratamento em que os animais foram alimentados na maior frequência com 32% de proteína aos 60 dias (Figura 6).

3.6. Parâmetros bioquímicos no músculo

O coeficiente de variação para proteínas totais no músculo foi menor mostrando maior homogeneidade entre os tratamentos (Tabela 8). Evidenciando valores altos somente para os peixes alimentados com 28% de proteína na menor frequência após 30 dias e no início do experimento para os animais alimentados com 28% de proteína e maior frequência. Os menores valores de coeficiente de variação para a proteína muscular foram 0,03 e 0,01, ambas para os tratamentos em que a maior frequência foi usada. Os valores de coeficiente de variação calculados para o glicogênio muscular foram altos para todos os tratamentos (Tabela 8).

Os níveis de glicogênio muscular foram menores que os encontrados para glicogênio hepático (Figura 8). Ao mesmo tempo a concentração de proteína no músculo permaneceu semelhante ao longo dos períodos entre os tratamentos (Figura 9) com tendência a diminuir para os peixes alimentados com menor nível de proteína na menor frequência alimentar e no tratamento com 32% de proteína e maior frequência de alimentação para 60 dias.

4. Discussão

O aumento da atividade da enzima aspartato aminotransferase (AST) para os animais alimentados na maior frequência com menor nível de proteína na dieta sugere alterações no metabolismo, que podem envolver síntese proteica ou catabolismo destas moléculas como substrato energético. Contudo qual via os produtos das reações de transaminação apresentaram não foi definida, pois seriam necessárias medidas das enzimas relacionadas à biossíntese ou ao catabolismo dos aminoácidos, como a glutamato desidrogenase.

Como não houve influência do nível de proteína para a menor frequência na atividade enzimática, entende-se que o aumento da proteína na dieta aos 30 dias não foi imperativo para atender as demandas metabólicas quando utilizada maior frequência de alimentação. O que pode ser confirmado pelas médias de peso aos 60 dias, que demonstrou que o aumento de frequência alimentar compensou a menor quantidade de proteína na dieta, pois não houve diferença para o peso final. O aumento da atividade

enzimática na maior frequência para a dieta com 28% de proteína sugere melhor aproveitamento metabólico. De mesmo modo, não houve diferença no acúmulo de gordura visceral para os peixes tratados na maior frequência.

Leggatt et al. (2009) constataram aumento da atividade da enzima aspartato aminotransferase (AST) no fígado do salmão transgênico no gene GH (hormônio do crescimento), quando comparados ao não transgênico e não encontraram diferença para atividade da enzima alanina aminotransferase (ALT), quando este era alimentado com dietas contendo diferentes níveis de proteína, assim como no presente estudo. Por outro lado, Melo et al. (2006) observaram valores crescentes das atividades da ALT e da AST com o crescente nível de proteína na dieta de jundiá correlacionando tais atividades com o aumento do ganho de peso; diferentemente do encontrado neste trabalho, no qual somente a aspartato aminotransferase (AST) apresentou níveis crescentes de atividade para o menor nível de proteína na dieta fixada a maior frequência, enquanto a alanina aminotransferase (ALT) não apresentou atividade. A ausência de atividade da ALT pode estar relacionada à preferência metabólica nos peixes pela via oxalacetato-malato, referente à transaminação do aspartato. Pérez-Jiménez et al. (2012) relataram que, quando privados de alimento, as atividades para ALT diminuíram e para a AST aumentaram no *Dentex dentex*, sendo que com a falta de nutrientes os peixes preferiram a via do oxalacetato para obtenção de energia. Peres e Oliva-Teles (2007) não encontraram efeito significativo de dietas contendo diferentes perfis de aminoácidos nas atividades das enzimas do metabolismo do nitrogênio para o robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*).

Como o aumento da atividade enzimática ocorreu somente na maior frequência estudada, os aminoácidos da dieta podem estar sendo melhor aproveitados, tanto para a síntese proteica, como para formação de intermediários do ciclo de Krebs para produção de energia. Houve tendência de aumento do glicogênio hepático para os peixes alimentados menos vezes ao dia. Vieira et al. (2005) encontraram maior concentração de glicogênio hepático para matrinxã (*Brycon cephalus*) alimentados com menores níveis de proteína na dieta e mais proteína no fígado quando oferecida mais proteína na alimentação. Contudo não encontraram diferença significativa para a quantidade de proteína muscular. O aumento da proteína na dieta e decréscimo de carboidratos estimulou o catabolismo de açúcares e gorduras no músculo e fígado para satisfazer

demandas energéticas, não recomendando níveis maiores que 34% de proteína bruta para o matrinxã. Do mesmo modo, no presente estudo, a dieta com menor nível de proteína continha maior quantidade de carboidrato, estimulando o catabolismo de açúcares evidenciado pela maior concentração de glicose plasmática na menor frequência para a dieta com 28% de proteína. Sendo que a maior frequência interferiu no aproveitamento energético, aumentando a concentração de glicose na dieta com 32% de proteína.

O fígado é o órgão que utiliza, produz e armazena a glicose do organismo na forma de glicogênio, regulando os níveis de glicose no sangue (Moon e Foster, 1995). Abdel-Tawwab et al. (2010) estudaram o efeito do nível de proteína na dieta e peso corporal em tilápias do Nilo, observando efeito significativo nas atividades das enzimas aspartato e alanina aminotransferase no soro, fígado e músculo, e concluíram que o excesso de proteína na dieta de alevinos e juvenis pode ser desaminada e usada como fonte de energia resultando em aumento da glicose sanguínea. No presente experimento, a glicose no sangue diminuiu com o aumento da proteína na dieta para a frequência alimentar de três vezes ao dia aos 30 dias, assim como foi maior para os peixes alimentados mais vezes ao dia para a dieta com 32% de proteína, isso associado à menor atividade da AST sugere que não houve necessidade da mobilização de aminoácidos para atender as demandas energéticas e, conseqüentemente, não é necessário o aumento do teor de proteína na dieta para suprir a demanda metabólica. Com a tendência nestes tratamentos, aos 30 dias, para o aumento da concentração de glicogênio hepático, é possível que a dieta esteja suprimindo a demanda energética e o excesso de glicose sendo armazenado na forma de glicogênio. Isso pode ser confirmado pelo aumento do índice lipossomático na dieta com maior nível de proteína e menor frequência aos 60 dias, sendo que o excesso de proteína pode estar suprimindo as demandas metabólicas e sendo acumulado na forma de gordura visceral. Do mesmo modo, a glicose plasmática aumentou para trutas (*Oncorhynchus mykiss*) alimentadas com a menor proteína na dieta segundo Kirchner et al. (2003). Este fato pode estar associado à grande capacidade de armazenar o excesso de glicose indicado pela atividade da piruvato quinase, glicocquinase, glicogênio hepático e concentração de gorduras. Contudo, para os autores, a atividade para as enzimas transaminases não foi afetada pelos tratamentos.

Os níveis de proteína plasmática foram maiores para os peixes alimentados com maior nível de proteína e menor frequência alimentar, evidenciando excesso de proteína circulante e, provavelmente o mau aproveitamento dos aminoácidos. A maior quantidade de proteína plasmática também pode estar ligada ao estresse pela temperatura. No presente experimento houve variação da temperatura durante o período estudado. Lermen et al. (2004) encontraram decréscimo da proteína total do fígado e músculo para jundiás expostos a estresse térmico, assim como decréscimo do glicogênio hepático e aumento da glicose e proteína plasmática.

Os valores basais de glicose dos estudos citados acima foi semelhante ao do presente experimento para os animais alimentados com maiores níveis de proteína na dieta, aproximadamente 65mg dL^{-1} . Entretanto, os níveis de glicose no sangue dos peixes é diferente entre as diversas espécies (Stone, 2003; Enes et al., 2009). Estudos avaliando o efeito do jejum nos parâmetros de glicose sanguínea e glicogênio hepático e muscular, não encontraram diferença para os valores de glicose no sangue, embora o glicogênio hepático tenha diminuído durante o jejum, retornando aos níveis normais após os peixes voltarem a se alimentar, sem efeito significativo para o glicogênio muscular (Barcellos et al., 2010). Os mesmo autores concluíram ser o glicogênio a primeira fonte de energia e não os aminoácidos durante períodos de restrição alimentar. Estes resultados podem demonstrar que a maior frequência de alimentação também pode ser benéfica para o estado nutricional dos peixes, pois estes conseguem, assim, acesso ao alimento por maior período de tempo. Lundstedt et al. (2004) constataram que o perfil metabólico do músculo não foi alterado pelo nível de proteína na dieta de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*). Por outro lado o glicogênio hepático foi maior para o tratamento contendo 30% de proteína bruta na sua composição, diminuindo com o aumento da proteína na dieta.

Os parâmetros bioquímicos são alterados pela quantidade de proteína dietética e pela frequência de alimentação. Conclui-se que a maior frequência de alimentação pode melhorar o aproveitamento da ração usando menor nível de proteína, sugerindo que o aporte de aminoácidos esta sendo suficiente para suprir as demandas proteicas e energéticas.

5. Referências

- Abdel-Tawwab, M., Ahmad, M.H., Khattab, Y.A.E., Shalaby, A.M.E., 2010. Effect of dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 298, 267-274.
- Barcellos, L.J.G., Marqueze, A., Trapp, M., Quevedo, R.M., Ferreira, D., 2010. The effects of fasting on cortisol, blood glucose and liver and muscle glycogen in adult jundiá *Rhamdia quelen*. *Aquaculture* 300, 231-236.
- Bidinotto, P. M., Moraes, G., Souza, R.H.S., 1997. Hepatic glycogen and glucose in eight tropical fresh water teleost fish: a procedure for field determination of micro samples. *Bol. Tec. CEPTA*, 10, 53-60.
- Botaro, D., Furuya, W.M., Silva, L.C.R., Santos, L.D., Silva, T.S.C., Santos, V.G., 2007. Redução da proteína da dieta com base no conceito de proteína ideal para tilápias-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) criadas em tanques-rede. *Rev. Bras. Zootec.* 36, 517-525.
- Cunha, M.A., Zeppenfeld, C.C.; Garcia, L.O.; Loro, V.L., Fonseca, M.B., Emanuelle, T., Veeck, A.P.L., Copatti, C.E., Baldisserotto, B., 2010. Anesthesia of silver catfish with eugenol: time of induction, cortisol response and sensory analysis of fillet. *Cienc. Rural.* 40, 2107-2114.
- Dabrowski, K., Guderley, H., 2002. Intermediary Metabolism. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. *Fish Nutrition*, third ed. Elsevier Science, San Diego.
- DuBoie, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F., 1956. Colorimetric methods for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28, 350-358.
- Enes, P., Panserat, S., Kaushik, S., Oliva-Teles, A., 2009. Nutritional regulation of hepatic glucose metabolism in fish. *Fish Physiol. Biochem.* 35, 519-539.
- Fernandes Junior, A.C., Pezzato, L.E., Guimarães, I.G., Teixeira, C.P., Koch, J.F.A., Barros, M.M., 2010. Resposta hemática de tilápias-do-nilo alimentadas com dietas suplementadas com colina e submetidas a estímulo por baixa temperatura. *Rev. Bras. Zootec.* 39, 1619-1625.
- Gornall, A. G., Bardawill, C. J., David, M. M., 1949. Determination of serum protein by means of biuret reaction. *J. Biol. Chem.* 177, 751-766.
- Jobling, M., 1994. *Fish Bioenergetics*. Chapman & Hall, London.
- Johnson, R.A., Wichern, D.W., 2002. *Applied Multivariate Statistical Analysis*, five ed. Prentice Hall, New Jersey.
- Kirchner, S., Kaushik, S., Panserat, S., 2003. Low protein intake is associated with reduced hepatic gluconeogenic enzyme expression in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Nutr.* 133, 2561-2564.

- Leggatt, R.A., Raven, P.A., Mommsen, T.P., Sakhrani, D., Higgs, D., Devlin, R.H., 2009. Growth hormone transgenesis influences carbohydrate, lipid and protein metabolism capacity for energy production in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Comp. Biochem. Physiol. B* 154, 121-133.
- Lermen, C.L., Lappe, R., Crestani, M., Vieira, V.P., Gioda, C.R., Schetinger, M.R.C., Baldisserotto, B., Moraes, G., Morsch, V.M., 2004. Effect of different temperature regimes on metabolic and blood parameters of silver catfish *Rhamdia quelen*. *Aquaculture* 239, 497-507.
- Lundstedt, L.M., Melo, J.F.B., Moraes, G., 2004. Digestive enzymes and metabolic profile of *Pseudoplatystoma corruscans* (Teleostei: Siluriformes) in response o diet composition. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 137, 331-339.
- Melo, J.F.B., Lundstedt, L.M., Metón, I., Baanante, I.V., Moraes, G., 2006. Effects of dietary levels of protein in nitrogenous metabolism of *Rhandia quelen* (Teleostei: Pimelodidae). *Comp. Biochem. Physiol. A*, 145, 181-187.
- Moon, T.W., Foster, G.D., 1995. Tissue carbohydrate metabolism, gluconeogenesis and hormonal and environmental influences. In: Hochachka, P.W., Mommsen, T.P. (Eds.), *Metabolic Biochemistry, and Molecular Biology of Fishes*, vol. 4. Elsevier, Amsterdam, pp. 65-100.
- Moro, G.V., Camilo, R.Y., Moraes, G., Fracalossi, D.M., 2010. Dietary non-protein energy sources: growth, digestive enzyme activities and nutriente utilization by the catfish jundiá, *Rhamdia quelen*. *Aquac. Res.*, 41, 394-400.
- Oliveira, F.A., 2007. Taxas e intervalos de alimentação na produção de tilapia em tanque-rede com dispensador automático de ração, Master's Thesis Univ. Estadual Paulista, Botucatu. 81 p.
- Peres, H., Oliva-Teles, A., 2007. Effect of dietary essential amino acid pattern on growth, fed utilization and nitrogen metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 267, 119-128.
- Pérez-Jiménez, A., Cardenete, G., Hidalgo, M.C., García-Alcázar, A., Abellán, E., Morales, A.E., 2012. Metabolic adjustments of *Dentex dentex* to prolonged starvation and refeeding. *Fish Physiol. Biochem.* DOI 10.1007/s10695-011-9600-2.
- Phillips, T.A., Summerfelt, R.C., Clayton, R.D., 1998. Feeding frequency effects on water quality and growth of walleye fingerlings in intensive culture. *Progr. Fish-Cult.* 60, 1-8.
- Rodrigues, A.P.O., Gominho-Rosa, M.D.C., Cargnin-Ferreira, E., de Francisco, A., Fracalossi, D.M., 2012. Different utilization of plant sources by the omnivores jundiá catfish (*Rhamdia quelen*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) *Aquac. Nutrit.*, 18, 65-72.
- Sousa, R.M.R., Agostinho, C.A., Oliveira, F.A., Argentim, D., Novelli, P.K., Agostinho, S.M.M., 2012. Productive performance of Nile tilapia (*Oreochromis*

niloticus) fed at different frequencies and periods with automatic dispenser. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 64, 192-197.

Stone, D.A.J., 2003. Dietary carbohydrate utilization by fish. Rev. Fish. Sci. 11, 337-369.

Vieira, V.P., Inoue, L.A.K., Moraes, G., 2005. Metabolic responses of matrinxã (*Brycon cephalus*) to dietary protein level. Comp. Bioch. Physiol. A, 140, 337-342.

6. Lista de Tabelas

Tabela 1

Ingredientes e composição das dietas experimentais.

	Dietas	
	28%	32%
<i>Ingredientes (%)</i>		
Soja, farelo	28,41	28,75
Milho, glúten-60	0,30	6,45
Amendoim, farelo	22,50	25,00
Trigo, farelo	9,91	3,75
Soja, óleo	2,23	6,07
Arroz, quirera	31,37	24,79
DL-metionina	0,30	0,32
L-lisina	0,11	0,32
L-treonina	-	0,02
Fosfato bicálcico	3,21	2,86
BHT	0,02	0,02
Premix Vit e min	1,50	1,50
Vit. C	0,05	0,05
NaCl	0,10	0,10
Total	100,0	100,0
<i>Composição calculada</i>		
PB (%)	28,00	32,00
ED (kcal kg ⁻¹)	2884,00	3296,00
FB (%)	4,67	4,50
EE (%)	4,00	7,83
Ca (%)	0,97	0,88
P total (%)	1,00	0,91
Lys (%)	1,62	1,86
Met (%)	0,60	0,68
Thr (%)	0,84	0,96
Trp (%)	0,30	0,30

PB-proteína bruta; ED-energia digestível; FB-fibra bruta; EE-estrato etéreo; Ca-cálcio; P-fósforo; Lys-lisina; Met-metionina; Thr-treonina; Trp-triptofano; NaCl-cloreto de sódio (sal).

Tabela 2

Média e desvio padrão da glicose (mg dL⁻¹) segundo frequência e proteína na dieta em diferentes momentos.

Frequência	Proteína	Momento de avaliação		
		0 dias	30 dias	60 dias
F3	P28	103,42(7,74)bAβ	93,75(8,62)bAαβ	80,33(12,06)aAα
F3	P32	65,50(4,86)aAα	72,33(17,03)aAα	68,33(19,31)aAα
F24	P28	90,58(18,21)aAαβ	94,50(12,82)aAβ	70,33(22,46)aAα
F24	P32	77,75(22,85)aAα	102,08(23,69)aBα	79,58(13,09)aAα

Letras minúsculas nas colunas comparam os níveis de proteína da dieta fixados a frequência e o momento de avaliação; Letras maiúsculas nas colunas comparam as frequências alimentares fixados a proteína e o momento de avaliação; Letras gregas nas linhas comparam os momentos de avaliação fixados a frequência e a proteína da dieta. (P<0,05)

Tabela 3

Média e desvio padrão para proteína plasmática (mg mL^{-1}) segundo frequência alimentar e proteína da dieta em diferentes momentos.

Frequência	Proteína	Momento de avaliação		
		0 dias	30 dias	60 dias
F3	P28	21,47(4,00)aA α	28,67(10,14)aA α	19,16(1,83)aA α
F3	P32	22,59(3,78)aA α	33,24(16,12)aA α	22,38(3,64)bA α
F24	P28	18,99(1,92)aA α	33,14(19,56)aA α	20,18(1,93)aA α
F24	P32	24,53(3,30)bA α	36,09(21,07)aA α	22,12(2,72)aA α

Letras minúsculas nas colunas comparam os níveis de proteína da dieta fixados a frequência e o momento de avaliação; Letras maiúsculas nas colunas comparam as frequências alimentares fixados a proteína e o momento de avaliação; Letras gregas nas linhas comparam os momentos de avaliação fixados a frequência e a proteína da dieta. ($P < 0,05$).

Tabela 4

Mediana e valores mínimo e máximo de atividade da alanina aminotransferase (UI mL⁻¹) segundo frequência e proteína nos diferentes momentos de avaliação.

Frequência	Proteína	Momento de avaliação		
		0 dias	30 dias	60 dias
F3	P28	0,00(0,00;0,00)aAα	12,22(2,65;13,52)bBβ	0,00(0,00;0,00)aAα
F3	P32	0,00(0,00;0,00)aAα	0,00(0,00;0,00)aAα	0,00(0,00;0,00)aAα
F24	P28	37,00(36,57;50,91)Bbβ	0,00(0,00;0,00)aAα	0,00(0,00;0,00)aAα
F24	P32	0,00(0,00;0,00)aAα	0,00(0,00;0,00)aAα	0,00(0,00;0,00)aAα

Letras minúsculas nas colunas comparam os níveis de proteína da dieta fixados a frequência e o momento de avaliação; Letras maiúsculas nas colunas comparam as frequências alimentares fixados a proteína e o momento de avaliação; Letras gregas nas linhas comparam os momentos de avaliação fixados a frequência e a proteína da dieta. (P<0,05).

Tabela 5

Mediana e valores mínimo e máximo de atividade da enzima aspartato aminotransferase (UI mL⁻¹) segundo frequência e proteína nos diferentes momentos de avaliação.

Freq.	Prot.	Momentos de avaliação		
		0 dias	30 dias	60 dias
F3	P28	0,00(0,00;0,00)aA α	162,88(146,41;175,24)aA β	94,65(87,00;99,94)aA β
F3	P32	0,53(0,00;16,41)aA α	114,65(94,06;115,82)aA β	104,06(101,71;131,71)aA β
F24	P28	71,12(65,24;80,53)bB α	194,65(176,41;201,71)bA β	142,88(139,35;144,65)aB $\alpha\beta$
F24	P32	2,29(0,0a0;21,71)aA α	101,71(88,77;111,71)aA β	107,59(104,06;109,35)aA β

Freq.: frequência alimentar; Prot.: proteína na dieta.

Letras minúsculas nas colunas comparam os níveis de proteína da dieta fixados a frequência e o momento de avaliação; Letras maiúsculas nas colunas comparam as frequências alimentares fixados a proteína e o momento de avaliação; Letras gregas nas linhas comparam os momentos de avaliação fixados a frequência e a proteína da dieta. (P<0,05).

Tabela 6

Média e desvio padrão do ILS (%) segundo frequência alimentar e proteína da dieta nos momentos de avaliação.

Frequência	Proteína	Momento de avaliação		
		0 dias	30 dias	60 dias
F3	P28	1,93(0,97)aA α	1,57(0,52)aA α	0,94(0,48)aA α
F3	P32	1,77(0,42)aA α	1,42(0,55)aA α	1,85(0,73)bA α
F24	P28	1,70(0,60)aA α	1,57(0,65)aA α	1,50(0,52)aA α
F24	P32	1,83(0,47)aA α	1,74(0,78)aA α	1,78(1,09)aA α

ILS-índice lipossomático

Letras minúsculas nas colunas comparam os níveis de proteína da dieta fixados a frequência e o momento de avaliação; Letras maiúsculas nas colunas comparam as frequências alimentares fixados a proteína e o momento de avaliação; Letras gregas nas linhas comparam os momentos de avaliação fixados a frequência e a proteína da dieta. ($P < 0,05$).

Tabela 7

Coeficientes de variação para proteína total (mg g^{-1}) e glicogênio ($\mu\text{mol glicose g}^{-1}$) no fígado nos diferentes momentos de avaliação.

Tratam.	Proteína Total			Glicogênio		
	0 dias	30 dias	60 dias	0 dias	30 dias	60 dias
F3P28	45,40	38,54	40,04	0,63	1,23	0,72
	48,39	31,26	59,53	0,60	0,53	1,54
	62,96	31,69	56,10	0,55	1,08	1,80
CV	0,19	0,13	0,19	0,06	0,34	0,37
F3P32	66,38	32,98	49,04	0,27	0,81	1,05
	60,60	20,77	33,62	0,35	1,06	0,85
	61,88	22,06	30,62	0,66	0,83	0,72
CV	0,05	0,30	0,29	0,58	0,17	0,20
F24P28	29,12	57,17	63,81	0,90	1,67	1,48
	25,91	42,61	62,53	1,02	1,24	1,34
	39,19	30,41	43,68	2,17	1,12	0,77
CV	0,24	0,31	0,18	0,69	0,23	0,28
F24P32	40,90	56,32	52,46	1,37	1,33	0,72
	36,62	51,82	38,54	0,92	1,09	0,49
	47,75	49,68	54,60	1,13	1,19	0,54
CV	0,14	0,07	0,17	0,20	0,10	0,22

F3P28: 3 vezes ao dia/28%PB; F3P32: 3 vezes ao dia/32%PB; F24P28: 24 vezes ao dia/28%PB; F24P32: 24 vezes ao dia/32%PB.

CV: coeficiente de variação

Tabela 8

Coeficientes de variação para proteína total (mg g^{-1}) e glicogênio ($\mu\text{mol glicose g}^{-1}$) no músculo nos diferentes momentos de avaliação.

Tratam.	Proteína Total			Glicogênio		
	0 dias	30 dias	60 dias	0 dias	30 dias	60 dias
F3P 28	33,83	25,27	24,41	0,11	0,24	0,24
	31,26	28,91	25,05	0,12	0,13	0,18
	29,55	38,54	22,70	0,30	0,21	0,28
CV	0,07	0,24	0,05	0,88	0,27	0,21
F3P32	31,26	30,19	30,62	0,12	0,14	0,20
	29,12	29,76	30,62	0,12	0,19	0,10
	32,98	34,69	33,62	0,11	0,19	0,19
CV	0,06	0,09	0,06	0,05	0,17	0,27
F24P28	24,63	34,26	31,26	0,09	0,22	0,11
	28,27	35,55	33,40	0,15	0,20	0,21
	34,26	33,40	32,33	0,09	0,21	0,26
CV	0,17	0,03	0,03	0,41	0,05	0,37
F24P32	30,19	32,76	25,91	0,10	0,22	0,22
	26,34	33,40	25,70	0,08	0,20	0,16
	29,76	39,40	26,34	0,11	0,13	0,24
CV	0,07	0,11	0,01	0,13	0,23	0,20

F3P28: 3 vezes ao dia/28%PB; F3P32: 3 vezes ao dia/32%PB; F24P28: 24 vezes ao dia/28%PB; F24P32: 24 vezes ao dia/32%PB.

CV: coeficiente de variação

7. Legenda de figuras

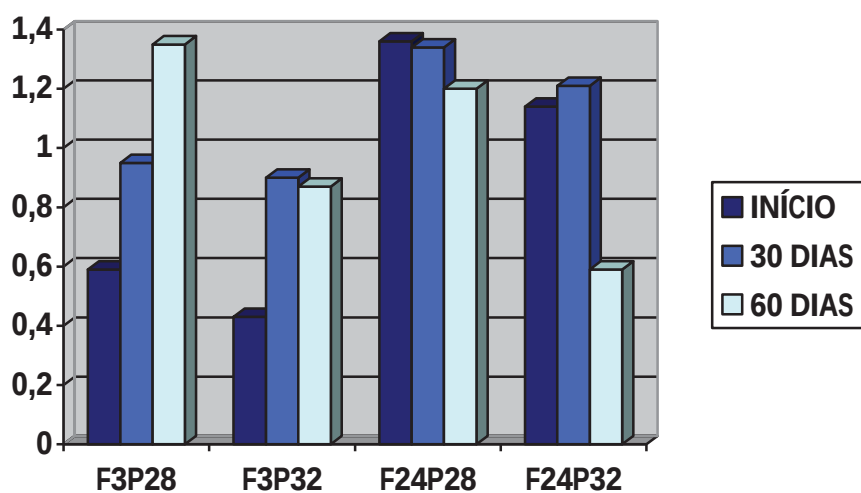
Figura 5

Dispensadores automáticos de reação instalados sobre os tanques-rede no viveiro.



Figura 6

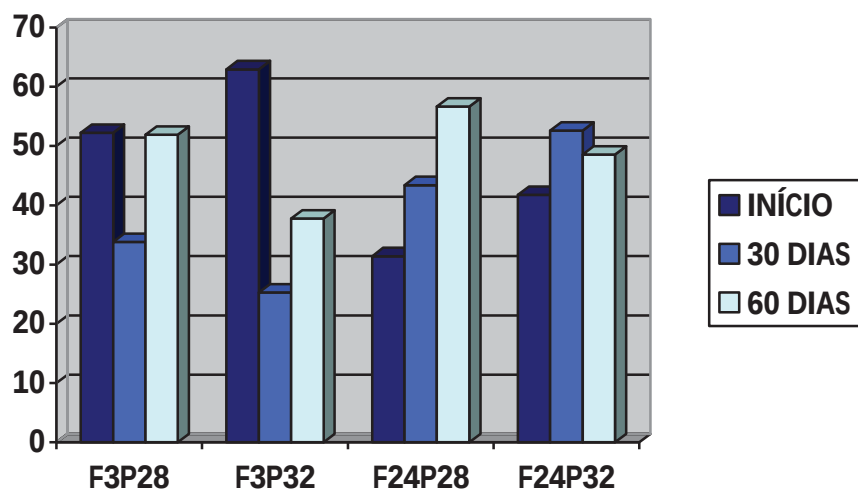
Concentração de glicogênio hepático ($\mu\text{mol glicose g}^{-1}$) de jundiás alimentados com diferentes frequências de alimentação e níveis de proteína na dieta durante 60 dias.



F3P28: 3 vezes ao dia/28%PB; F3P32: 3 vezes ao dia/32%PB; F24P28: 24 vezes ao dia/28%PB; F24P32: 24 vezes ao dia/32%PB.

Figura 7

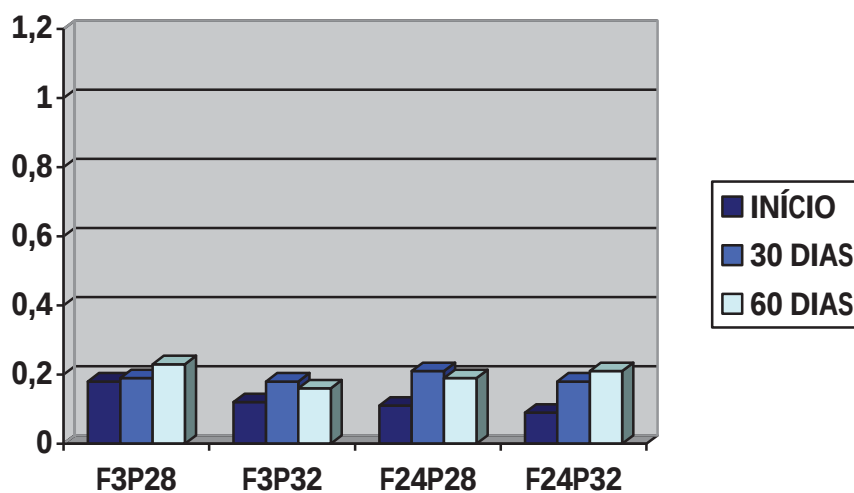
Proteína total do fígado (mg g^{-1}) de jundiás alimentados com diferentes frequências e níveis de proteína na dieta durante 60 dias.



F3P28: 3 vezes ao dia/28%PB; F3P32: 3 vezes ao dia/32%PB; F24P28: 24 vezes ao dia/28%PB; F24P32: 24 vezes ao dia/32%PB.

Figura 8

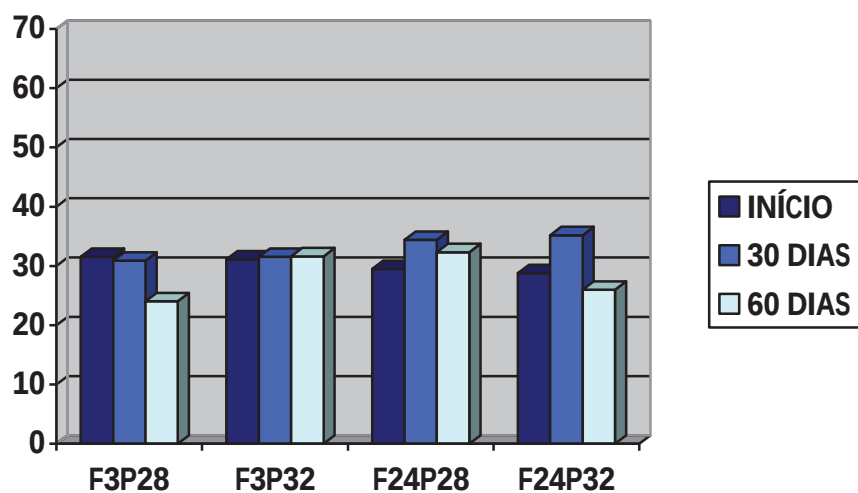
Concentração de glicogênio ($\mu\text{mol glicose g}^{-1}$) no músculo de jundiás alimentados com diferentes frequências de alimentação e níveis de proteína na dieta durante 60 dias.



F3P28: 3 vezes ao dia/28%PB; F3P32: 3 vezes ao dia/32%PB; F24P28: 24 vezes ao dia/28%PB; F24P32: 24 vezes ao dia/32%PB.

Figura 9

Proteína total do músculo (mg g^{-1}) de jundiás alimentados com diferentes frequências e níveis de proteína na dieta durante 60 dias.



F3P28: 3 vezes ao dia/28%PB; F3P32: 3 vezes ao dia/32%PB; F24P28: 24 vezes ao dia/28%PB; F24P32: 24 vezes ao dia/32%PB.

CAPÍTULO III

CONSIDERAÇÕES FINAIS

1. Implicações

A maior frequência de alimentação pode melhorar o aproveitamento da ração usando um menor nível de proteína. Contudo a utilização de nutrientes adequados e balanceados é necessária para que os peixes atinjam desempenho satisfatório e parâmetros metabólicos normais. Assim sendo, os estudos relacionados ao metabolismo dos peixes e nutrientes dietéticos necessitam ser continuados e correlacionados ao seu desempenho e viabilidade econômica.

2. Dificuldades metodológicas encontradas

As análises dos parâmetros metabólicos hepático e muscular foram feitas com o “pool” destes órgãos de cada tratamento e fazendo-se a triplicata em laboratório. A repetição não foi considerada, pois os volumes coletados não foram suficientes para as metodologias utilizadas, fazendo-se necessário o “pool” do material coletado. Foi utilizada então a estatística descritiva, usando-se somente o coeficiente de variação entre as médias para descrever os resultados de tais parâmetros. Novas análises são necessárias para avaliação das reais diferenças entre as médias. Portanto os valores apresentados não expressam diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos.

O trabalho faz parte de um estudo multidisciplinar no qual os parâmetros de desempenho e digestibilidade foram apresentados mais detalhadamente em outra dissertação.