

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP**

**METABOLISMO DE CARBOIDRATOS E  
EFEITO POUPADOR DE PROTEÍNA PARA O  
TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)**

**Gabriela Castellani Carli**

Jaboticabal, São Paulo  
2021

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP  
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP**

**METABOLISMO DE CARBOIDRATOS E  
EFEITO POUPADOR DE PROTEÍNAS PARA  
O TAMBACUI (*Colossoma macropomum*)**

**Gabriela Castellani Carli**

**Orientador: Dr. Leonardo Susumu Takahashi**

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

Jaboticabal, São Paulo.  
2021

Carli, Gabriela Castellani  
C282m Metabolismo de Carboidratos e efeito poupador de proteínas para o  
tambaqui (*Colossoma macropomum*) / Gabriela Castellani Carli. --  
Jaboticabal, 2021  
xiii, 58 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de  
Aqüicultura, 2021  
Orientador: Leonardo Susumu Takahashi  
Banca examinadora: Cristiéle da Silva Ribeiro, Jony Koji Dairiki  
Bibliografia

1. Peixe. 2. Nutrição. 3. Energia não proteica. 4. Glicólise. 5. Lipogênese.  
I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aqüicultura.

CDU 639.3.043



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



### CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: Metabolismo de carboidratos e efeito poupador de proteínas para o tambaqui (*Colossoma macropomum*)

**AUTORA: GABRIELA CASTELANI CARLI**

**ORIENTADOR: LEONARDO SUSUMU TAKAHASHI**

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

Prof. Dr. LEONARDO SUSUMU TAKAHASHI (Participação Virtual)

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

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

Departamento de Biologia e Zootecnia / UNESP/Câmpus de Ilha Solteira

Pesquisador Dr. JONY KOJI DAIRIKI (Participação Virtual)

EMBRAPA / Amazônia Ocidental – Manaus/AM

Jaboticabal, 05 de março de 2021

## **DADOS CURRÍCULARES DO AUTOR**

**GABRIELA CASTELLANI CARLI** – nasceu em Dacena, SP no dia 05 de agosto de 1994. Em março de 2012 ingressou no curso de Química da Universidade Estadual de Londrina, PR, realizando cursos e iniciações científicas nas áreas de química analítica e biotecnologia com bolsas financiadas pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) e trabalho de conclusão de curso com tema “Extrusão reativa para a extração de celulose da casca de aveia” na área de biotecnologia, orientada pela professora Dra. Suzana Mali de Oliveira. Em março de 2016, graduou-se em bacharelado em Química. Em março de 2019, ingressou no curso de Mestrado em Aquicultura no Centro de Aquicultura da UNESP, Jaboticabal - SP, sob orientação do Prof. Dr. Leonardo Susumu Takahashi, com bolsa do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ).

“  
Não vês que somos viajantes?  
E tu me perguntas:  
Que é viajar?  
Eu respondo com uma palavra: é avançar!  
Experimentais isto em ti  
Que nunca te satisfaças com aquilo que és  
Para que sejas um dia aquilo que ainda não és.  
Avança sempre! Não fiques parado no caminho.”  
Santo Agostinho

***Dedico,**  
Este trabalho a Deus, a minha família e amigos que me acompanharam durante esta  
trajetória.*

## **AGRADECIMENTOS**

*Hoje quero agradecer a todos por esta etapa vencida, estando ciente de que sozinhos não conseguimos chegar a lugar algum. Não tenho dúvidas de que Deus esteve cuidando de todas as etapas de minha vida e me guiou até aqui. Sendo assim, eu agradeço primeiramente à Deus, pelo dom da vida e seu infinito amor por mim, sempre me trouxe tudo o que precisava no momento certo, me cercou de pessoas maravilhosas, tornando tudo mais fácil e prazeroso. Este realmente foi um grande desafio para mim, ingressar em uma área nova, mas hoje vejo o quanto tudo isto foi bom e o quanto eu tive oportunidade de crescer neste tempo.*

*Quero agradecer a todos envolvidos em tudo isto, a UNESP, Câmpus de Dracena e de Jaboticabal, ambas me acolheram muito bem, desde professores, até porteiros, faxineiros, auxiliares, técnicos, todos são demais e sou muito grata por sempre nos ajudar sem objeções. Vocês foram incríveis. Um agradecimento especial para o Márcio e Paulinho, eletricitas, Luis, Valdecir e Márcio (Perereca) técnicos de campo que me ajudaram nos momentos mais difíceis do experimento, sem vocês tudo seria muito mais difícil, deixo aqui o meu carinho e agradecimento.*

*Agradeço aos meus pais André e Rosana e ao meu irmão Mateus, pela minha vida e pelo que me tornei. Vocês com certeza são parte disto desde muito cedo, com todo sacrifício para me dar uma boa educação, dentro e fora de casa, pela presença de vocês em todas as etapas de minha vida, pelos exemplos e por toda preocupação depositada, tudo isto me fez tornar uma pessoa melhor, muito obrigada pelo que me tornei e por todo apoio sempre que precisei, vocês são demais! Obrigada por todos os conselhos e incentivos, e acima de tudo por acreditarem no meu potencial mesmo quando eu estivesse desanimada com alguma coisa, vocês sempre acharam que eu “dava conta”. Também quero agradecer a toda minha família, em especial avós Adelaide e Agenor por todo apoio, todo amor e orações que dedicaram a mim, vocês também foram a minha base desde pequena e com certeza essenciais para me tornar uma pessoa melhor, com humildade e honestidade. Meu tio César, tia Aparecida, primos Victor e Andreza, que sempre estiveram comigo e mesmo com o passar do tempo não deixaram de se preocupar, eu realmente não tenho palavras para agradecer tudo que vocês fizeram por mim, mas com certeza levo como meus pais e irmãos, vocês são especiais para mim.*

*Obrigada meu namorado, Paulo, por tanto! Meu parceiro, que sempre me ajudou em tudo que precisei, sem hesitar! Obrigada pela sua presença essencial, pelo seu carinho, companheirismo, pelas risadas, pelo conforto nos momentos difíceis, você sempre esteve presente. Obrigada por me incentivar e me apoiar em minhas decisões, por me ajudar sempre e pela forma que sempre me tratou. Te amo e admiro demais!*

*Ao meu orientador Leonardo Takahashi, por me aceitar no grupo, pela paciência e dedicação em nos ajudar sempre. Leo, você foi mais que um orientador, foi meu professor, amigo e conselheiro e te admiro muito pela forma como você sempre nos tratou. Você me permitiu crescer e aprender várias coisas, pelas responsabilidades que me colocou, sempre ajudando por trás de tudo, mas me fazendo buscar e aprender, isto realmente me tornou muito mais forte. Obrigada por nos entender e não nos julgar pelas nossas atitudes e decisões, deixo para você meus sinceros agradecimentos, admiração e amizade.*

*Agradeço ao grupo GAUD e labtilápia, por todo acolhimento e parceria. Aprendi muito com todos vocês. Vou sempre levar comigo cada pessoa que convivi com um carinho especial. Um agradecimento especial aos amigos Viviane, Luana, Jeisson e Thaise. Todos vocês colaboraram de alguma forma com tudo que eu aprendi e com os resultados da minha pesquisa, além do fato de serem as melhores companhias que eu pudesse ter ao longo deste tempo. Com vocês nunca teve tempo ruim, o trabalho sempre foi muito mais alegre, e agradeço a vocês por toda esta alegria e parceria transmitida, pelo fato de sempre poder contar com vocês em todo momento.*

*Agradeço a todos meus amigos, que me acompanharam durante esta trajetória e várias outras. A vida com amigos é muito mais feliz, e é muito confortante ter alguém para confiar e contar nas horas boas e ruins. Graças a Deus, Ele sempre colocou pessoas maravilhosas em minha volta, que sempre foram bondosas comigo e me ajudaram demais, obrigada a todos vocês, em especial Daniela, Gian, Willian, José, Nina, Tiago e Mariana, vocês são parte da minha família!!*

*Por fim, agradeço ao CNPq pela bolsa concedida.*

*Eu louvo e agradeço a Deus por ter me cercado de tanta gente maravilhosa como todos vocês. Eu agradeço imensamente por terem contribuído com a minha evolução. Vocês estarão sempre em meu coração, deixo aqui o meu MUITO OBRIGADA.*

# Sumário

Lista de Tabelas .....	X
Lista de Figuras .....	XI
CAPÍTULO 1 - Considerações Gerais .....	1
OBJETIVOS .....	14
REFERÊNCIAS .....	15
CAPÍTULO 2 – Metabolismo de carboidratos e efeito poupador de proteína para o tambaqui ( <i>Colossoma macropomum</i> ). .....	20
RESUMO .....	20
ABSTRACT .....	21
INTRODUÇÃO .....	22
<i>Comissão de Ética</i> .....	<b>24</b>
<i>Instalações e condições experimentais</i> .....	24
<i>Aclimação dos peixes</i> .....	25
<i>Formulação das dietas</i> .....	25
<i>Desempenho produtivo</i> .....	27
<i>Metabólitos do sangue</i> .....	27
<i>Atividade hepática de enzimas-chave das vias metabólicas</i> .....	28
<i>Reservas energéticas teciduais</i> .....	29
<i>Análise dos resultados</i> .....	29
RESULTADOS <i>Desempenho produtivo</i> .....	29
<i>Metabólitos do sangue</i> .....	30
<i>Atividade hepática de enzimas-chave das vias metabólicas</i> .....	32
<i>Reservas energéticas teciduais</i> .....	35
DISCUSSÃO .....	36
CONCLUSÃO .....	43
REFERÊNCIAS .....	44

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1</b> - Valores médios de parâmetros físico-químicos da água durante o período experimental .....	25
<b>Tabela 2</b> - Formulação e composição das dietas experimentais .....	26
<b>Tabela 3</b> - Valores médios e valores de P dos parâmetros de desempenho produtivo dos juvenis de tambaqui ( <i>Colossoma macropomum</i> ) após 90 dias de alimentação contendo níveis de proteínas e carboidratos.....	30
<b>Tabela 4</b> - Metabólitos sanguíneos dos juvenis de tambaqui alimentados com diferentes níveis de proteína e carboidratos na dieta.....	31
<b>Tabela 5</b> - Valores médios e valores de P das atividades de enzimas metabólicas dos juvenis de tambaqui ( <i>Colossoma macropomum</i> ) após 90 dias de alimentação contendo níveis de proteínas e carboidratos.....	33
<b>Tabela 6</b> - Valores médios e valores de P das reservas energéticas dos juvenis de tambaqui após 90 dias de alimentação contendo níveis de proteínas e carboidratos.....	35

## Lista de Figuras

<b>Figura 1</b> - Obtenção, utilização e estocagem da glicose no metabolismo.....	8
<b>Figura 2</b> - Metabólitos sanguíneos dos juvenis de tambaqui alimentados com níveis de proteína digestível e carboidratos na dieta.....	32
<b>Figura 3</b> - Atividades das enzimas-chave das vias metabólicas em juvenis de tambaqui alimentados com inclusões de proteína digestível e carboidratos na dieta.....	34
<b>Figura 4</b> - Reservas energéticas dos juvenis de tambaqui alimentados com diferentes níveis de proteína e carboidratos na dieta.....	36

## Comissão de Ética no Uso de Animais

## Certificado

Certificamos que a proposta intitulada "Metabolismo de carboidratos e efeito poupador de proteína da dieta para o tambaqui – *Colossoma macropomum*" (Carbohydrate metabolism and protein sparing effect of diet for tambaqui – *Colossoma macropomum*), registrada com o nº 16/2019.R2 – CEUA, sob a responsabilidade do(a) Prof(a). Dr(a). **Leonardo Susumu Takahashi** – que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de **pesquisa científica** – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas da UNESP - Câmpus de Dracena, em reunião de **02/12/2019**.

Dracena, 02 de dezembro de 2019.



Prof. Dr. Danilo Domingues Millen  
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais

## CAPÍTULO 1 - Considerações Gerais

A piscicultura é uma atividade em constante crescimento no Brasil e no mundo, e que ainda não atingiu seu potencial máximo de produção. Fatores como o crescimento da população e a busca por alimentos cada vez mais saudáveis tem impulsionado o aumento do consumo e produção de peixes em todo o mundo. A carne de peixe é reconhecida como um dos alimentos mais saudáveis do planeta, pois são as principais fontes de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa para o consumo humano (XU et al., 2019), proporcionando segurança alimentar e nutrição para a população (SOFIA, 2020).

Segundo os dados do IBGE, em 2018 a produção total brasileira de peixes foi de 519 mil toneladas, volume 3,41% maior do que o apurado em 2017. Neste cenário, segundo os dados da PEIXEBR (2018), a tilápia (*Oreochromis niloticus*) se manteve como a espécie mais cultivada, com uma produção de 311,5 mil toneladas, seguida pelo tambaqui (*Colossoma macropomum*) como segunda espécie mais cultivada no país, com uma produção de 102,5 mil toneladas, representando 19,7% da produção nacional de peixes.

Esta intensificação da aquicultura tem sido uma forma de suprir a alta demanda mundial, com um consumo médio de 20,3 kg de peixe por pessoa ao ano, que segundo o relatório da FAO (2020) deve chegar a 21,5 kg até o ano de 2030. Embora o consumo de peixes no mundo seja alto, o consumo brasileiro se encontra abaixo desta média, com um valor de 9,6 kg por pessoa ao ano, quantidade abaixo do indicado pela Organização Mundial de Saúde que recomenda consumir 12 kg de peixe por ano (SOUSA et al., 2019).

Atualmente, a China é o maior produtor de pescado no mundo, chegando a produzir 57,9% do pescado mundial, sendo que deste total, 15% provém da pesca (FAO, 2020). O Brasil é o 13º colocado no ranking mundial de produção de peixes em cativeiro, ocupando o 8º lugar na produção de peixes de água doce (FOGAÇA, 2020). A aquicultura no Brasil tem enorme potencial relacionado com as boas condições naturais e clima favorável, possuindo 13%

da água doce renovável de todo o planeta, abrigando mais de 2.300 espécies de peixes dulcícolas e 1.298 marinhas (MENEZES et al., 2003).

Para que a intensificação da aquicultura seja feita de forma sustentável é importante buscar aumentar a produtividade, com menor geração de resíduos aos ambientes aquáticos. Uma estratégia para isto é a formulação de rações de alta eficiência, com melhor aproveitamento dos nutrientes e redução dos impactos ambientais relacionados à eliminação de resíduos como nitrogênio e fósforo nas águas (LITTLE et al., 2018).

### *1.1 O efeito poupador de proteína da dieta*

Diante da busca crescente por alimentos saudáveis pela população, com consequente aumento na produção de pescado, há uma grande preocupação com o barateamento desta atividade, que está diretamente ligado com a diminuição do custo das dietas comerciais, uma vez que este corresponde a maior porcentagem dos custos de produção (MORO e RODRIGUES, 2015). O efeito poupador de proteínas é uma estratégia para este propósito pois busca a diminuição dos níveis de proteína das dietas comerciais, através da utilização de substratos de menor custo, como lipídios e carboidratos como fonte de energia para os peixes.

As proteínas são os macronutrientes mais importantes das dietas, pois a partir destas são obtidos os aminoácidos essenciais para o organismo (OISHI et al., 2010). Podem fazer parte de até 18% da composição corporal dos animais e tem diversas funções importantes como estrutural, de transporte, enzimática, hormonal, de defesa, osmorregulação e também como componentes do DNA e RNA. As proteínas da dieta são hidrolisadas por enzimas proteolíticas, produzindo aminoácidos que são transportados pelo sangue para os tecidos, onde ocorrerá a síntese proteica. Como os seres vivos não são capazes de armazenar estes compostos, os excedentes da dieta são degradados para formação de outros subprodutos (FERREIRA et al., 2010).

Durante o catabolismo, ocorre a retirada do grupo amino, com formação de ATP, CO<sub>2</sub> e aminoácidos, que podem ser destinados a produção de fibras musculares, ou síntese de carboidratos e lipídios, com eliminação de amônia como excreta (PÉREZ-JIMÉNEZ et al., 2015). As proteínas em excesso nas dietas são catabolizadas e eliminadas na forma de amônia pelas branquias dos

peixes, podendo gerar sérios impactos ambientais, como o problema de eutrofização das águas, além da amônia ser um poluente muito tóxico para os peixes, podendo causar a mortalidade destes. Com a eutrofização das águas, ocorre o predomínio das algas (cianobactérias) existentes, podendo ainda gerar o chamado “offflavor”, conhecido popularmente como gosto de barro nas carnes (ISMINO-ORBE et. al., 2003).

A exigência proteica para as diferentes espécies aquáticas diminui na medida em que os peixes crescem, com uma demanda em torno de 42% quando larvas e 20% quando adultos. Ao mesmo tempo que a demanda proteica diminui, a demanda por carboidratos e lipídios aumenta, uma vez que o gasto de energia é maior. A demanda de energia para peixes adultos está em torno de 23 kJ, enquanto para jovens está em torno de 19 kJ (ARAUJO-LIMA e GOULDING, 1998).

Os trabalhos desenvolvidos na tentativa de se determinar a exigência proteica do tambaqui, entre 1979 e 2012, estão sumarizados na revisão de RODRIGUES (2014). Segundo este autor, existe uma grande divergência nos níveis observados e que pode estar relacionada ao valor biológico da fonte proteica, valor nutricional das fontes de energia não proteicas, relação proteína:energia das dietas, além da genética, idade dos animais e condições experimentais, reforçando a importância de novos estudos sobre a nutrição da espécie. Recentemente, a exigência proteica de juvenis de tambaqui com um peso médio de 6,54 g foi determinada em 29% de proteína digestível para o máximo crescimento (BUZOLLO et al., 2019).

A diminuição de proteínas na dieta é interessante em vários aspectos, e vem sendo amplamente estudada pela busca de uma relação proteína:energia na dieta que proporcione maior eficiência alimentar, com maior crescimento e aproveitamento energético (CAMPECHE et al., 2018). Diferentemente dos mamíferos, os peixes utilizam a proteína como fonte primária de energia, sendo assim, se for possível substituir parte desta proteína destinada a produção de energia, por fontes energéticas de menor custo, a proteína da dieta seria utilizada apenas para o crescimento dos peixes, resultando em diminuição dos compostos nitrogenados liberados no meio ambiente (ALMEIDA et al., 2011) e ainda redução nos custos das rações para peixes com alto teor proteico. A partir destes fatos, o estudo sobre o efeito poupador de proteína em peixes é

de grande relevância para o setor produtor, sendo importante demonstrar também que a substituição desta proteína da dieta por outras fontes energéticas não proteicas não causa prejuízos à saúde dos animais. Para isto, é necessário se estudar os processos metabólicos que ocorrem quando os peixes são submetidos a diferentes condições nutricionais, permitindo detectar alguma alteração metabólica indesejável.

A relação proteína:energia é um dos fatores determinantes para a produção de rações de qualidade (KABIR et al., 2019) e interfere diretamente nas exigências proteicas do animal, assim é necessário estabelecê-la de maneira eficiente para que não comprometa o crescimento ou metabolismo dos peixes, devendo sempre se atentar ao perfil de aminoácidos exigidos por cada espécie (CHO, 1992).

Podem ser empregados carboidratos ou lipídios para se obter o efeito poupador de proteína, dependendo da espécie de peixe estudada. Deve ser levado em consideração os hábitos alimentares da espécie, uma vez que cada uma possui uma anatomia e fisiologia gastrointestinal. No geral, os peixes onívoros e herbívoros aproveitam os carboidratos mais eficientemente (KAMALAM et al., 2017), pois apresentam o trato digestório mais adaptado à digestão deste nutriente, possuindo intestino mais longo, que permite que o alimento permaneça por um tempo maior no organismo para ser absorvido, além de possuírem as enzimas amilases, capazes de digerir o amido.

Já os peixes carnívoros parecem estar mais adaptados a utilização de proteínas e lipídios como fontes de energia, pois estes peixes não consomem frequentemente os carboidratos em sua dieta natural. No entanto, não é possível fazer generalizações, pois existem diferenças na morfologia e fisiologia das espécies, mesmo dentro de peixes com hábitos alimentares semelhantes, que podem causar diferenças no aproveitamento de nutrientes na dieta (KAMALAM et al., 2017).

Os lipídios, de modo geral, são bem utilizados por todas as espécies de peixes, com capacidade de poupar a proteína da dieta. Entretanto, em vista de seu custo um pouco mais elevado quando comparado com os carboidratos, e das dificuldades no processamento e armazenamento das dietas comerciais com elevados teores de lipídios, eles são fontes mais empregadas para peixes carnívoros ou para peixes de água fria, que tem pouca capacidade de utilizar

os carboidratos como fonte energética (GARCIA et al., 2013). No entanto, independente da utilização ou não de carboidratos como fonte de energia, os organismos aquáticos utilizam os lipídios como a única fonte de ácidos graxos essenciais exigidas para um crescimento e desenvolvimento normais e manutenção da saúde (LIM et al., 2009). Os peixes não são capazes de sintetizar ácidos graxos poli-insaturados (PUFA), como os ácidos linolênico e linoleico, assim, estes nutrientes essenciais devem estar presentes nas dietas.

A quantidade de lipídios na dieta depende dos conteúdos de proteína e energia utilizados. Entretanto, um excesso destes nutrientes não é desejado pois pode causar problemas no processamento, rancidez e armazenamento das rações, podendo ainda aumentar a deposição de gordura nos peixes, comprometendo a qualidade do produto final (HONORATO et al., 2013). Sandre et al. (2017) determinou que para juvenis de tambaqui uma inclusão de 4% de lipídios, juntamente com a utilização de 46% de carboidratos na dieta proporcionou o efeito poupador de proteínas, com máximo desempenho produtivo e menor deposição de gorduras.

A digestão de lipídios é facilitada em comparação com a digestão de carboidratos, isto por causa da ação dos sais biliares produzidos pelo fígado, encontrados ao longo de todo o sistema digestório. Estes sais biliares promovem a fragmentação dos lipídios em pequenas micelas, que permitem a emulsificação e solubilização dos lipídios no bolo alimentar, facilitando a ação das enzimas lipolíticas. Desta forma, estes lipídios são hidrolisados pelas enzimas lipases, formando ácidos graxos livres que são absorvidos pelo intestino e cecos pilóricos e utilizados na biossíntese de componentes celulares, ou catabolizados para a produção de energia (GLENCROSS et al, 2009).

Os carboidratos são amplamente incluídos nas dietas para peixes tanto quanto possível, pois são considerados as fontes mais baratas de energia, embora estes nutrientes não sejam classificados como substâncias essenciais para o crescimento dos peixes (BOONANUNTANASARN et al., 2018). Atualmente, muitos estudos mostram que o amido pode melhorar o crescimento e eficiência alimentar dos animais, por outro lado, o excesso de amido pode causar distúrbios metabólicos como o aumento de deposição de glicogênio no fígado e hiperglicemia nos peixes (MA et al., 2019).

O aproveitamento dos carboidratos pelos peixes está associado a complexidade de sua estrutura. Wilson (1994) constatou que polímeros de maior cadeia, tem maior influência no crescimento dos peixes do que os monossacarídeos, assim como o amido gelatinizado aumenta a digestibilidade e crescimento dos peixes. Isto ocorre porque no processo de extrusão, o tratamento térmico aumenta a área de contato do amido com as enzimas digestivas, melhorando o aproveitamento nutricional dos carboidratos.

O carboidrato mais utilizado na dieta animal é o amido, polímero de amilose e amilopectina que em porções adequadas permitem o melhor desempenho dos animais. O maior incremento de amido nas rações, possibilita a diminuição da adição de alimentos de origem animal, colaborando para a sustentabilidade da piscicultura (BOSCOLO et al., 2011).

Embora existam vários trabalhos sobre o aproveitamento de carboidratos por peixes carnívoros, com verificação da regulação molecular das vias metabólicas, pela inclusão de níveis variados de carboidrato na dieta, este estudo com peixes onívoros e herbívoros são limitados (BOONANUNTANASARN et al., 2018). O aumento da atividade hepática de enzimas lipogênicas e diminuição das enzimas gliconeogênicas podem ser responsáveis por um melhor uso de carboidratos pelos peixes onívoros, como o tambaqui. A partir destas informações, o tambaqui seria um bom modelo de investigação de respostas metabólicas a diferentes níveis de inclusão de carboidratos na dieta.

Experimentos realizados por Meilán et al. (2014) com Prego-do-mar (*Pagellus bogaraveo*) avaliando o efeito poupador de proteínas com adição de carboidratos de alta digestibilidade combinados com lipídios e proteínas, comparados com as dietas comerciais para a espécie, conseguiram observar uma melhora na capacidade de absorção dos nutrientes pela adição dos carboidratos nas dietas.

Também foram encontrados resultados positivos para o efeito poupador de proteínas em linguado (*Scophthalmus maximus*), concluindo que com o aumento de 5 para 15% de carboidratos nas dietas é possível diminuir em 6% os níveis de proteínas utilizados (ZENG et al., 2015). Uma boa utilização de carboidratos na dieta também foi encontrada por Pereira et al. (2020) em pacus (*Piaractus mesopotamicus*), um peixe redondo semelhante ao tambaqui,

demonstrando que a proteína da dieta pode ser reduzida de 23% para 21%, com a adição de 35% de carboidratos.

### *1.2 Estudos sobre metabolismo*

Além do estudo dos parâmetros de desempenho produtivo, os estudos metabólicos são muito importantes pra a nutrição pois, através da mensuração dos intermediários do metabolismo se torna possível entender os processos que indicam um fluxo preferencial das vias em virtude da demanda ou da disponibilidade energética (GODOY et al., 2008). Desta forma, é possível avaliar como os organismos respondem a diferentes condições, colaborando para identificar situações indesejáveis, como a utilização proteica para suporte energético (ABIMORAD et al., 2007). Os processos metabólicos ocorrem a fim de satisfazer as necessidades energéticas dos organismos (FRACALOSSI, et al., 2013). O fígado é o órgão principal da regulação do metabolismo, que contém as enzimas de diferentes vias metabólicas, que são ativadas ou desativadas de acordo com a disponibilidade dos nutrientes.

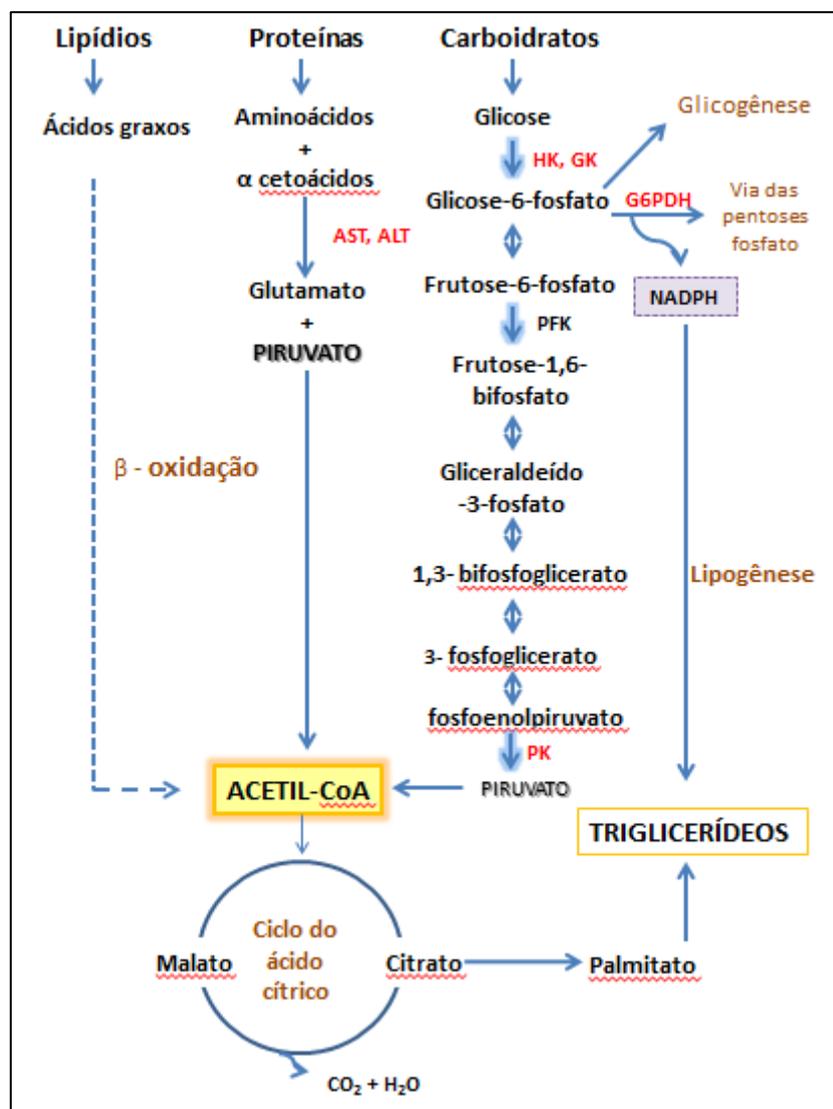
Após a ingestão, os carboidratos são catabolizados para utilização da glicose na produção de energia. À medida que esta quantidade de glicose aumenta, ocorre a ativação das vias glicogênicas e lipogênicas, para o armazenamento de glicogênio no fígado e no músculo, e de triglicerídeos, armazenados nos tecidos na forma de gordura. O glicogênio é armazenado no fígado, sendo movimentado para os músculos como suporte de energia para as atividades realizadas. Quando a concentração de glicose é alta, ocorre a secreção de insulina, que inibe sua produção hepática e estimula o seu uso e armazenamento (ENES et al., 2009).

A glicose é um importante nutriente para produção de energia em todos os animais, podendo ser obtida através de proteínas, lipídios ou carboidratos. Nos peixes sua importância parece limitada. O motivo ainda não foi totalmente esclarecido, mas a conclusão é da existência uma diferente relação entre utilização e produção de glicose em relação aos outros animais (ENES et al., 2009).

No sangue, a glicose é transportada para as células, e então é catabolizada através da via glicolítica, sendo utilizada no ciclo de Krebs e cadeia respiratória para a produção de ATP, ou então é utilizada na via das

pentoses fosfato, que produz NADPH, utilizada na biossíntese de lipídios na via lipogênica e ribose-5-fosfato, utilizada na síntese de nucleotídeos (ENES et al., 2009).

O excesso de glicose ativa a via glicogênica para a produção de glicogênio que é armazenado principalmente no fígado, ou é convertida em triglicerídeos (WANG et al., 2017). Em situações de jejum, a glicose pode ser obtida pela degradação de glicogênio (glicogenólise) ou pela gliconeogênese, sendo produzida a partir de outras biomoléculas. A Figura 1 traz uma visão geral do metabolismo, demonstrando as principais enzimas envolvidas.



**Figura 1-** Visão geral do metabolismo energético e principais enzimas envolvidas na produção e estoque energético avaliadas neste estudo.

A glicólise é o processo de catabolismo da glicose, em que uma molécula de glicose (6C) é convertida em duas moléculas de piruvato (3C). Este processo é regulado pela atividade das enzimas metabólicas, possuindo três enzimas chave, indicando a glicólise. As enzimas chave do metabolismo são importantes ferramentas, pois, indicam as reações irreversíveis, ou seja, acontecem em um sentido unilateral, descartando a hipótese de a reação ocorrer em sentido inverso em via distinta. As enzimas-chave da glicólise são: a hexoquinase (HK; EC 2.7.1.1) ou glicoquinase (GK; EC 2.7.1.2), enzimas que catalisam a primeira reação da glicólise, com transformação de glicose em glicose-6-fosfato, que pode ser utilizada na via glicolítica, na glicogênese e via das pentoses fosfato. A enzima 6-fosfofruto-1-quinase (PFK; EC 2.7.1.11) catalisa a fosforilação da frutose-6-fosfato em frutose-1,6-bifosfato e a piruvato quinase (PK; EC 2.7.1.40), enzima glicolítica chave que catalisa a última etapa da glicólise, a conversão de fosfoenolpiruvato em piruvato (ENES et al., 2009).

A via da gliconeogênese, reação inversa à glicólise, envolve a síntese de glicose e substratos não glicosídicos como o lactato, glicerol e os  $\alpha$ -cetoácidos. Todas as enzimas envolvidas na gliconeogênese são relatadas como existentes em peixes (WALTON e COWEY 1982; COWEY e WALTON, 1989). A regulação desta via é feita pelas enzimas fosfoenolpiruvato carboxicinase (PEPCK, EC 4.1.1.32) que catalisa a primeira etapa da gliconeogênese, a conversão de oxaloacetato em fosfoenolpiruvato, a enzima frutose-1,6-bisfosfatase (FBPase, EC 3.1.3.11) que catalisa a hidrólise de frutose-1,6-bisfosfato a frutose-6-fosfato e a enzima glicose-6-fosfatase (G6Pase, EC 3.1.3.9), uma enzima microsomal que desempenha um papel fundamental na homeostase da glicose no sangue catalisando a desfosforilação de glicose-6-fosfato em glicose (ENES et al., 2009).

Em relação ao metabolismo das proteínas, quando estes nutrientes são ingeridos, são catabolizados em aminoácidos, que podem ser utilizados para a síntese proteica, ou ainda podem ser catabolizados para a produção de energia. A maior parte dos aminoácidos é metabolizada no fígado. Quando se trata de catabolismo, as enzimas transaminases quantitativas mais importantes são a alanina aminotransferase (ALT, E.C. 2.6.1.2) e aspartato aminotransferase (AST, E.C. 2.6.1.1), a enzima ALT que catalisa a transferência do grupamento amino da alanina para o  $\alpha$ -cetoglutarato,

resultando na formação de piruvato e glutamato. A enzima AST, transfere grupos amino do glutamato para o oxalacetato, formando aspartato (RODWELL et al., 2017). Parte da amônia gerada nesse processo é reciclada e utilizada em uma variedade de vias biossintéticas; o excesso é excretado (NELSON; COX, 2014).

A partir destas informações, pensando em nutrição de peixes e nos elevados custos relacionados, os estudos das diferentes vias metabólicas permitem avaliar a utilização dos diferentes nutrientes nas dietas, que permitem a avaliação do excesso destes nutrientes que não são utilizados pelo metabolismo dos animais, permitindo a substituição por fontes alimentares de menor custo, colaborando com a sustentabilidade econômica da produção de peixes e garantindo que estas dietas menos onerosas não prejudiquem o metabolismo dos animais.

### *1.3 Problemática relacionada ao uso de carboidratos para peixes*

A utilização de carboidratos em dietas para peixes tem despertado grande interesse. Embora sejam importantes componentes da dieta, utilizados como fonte de energia, as funções biológicas e metabólicas ainda não são bem entendidas quando se trata de peixes (CORRÊA et al., 2007). O problema decorrente da inclusão de uma grande proporção de carboidratos na dieta pode estar relacionado com a fisiologia dos peixes prejudicada com o aumento dos índices glicêmicos, causando sobrecarga hepática.

Algumas hipóteses foram levantadas para explicar esta limitação. Uma hipótese é a diminuição da produção de insulina pelos peixes, componente responsável pela estimulação da glicólise, resultando em hiperglicemia prolongada, similarmente ao que ocorre com mamíferos diabéticos (ENES et al., 2009). No entanto, Hertz et al. (1989) encontraram altos níveis de insulina em peixes através de rádioimunoensaio, demonstrando muitas vezes ser superior aos níveis observados em mamíferos.

Outra hipótese para a baixa utilização de glicose pelos peixes seria o efeito mais forte dos aminoácidos da dieta como estimuladores da secreção de insulina do que a glicose. Também o número mais baixo de receptores de insulina no músculo dos peixes em comparação com o rato e o baixo número

de transportadores de glicose no músculo do peixe e ainda o uso inadequado de glicose no músculo, além do fato de os peixes possuírem uma rede reguladora neural menos complexa (POLAKOF et al., 2011a).

Segundo Gonçalves et al. (2018), os peixes tem menor eficácia no metabolismo de carboidratos devido a alterações na homeostase da glicose atribuída a um desequilíbrio entre glicose hepática endógena e a glicose-6-fosfato resultante da fosforilação pela ação da glicoquinase, diferentemente dos mamíferos em que a expressão da glicoquinase e glicose-6-fosfatase são induzidas e reprimidas pelos carboidratos da dieta, respectivamente.

No entanto, generalizações nem sempre são verdadeiras devido a presença de inúmeras espécies diferentes de peixes, além das diferentes fontes de alimentos consumidas por cada espécie, o aproveitamento de carboidratos da dieta pode variar. Este aproveitamento tem relação com a biologia dos peixes, relacionada ao hábito alimentar, genótipo, exercício da espécie, bem como de acordo com a sua alimentação, relacionado a fonte de carboidratos, complexidade molecular, nível de inclusão e ainda a interação entre os nutrientes da dieta. Pode ainda variar de acordo com o meio em que está inserido, conforme a temperatura, salinidade, fotoperíodo e ainda estresse em que os peixes são submetidos, demonstrando que a interação complexa destes fatores desempenham um papel importante na determinação da capacidade de os peixes utilizarem os carboidratos na dieta (KAMALAM et al., 2017).

#### 1.4 A espécie

O tambaqui, *Colossoma macropomum* (CUVIER, 1818), é um peixe de escamas com formato romboidal, originário da América do Sul, bacias Amazônica e do Rio Orinoco, distribuído no Brasil, na região Norte, Mato Grosso, São Paulo, Minas Gerais, Goiás e Paraná. Pertencente a espécie de peixes da família Characidae, subfamília Serrasalminae (GOMES et al, 2010), é uma espécie tropical, considerado segundo maior peixe da Amazônia, podendo atingir mais de um metro e pesar mais de 30 kg (ARAUJO-LIMA e GOULDING, 1998). É adaptado a viver em águas claras, pretas e brancas, sendo mais abundantes em rios de água branca (ARAUJO-LIMA e GOULDING, 1998), assim, a espécie apresenta alta rusticidade com tolerância

a variações de pH entre 4 e 6 (ARIDE et al., 2007), baixa concentração de oxigênio dissolvido, suportando valores abaixo de  $1 \text{ mg L}^{-1}$  devido ao poder de expansão do lábio inferior em condições extremas de hipoxia (RODRIGUES, 2014), suportando também altas temperaturas, tornando capazes de habitar em diversos ambientes (SIOLI, 1985).

É um dos peixes mais apreciados pela culinária local, principalmente da região Norte do país, devido à consistência e sabor da carne, atrativos que o tornam de grande valor comercial e importância para a economia regional. Devido a rusticidade, facilidade de manejo e valor agregado, a produção em cativeiro da espécie vem crescendo cada vez mais. A produção de peixes nativos no Brasil correspondeu a 43,7% da produção brasileira em 2017 (PEIXEBR, 2017), com um aumento de 8,8% até 2018 (PEIXEBR, 2018). O Estado de Roraima está em primeiro lugar no ranking de produção de peixes nativos, produzindo 16 mil toneladas no ano de 2017 com maior produção para o tambaqui (PEIXEBR, 2018). Sendo assim, se torna importante o estudo das exigências nutricionais do tambaqui para a formulação de dietas artificiais (PEREIRA-FILHO, 1995) a fim de aumentar a eficiência da ração e diminuir o custo de produção, o que se torna um grande desafio devido ao elevado custo das rações ricas em proteínas e vitaminas.

O tambaqui é considerado um peixe onívoro oportunista, seus dentes molariformes permitem que se alimente de frutos e sementes, tendo como alternativa o zooplâncton (SANDRE et al., 2017). O trato digestório da espécie foi analisado por Silva (2003) que sugeriu que o zooplâncton seria consumido somente quando os alimentos não estivessem disponíveis. A alimentação de frutos e sementes ocorre principalmente nas épocas de cheia, pois ocorre a frutificação das florestas inundadas, enquanto no período de secas podem se alimentar de insetos, algas, macrófitas, algas, moluscos e peixes, demonstrando o aproveitamento de diferentes fontes alimentares pela espécie (FRACALOSSO et al., 2013).

Roubach e Saint-Paul (1994) fizeram a tentativa de incorporar ingredientes regionais na ração como o munguba, embaúba, arroz in natura, apresentando efeito inferior às rações artificiais, com maior desempenho para o munguba. Para Alceste e Jory (2000), a incorporação de vegetais nas rações é

uma alternativa para barateamento do custo com o acréscimo de vitaminas e compostos antioxidantes.

O tambaqui apresenta uma anatomia e fisiologia favorecida a adaptação de dietas variadas. Possui um estômago alongado e elástico, seguido de cecos pilóricos que auxiliam na digestão dos alimentos e intestino relativamente longo, similarmente ao trato digestório dos peixes onívoros. Possui diferentes perfis enzimáticos em cada parte do seu trato gastrointestinal, com predominância das proteases no estômago (cerca de 35%), enquanto as amilases e lipases estão presentes em todo o trato digestório. Devido a diversidade de enzimas em ao longo do seu trato digestório, o tambaqui tem uma grande adaptação a mudança de alimentação, aceitando dietas com alto nível de carboidratos (ALMEIDA et al., 2006).

Os coeficientes de digestibilidade de alimentos protéicos e energéticos para juvenis de tambaqui foram determinados por Buzollo et. al. (2018), encontrando boa digestibilidade para alimentos energéticos como o milho (94,5% CDaPB e 88,70% CDaEB) e farelo de trigo (86,08% CDaPB e 68,23% CDaEB), com resultados inferiores para o sorgo e quirera de arroz. Dos ingredientes protéicos testados, os melhores coeficientes de digestibilidade foram para o glúten de milho (98,09% CDaPB e 96,91% CDaEB), farelo de soja (95,08% CDaPB e 76,82% CDaEB) e farinha de salmão (87,27% CDaPB e 81,07% CDaEB), obtendo resultados inferiores para levedura de álcool e farinha de peixe. Os coeficientes de digestibilidade obtidos reforçam o hábito alimentar onívoro do tambaqui com tendência herbívora. A pior digestibilidade para determinados ingredientes de origem vegetal está relacionada com a alta concentração de fibra presente, que acaba por interferir no coeficiente de digestibilidade (CDA) dos alimentos.

A partir dos CDAs e exigência proteica encontrados para o tambaqui por Buzzolo et al. (2019) de 29% de proteína digestível na dieta, e partindo-se da premissa de se produzir cada vez mais rações sustentáveis e baratas, o efeito poupador de proteína nunca foi testado para a espécie e representa uma alternativa para a redução da utilização da farinha de peixe e outros alimentos proteicos nas dietas, ingredientes caros e/ou não sustentáveis, com consequente barateamento das rações e redução da excreção de amônia, prejudicial ao ambiente.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo Geral:**

O principal objetivo do trabalho foi verificar a ocorrência do efeito poupador de proteína da dieta para a espécie tambaqui (*Colossoma macropomum*) e as respostas metabólicas aos carboidratos dietéticos.

### **Objetivos Específicos:**

- Avaliar o desempenho produtivo do tambaqui alimentados com dietas contendo diferentes proporções proteína/carboidratos;
- Estudar o metabolismo intermediário em juvenis de tambaquis alimentados com dietas com diferentes proporções proteína/carboidratos, com avaliação dos metabólitos sanguíneos, reservas energéticas teciduais e as enzimas chave das vias metabólicas relacionadas ao aproveitamento de carboidratos na dieta.

## REFERÊNCIAS

- ABIMORAD, E.G.; CARNEIRO, D.J.; URBINATI, E.C. Growth and metabolism of pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887) juveniles fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. **Aquaculture Research**, v.38, p.36-44, 2007.
- ALCESTE, C.C.; JORY, D.E. Tilápia – Alternative protein sources in tilapia feed formulation. **Aquaculture Manager**, v.26, p.70-75, 2000.
- ALMEIDA, L.C.; AVILEZ, I.M.; HONORATO, C.A.; HORI, T.S.F.; MORAES, G. Growth and metabolic responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed different levels of protein and lipid. **Aquaculture Nutrition**, v.17, p.253-262, 2011.
- ALMEIDA, L.C.; LUNDSTEDT, L.M.; MORAES, G. Digestive enzyme responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed on different levels of protein and lipid. **Aquaculture Nutrition**, v.12, p.443-450, 2006.
- ARAÚJO-LIMA, C.; GOULDING, M. Os frutos do tambaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia. **Embrapa Amazônia Ocidental**, p.188, 1998.
- ARIDE, P.H.R.; ROUBACH, R.; VAL, A.L. Tolerance response of tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier) to water pH. **Aquaculture Research**, v.3, p.588-594, 2007.
- BOONANUNTANASARN, S.; KUMKHONG, S.; YOOHAT, K.; PLAGNES-JUAN, E.; BUREL, C.; MARANDEL, L.; PANSERAT, S. Adaptation of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to different levels of dietary carbohydrates. **Aquaculture**, v.482, p.117-123, 2018.
- BOSCOLO, W.R.; SIGNOR, A.; FREIRAS, J.M.A.; BITTENCOURT, F.; FERIDEN, A. Nutrição de peixes Nativos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.45-154, 2011.
- BUZOLLO, H.; NASCIMENTO, T.M.T.; SANDRE, L.C.G.; NEIRA, L.M.; JOMORI, R.K.; CARNEIRO, D.J. Apparent digestibility coefficients of feedstuff used in tambaqui diets. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.44, n.2, p.547-555, 2018.
- BUZOLLO, H.; SANDRE, L.C.G.; NEIRA, L.M.; NASCIMENTO, T.M.T.; JOMORI, R.K.; CARNEIRO, D.J. Digestible protein requirements and muscle growth in juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Aquaculture Nutrition**, p.1-11, 2019.
- CAMPECHE, D.F.B.; ANDRADE, D.H.H.; SOUZA, A.M.; MELO, J.F.B.; BEZERRA, R.S. Dietary protein:lipid ratio changes growth, digestive enzyme activity, metabolic profile and hematological parameters in hybrid surubim (*Pseudoplatystoma fasciatum* x *Leiarius marmoratus*). **Aquaculture Research**, p.1-9, 2018.

CHO, C.Y. Feeding of rainbow trout and other salmonids, with reference to current estimates of energy and protein requirement. **Aquaculture**, v.100, p.107-123, 1992.

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

COWEY, C.B.; WALTON, M.J. Intermediary metabolism. In: HALVER, J.E. (Ed). **Fish nutrition** 2<sup>nd</sup> ed. Elsevier Science, p.260-329, 1989.

Fogaça, F. O protagonismo do Brasil na produção mundial de pescado. EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2020.

ENES, P.; PANSEERAT, S.; KAUSHIK, S.; OLIVA-TELES, A. Nutritional regulation of hepatic glucose metabolism in fish. **Fish Physiology Biochemistry**, v.35, n.3, p.519-39, 2009.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture. **Meeting the sustainable development goals**. 2018.

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

FRACALLOSSI, D.M.; CYRINO, J.E.P. Nutriaqua - Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira. Florianópolis, **Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática**, 2013.

FRACALLOSSI, D.M.; RODRIGUES, A.P.O.; GOMINHO-ROSA, M.C. Carboidratos e Fibras. In: FRACALLOSSI, D.M.; CYRINO, J.E.P. **Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**. 1. ed. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, cap.6, p.101-119, 2013.

GARCIA, A.S.; GONÇALVES, L.U.; CAVALLI, R.O.; VIEGAS, E.M.M. Lipídios. In: FRACALLOSSI, D.M.; CYRINO, J.E.P. **Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**. 1. ed. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, cap.5, p.79-95, 2013.

GLENCROSS, B.D. Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. **Reviews in Aquaculture**, v.1, p.71-124, 2009.

GODOY, A.C.; FRIES, E.; CORRÊIA, A.F.; MELO, I.W.A.; RODRIGUES, R.B.; BOSCOLO, W.R. Apparent digestibility of fish meat and bone meal in Nile tilapia. **Archivos de Zootecnia**, v.65, n.251, p.341-348, 2016.

GOMES, L.C.; SIMÕES, L.N.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; BALDISSEROTTO, B. e GOMES, L.C. Tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2<sup>a</sup> ed. Santa Maria, p.175-204, 2010.

GONÇALVES, A.F.N; HÁ, N.; BILLER-TAKAHASHI, J. D.; GIMBO, R. Y.; URBINATI, E.C.; TAKAHASHI, L.S. Dietary protein-to-carbohydrate ratios affect

metabolism and growth of juvenile surubim cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*). **Aquaculture International**, v.26, p. 349-362, 2018.

HERTZ, Y.; EPSTEIN, N.; ABRAHAM, M.; MADAR, Z.; HEPHER, B.; GERTLER, A. Effects of metformin on plasma insulin, glucose metabolism, and protein synthesis in the common carp (*Cyprinus carpio* L). **Aquaculture**, v.76, p.255-267, 1989.

HONORATO, C.A.; NUNES, C.S.; VASCONCELOS, E.N.; CARRILHO, M.; MORAES, G. Efeito do processamento de dietas com diferentes níveis de carboidratos e lipídios sobre a composição corporal e perfil de ácidos graxos do filé do pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Ciência Animal Brasileira**, v.14, n.1, p.49-58, 2013.

ISMINO-ORBE, R.A.; ARAUJO-LIMA, C.A.R.M.; GOMES, L.C. Excreção de amônia por tambaqui (*Colossoma macropomum*) de acordo com as variações na temperatura na água e massa do peixe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, p.1243-1247, 2003.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa da pecuária municipal**, 2018.

KABIR, K.A.; SCHARMA, J.W.; VERRETH, J.A.J.; PHILLIPS, M.J.; VERDEGEM, M.C.J. Effect of dietary protein to energy ratio on performance of Nile tilapia and food web enhancement in semi-intensive pond aquaculture. **Aquaculture**, v.499, p.235-242, 2019.

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

LIM, C.; YILDIRIM-AKSOY, M.; LI, M.H.; WELKER, T.L.; KLESIOUS, P.H. Influence of dietary levels of lipid and vitamin E on growth and resistance of Nile tilapia to *Streptococcus initiae* challenge. **Aquaculture**, v.298, p.76-82, 2009.

LITTLE, D.C.; YOUNG, J.A.; ZHANG, W.; NEWTON, R.W.; MAMUN, A.A.; MURRAY, F.J. Sustainable intensification of aquaculture value chains between Asia and Europe: A framework for understanding impacts and challenges. **Aquaculture**, v.493, p.338-354, 2018.

MA, H.; MOU, M.; PU, D.; LIM, S.; CHEN, Y.; LI, L. Effect of dietary starch level on growth, metabolism enzyme and oxidative status of juvenile largemouth bass, *Micropterus salmonides*. **Aquaculture**, v.498, p.482-487, 2019.

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

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

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

OISHI, C.A.; NWANNA, L.W.; PEREIRA FILHO, M. Optimum dietary protein for Amazonian Tambaqui, *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818, fed fish meal free diets. **Acta Amazonica**, v.490, n.4, p.757-762, 2010.

PEIXE BR ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PISCICULTURA. Anuário da Piscicultura.

PEREIRA-FILHO, M. Alternativas para a alimentação de peixes em cativeiro. Criando peixes na Amazônia. **Embrapa Amazônia Ocidental**, p.75-82, 1995.

PEREIRA, M.M.; NEGATA, M.M.; ENES, P.; OLIVA-TELES, A.; URBINATI, E.C.; TAKAHASHI, L.S. Growth performance and metabolic responses to dietary protein/carbohydrate ratios in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles. **Aquaculture Research**, v.51, p.5203-5211, 2020.

PÉREZ-JIMÉNEZ, A.; ABELLÁN, E.; ARIZCUN, M. Nutritional and metabolic responses in common dentex (*Dentex dentex*) fed on different types and levels of carbohydrates. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, v.184, p.56-64, 2015.

POLAKOF S, MEDALE F, LARROQUET L, VACHOT C, CORRAZE G, PANSERAT S. Insulin stimulates lipogenesis and attenuates b-oxidation in white adipose tissue of fed rainbow trout. **Journal of Animal Science**, v.46 p.189–199, 2011a.

RODRIGUES, A.P.O. Nutrição e alimentação do tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Boletim Instituto de Pesca**, v.40, p.135-145, 2014.

RODWELL, V. W. **Bioquímica ilustrada de Harper**: catabolismo das proteínas e do nitrogênio dos aminoácidos. 30. ed. Porto Alegre: Amgh p.817, 2017.

ROUBACH, R.; SAINT-PAUL, U. Use fruits and seeds from Amazonian inundated forest in feeding trials with *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) (Pisces, Characidae). **Journal Applied Ichthyology**, v.10, p.205-240,1994.

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

SILVA, J.A.M.; PEREIRA-FILHO, M.; OLIVEIRA-PEREIRA, M.I. Valor energético de espécies vegetais importantes na alimentação do tambaqui. **Acta Amazonica**, v.33, p.687-700, 2003.

SIOLI, H. Amazônia fundamentos da ecologia da maior região de florestas tropicais. **Editora Vozes**, p. 72, 1985.

SOFIA – State of the World Fisheries and Aquaculture, 2020.

SOUSA, V. **Empreendendo Aquicultura: O aumento do consumo de pescado Empreendendo Aquicultura**, 15 ago. 2019. Disponível em: <<https://empreendendoaquicultura.blogspot.com/2019/08/o-aumento-do-consumo-de-pescado.html>>. Acesso em: 27 abr. 2020.

WALTON, M.J.; COWEY, C.B. Aspects of intermediary metabolism in salmonid fish. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.73, p.59-79, 1982.

WANG, X.X.; CHEN, M.Y.; WANG, K.K.; YE, J.D. Growth and metabolic responses in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) subjected to varied starch and protein levels of diets. **Italian Journal of Animal Science**, v.16, p.308-316, 2017.

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

XU, H.; LIAO, Z.; ZHANG, Q.; WEI, Y.; LIANG, M. A moderately high level of dietary lipid inhibited the protein secretion function of liver in juvenile tiges puffer *Takifugu rubripes*. **Aquaculture**, v.498, p.17-27, 2019.

ZENG, L.; LEI, J.; AI, C.; HONG, W.; LIU, B. Protein sparing effect of carbohydrate in diets for juvenile turbot *Scophthalmus maximus* reared at different salinities. **Chinese Journal of Oceanology and Limnology**, v.33, p.57-69, 2014.

## **CAPÍTULO 2 – Metabolismo de carboidratos e efeito poupador de proteína para o tambaqui (*Colossoma macropomum*).**

### **RESUMO**

A utilização de carboidratos na dieta de peixes vem sendo amplamente estudada visando à diminuição dos níveis proteicos utilizados e, conseqüentemente, a diminuição dos custos e dos impactos ambientais gerados pela piscicultura. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito poupador de proteína em dietas para o tambaqui (*Colossoma macropomum*), buscando encontrar uma adequada proporção proteína/carboidratos, que resulte em ótimo desempenho produtivo, mas sem prejuízo aos mecanismos fisiológicos envolvidos. Foram utilizados 216 peixes com peso médio de 30 gramas, distribuídos em 18 caixas, alimentados com dietas contendo: 23/25%, 23/35%, 26/25%, 26/35%, 29/25% e 29/35% PD/CHO. Os seis tratamentos em arranjo fatorial (2x3) foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com três repetições por tratamento. Foram avaliados os parâmetros de desempenho produtivo e determinadas as atividades hepáticas de enzimas do metabolismo intermediário e a concentração dos metabólitos no sangue. Os resultados foram submetidos à ANOVA e teste de comparação de médias pelo Teste de Tukey (5%), utilizando o software SAS v.9.0. Foi possível constatar o efeito poupador de proteínas com a substituição da proteína dietética por carboidratos, já que não houve diferenças nos parâmetros de desempenho produtivo obtidos. Os dados sugerem grande capacidade de plasticidade metabólica para utilização dos carboidratos pelo tambaqui, com melhores resultados em peixes alimentados com dietas contendo 26%PD e 35% CHO.

**Palavras-chave:** peixes, nutrição, energia não-proteica, glicólise, lipogênese.

## **CHAPTER 2 - Carbohydrate metabolism and protein sparing effect for tambaqui (*Colossoma macropomum*).**

### **ABSTRACT**

The use of carbohydrates in the fish diet has been widely studied with a view to decreasing the protein levels used and, consequently, reducing the costs and environmental impacts generated by fish farming. The objective of this work were be to evaluate the protein-sparing effect in diets for tambaqui (*Colossoma macropomum*), seeking to find an adequate protein / carbohydrate ratio, which results in excellent productive performance, but without prejudice to the physiological mechanisms involved. 216 fish with average weight of 30g were used, distributed in 18 boxes, feed with diets containing PD/CHO: 23/25%, 23/35%, 26/25%, 26/35%, 29/25% and 29/35%. The six treatments in a factorial arrangement (2x3) were distributed in a completely randomized design, with three replicates per treatment. The parameters of productive performance were evaluated and the hepatic activities of enzymes of intermediate metabolism and the concentration of metabolites in the blood were determined. The results were submitted to ANOVA and test of comparison of means by the Tukey Test (5%), using the software SAS v.9.0. It was possible to verify the protein sparing effect with the replacement of dietary protein by carbohydrates, since there were no differences in the parameters of productive performance obtained. The data suggest great metabolic plasticity capacity for the use of carbohydrates by tambaqui, with better results in fish fed diets containing 26% PD and 35% CHO.

**Key words:** fish, nutrition, non-protein energy, glycolysis, lipogenesis.

## INTRODUÇÃO

A piscicultura vem crescendo cada vez mais no Brasil. O crescimento da população bem como as mudanças nos seus hábitos alimentares, vem colaborando para o aumento do consumo de pescado, pois consiste em uma ótima fonte de proteína com menor índice de gordura, além de riqueza de minerais, vitaminas e ômega-3 (BUZOLLO et al., 2018).

Para atender a demanda do mercado e com elevada viabilidade econômica, a nutrição dos peixes é fundamental, pois a qualidade nutricional das dietas pode influenciar no sucesso de produção e no desempenho produtivo dos animais. Na produção de peixes em sistemas intensivos, os gastos com a alimentação correspondem à maior proporção dos custos, constituindo cerca de 60% do custo total de produção (KAMALAM et al., 2017).

Portanto, o grande desafio é expandir ainda mais a aquicultura de forma sustentável, diminuindo os custos relacionados a produção e também os impactos ambientais envolvidos, que é possível através da substituição da farinha de peixe por fontes proteicas alternativas de origem vegetal e também pelo efeito poupador de proteínas (PEREIRA et al., 2020).

O preço das rações se eleva à medida que aumenta o teor proteico, porém, a proteína é o ingrediente mais importante da dieta, responsável pelo fornecimento de aminoácidos para a síntese proteica, com formação de tecido muscular e crescimento dos animais. O efeito poupador de proteínas busca a utilização deste nutriente voltada para o crescimento muscular dos peixes, com a utilização de outras fontes energéticas de menor custo, como os carboidratos (KAMALAM et al., 2017).

Os carboidratos são os compostos orgânicos mais abundantes na Terra, e consistem nas matérias primas mais baratas utilizadas nas dietas de animais. É um componente responsável pela produção de energia nas células não fotossintéticas através do processo de oxidação (NELSON e COX, 2011). A utilização de níveis adequados de carboidratos na dieta pode prevenir o catabolismo de aminoácidos para fins energéticos (efeito poupador de proteína), resultando em aumento de retenção de proteína e redução da eliminação de nitrogênio nas águas (PÉREZ-JIMENEZ et al., 2015; WANG et al., 2016).

A eficiência de utilização do carboidrato da dieta pode variar em função de inúmeros fatores como hábito alimentar, nível de inclusão, processamento da dieta, fonte do carboidrato entre outros vários fatores (WILSON, 1994, LEGATE et al., 2001; HEMRE et al., 2002). Fisiologicamente, estes fatores podem desencadear diferentes respostas metabólicas que tanto podem contribuir para a utilização deste nutriente como podem ser prejudiciais ao animal (ENES et al., 2009; POLAKOF et al., 2012).

De maneira geral, os peixes onívoros e de águas mais quentes apresentam maior capacidade de utilização de carboidratos dietéticos em comparação a peixes carnívoros e de águas frias (WILSON, 1994, LEGATE et al., 2001; HEMRE et al., 2002). Neste sentido, estudos prévios realizados com o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) demonstraram que esta espécie onívora-frugívora da América do Sul apresenta boa aceitação de dietas artificiais com elevados teores de carboidratos (TAKAHASHI et al., 2006) e elevada tolerância metabólica aos carboidratos (TAKAHASHI et al., 2018). Mas até o momento pouco se sabe sobre esta capacidade de utilização de carboidratos pelo tambaqui (*Colossoma macropomum*), que apesar de semelhante ao pacu, possui como habitat natural bacias hidrográficas de temperaturas mais elevadas e uma taxa de crescimento mais alta.

Com base nisto, é importante investigar a fisiologia e metabolismo dos peixes sujeitos a diferentes dietas, como forma de se certificar de que a fisiologia dos peixes não é prejudicada devido a inclusão de diferentes ingredientes. Os estudos sobre metabolismo são uma ferramenta importante para este fim, pois, através da mensuração dos metabólitos intermediários permite avaliar o fluxo dos diferentes nutrientes administrados nas dietas, mostrando o fluxo preferencial das vias, sendo capazes de elucidar os efeitos na fisiologia destes animais (ENES et al., 2009).

A espécie estudada neste trabalho foi o tambaqui (*Colossoma macropomum*), a principal espécie nativa cultivada no Brasil, que apresenta grande importância na produção nacional devido à elevada rusticidade e aceitação pelo mercado consumidor (GOMES et al., 2010). Com a eminente expansão do cultivo desta espécie em diversos sistemas de produção e regiões do país, torna-se necessário a elaboração de rações economicamente sustentáveis e ambientalmente corretas para alavancar a produção e geração

de renda aos piscicultores, promovendo uma fonte de proteína altamente saudável para a população.

Recentemente, a exigência proteica de juvenis de tambaqui com peso médio de 6,54 g foi determinada, sendo encontrado o nível de 29% de proteína digestível para o máximo desempenho produtivo (BUZOLLO et al., 2019). Apesar do seu hábito alimentar onívoro com preferência a frugivoria, o tambaqui, ainda na ausência da fonte de carboidratos consumida na natureza, parece aproveitar bem os carboidratos amiláceos da dieta. A possibilidade de reduzir ainda mais este nível proteico através da inclusão de carboidratos na dieta até o momento não foi estudada. Com base nisso, o objetivo deste trabalho consiste em avaliar o efeito poupador de proteína da dieta e as respostas metabólicas de juvenis de tambaqui submetidos a dietas contendo diferentes níveis de proteína e amido na dieta.

### ***Comissão de Ética***

Os procedimentos de manipulação de animais foram submetidos à Comissão de Ética em Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas - Unesp - Campus de Dracena e estavam de acordo com os preceitos e normas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) (Certificado n°. 16/2019.R2-CEUA).

### ***Instalações e condições experimentais***

Este experimento foi conduzido por 90 dias, sendo monitoradas semanalmente os parâmetros de temperatura e oxigênio dissolvido (YSI - Pro ODO oxímetro, Yellow Springs Instrument, Ohio, USA), amônia, nitrito e nitrato (HANNA Instruments Ltda, Tamboré Barueri, São Paulo, Brasil) e os parâmetros pH, dureza total e alcalinidade total através de kits comerciais (Acqua Supre, Jundiaí, São Paulo, Brasil) no período da tarde (16 h). Os valores obtidos para os parâmetros físico-químicos da água, em todos os tratamentos estão de acordo com os sugeridos para peixes de regiões tropicais e para a espécie (KUBITZA, 2000).

**Tabela 1** – Parâmetros da água durante o período experimental.

<b>Parâmetros</b>	<b>Valores médios</b>
Temperatura (°C)	28,0 ± 1,01
OD (mg L <sup>-1</sup> )	7,6 ± 0,52
pH	7,4 ± 0,15
Alcalinidade (mg L <sup>-1</sup> )	84,0 ± 2,30
Dureza total (mg L <sup>-1</sup> )	228,0 ± 6,42
Amônia (mg L <sup>-1</sup> )	0,2 ± 0,06
Nitrato (mg L <sup>-1</sup> )	2,2 ± 0,05
Nitrito (mg L <sup>-1</sup> )	0,0

### ***Aclimação dos peixes***

O experimento foi realizado no Laboratório de Aquicultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas da Unesp (FCAT-Unesp), campus de Dracena, em sistema fechado de recirculação de água com decantador e filtro biológico. Os peixes com peso médio de 30 gramas foram adquiridos no Centro de Aquicultura da Unesp de Jaboticabal, distribuídos em 18 caixas de polietileno de 300 L, e submetidos a um período de aclimação durante 15 dias, alimentados com dietas comerciais peletizadas, duas vezes ao dia (9:30 e 15:30), até a saciedade aparente.

### ***Formulação das dietas***

Foram formuladas seis dietas experimentais isoenergéticas (4.061 kcal EB kg<sup>-1</sup>), 23/25%; 23/35%; 26/25%; 26/35%; 29/25%; 29/35% em porcentagem de proteína digestível e carboidratos, respectivamente. A formulação das dietas experimentais está demonstrada na Tabela 2.

Os ingredientes das dietas foram moídos em moinho de facas nas dimensões de 0,8 mm, foram pesados e separados de acordo com a formulação de cada dieta. Estes ingredientes foram então misturados em misturador tipo Y e peletizados com adição de 30% de água e 0,1% de gelatina. Os grânulos obtidos no processo foram secos em estufa de circulação de ar por um período de 24 horas e armazenados em sacos plásticos a -20°C.

**Tabela 2-** Formulação das dietas experimentais e composição da dieta.

<i>Ingredientes</i>	<b>Dietas</b>					
	23/25%	23/35%	26/25%	26/35%	29/25%	29/35%
Farelo de soja <sup>1</sup>	24,00	24,00	27,20	27,20	28,70	28,70
Far. resid. proc. Tilapia <sup>1</sup>	10,00	10,00	11,30	11,30	12,60	12,60
Milho <sup>1</sup>	30,00	30,00	26,70	26,70	13,00	13,00
Farelo de trigo <sup>1</sup>	11,00	11,00	6,30	6,30	1,80	1,80
Farelo de Arroz	6,50	3,80	5,00	3,10	3,00	0,90
Glúten de milho <sup>2</sup>	3,00	3,00	6,00	6,00	13,07	13,07
Amido <sup>2</sup>	0,70	12,10	4,50	15,67	15,50	26,70
Óleo de soja	4,80	1,80	4,70	1,40	4,60	1,20
Fosfato Bicálcico	2,25	2,25	1,80	1,80	1,50	1,50
Premix <sup>3</sup>	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Vit. C	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Caolin	7,22	1,52	5,97	0,00	5,70	0,00
<b>Total</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>
<i>Composição calculada *</i>						
Matéria seca %	91,37	90,42	91,37	90,36	91,54	90,55
Proteína bruta %	26,25	25,83	28,97	26,68	32,05	31,73
Proteína digestível** %	23,63	23,34	26,29	26,08	29,39	29,16
Extrato etéreo %	8,77	5,40	8,42	4,87	7,67	3,98
Fibra bruta %	3,15	2,95	2,74	2,59	2,09	1,93
Matéria mineral %	7,94	7,70	7,73	7,56	7,48	7,30
Extrato não nitrogenado*** %	39,91	49,75	39,66	49,64	39,06	48,99
Energia bruta kcal/kg	3.999	4.014	4.082	4.096	4.134	4.132
Energia digestível kcal/kg	3.277	3.202	3.351	3.275	3.373	3.281
Amido	25,75	35,03	25,70	34,99	25,78	35,04

<sup>1</sup>Raguife Ind. Com. de Rações LTDA (Santa Fé do Sul, SP, Brasil). <sup>2</sup>Ingredion Brasil (São Paulo, SP, Brasil). <sup>4</sup>O premix vitamínico e mineral forneceu por Kg<sup>-1</sup>: manganês (2.000,00 mg); ferro (7.500,00 mg); zinco (7.500,00 mg); cobre (1.000,00 mg); cobalto (30,00 mg); selênio (70 mg); iodo (250 mg); potássio (2.000,00 mg); magnésio (600,00 mg); Vit. A (2.000.000,00 U.I); Vit. D3 (600.000,00 U.I); Vit. K3 (700,00 mg); biotina (50,00 mg); ac. fólico (250,00 mg); colina (80.000,00 mg); Vit. B1 (2.000,00 mg); Vit. B12 (10.000,00 mcg); Vit. B2 (4.000,00 mg); Vit. B6 (5.000,00 mg); Vit. E (15.000,00 U.I); Ac. pant. (5.000,00 mg); Ac. nicotínico (10.000,00 mg); Vit. C (80.000,00 mg); BHT (20.000,00 mg); Etoxiquin (10.000,00 mg); Inositol (4.000.00). <sup>5</sup>Biorigin (Lencóis Paulista, SP, Brasil). \*Com base na composição avaliada de cada ingrediente. \*\*Dados de digestibilidade obtidos por Buzollo et al. (2018). \*\*\* ENN: matéria seca - (proteína bruta + extrato etéreo + fibra bruta + matéria mineral).

### ***Desempenho produtivo***

Após o período de aclimatação, os peixes, mantidos em jejum de 24 horas foram submetidos à biometria inicial. Foram anestesiados com solução de eugenol (0,1 g L<sup>-1</sup>), pesados e medidos individualmente. Após a biometria, foram separados em 18 caixas. Os peixes foram alimentados durante 90 dias, duas vezes ao dia (9h30m e 15h30m), até a saciedade aparente. Após o período de 90 dias foi realizada a biometria final, sendo novamente anestesiados com solução de eugenol (0,1 g L<sup>-1</sup>), pesados e medidos para obtenção dos seguintes parâmetros:

- Peso final (PF);
- Comprimento total (CT);
- Ganho de peso (GP):

$$GP \text{ (g)} = (\text{peso final} - \text{peso inicial});$$

- Ganho de peso diário (GPD)

$$GPD \text{ (g)} = (GP/n^\circ \text{ de dias de alimentação});$$

- Taxa de crescimento específico (TCE):

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

- Consumo de alimento (g);
- Conversão alimentar aparente (CA):

$$CA = \text{alimento fornecido} / \text{ganho de peso};$$

### ***Metabólitos do sangue***

Durante a biometria final, foram separados três peixes por caixa, em um total de 9 peixes por tratamento para retirada do sangue e do material biológico. Foram retiradas alíquotas de sangue por punção de vasos caudais. Estas alíquotas foram destinadas à separação do soro e do plasma por centrifugação. Os metabólitos foram analisados pelo método colorimétrico, analisando-se a glicose plasmática (Método GOD-Trinder, kit comercial) colesterol (Método Enzimático-colorimétrico, kit comercial), triglicerídeos (Método Enzimático-Trinder, kit comercial), proteínas totais (Método do Biureto, REINHOLD, 1953) e amônia sérica.

A concentração de amônia sérica foi determinada segundo metodologia de Verdouw et al. (1978) adaptada por Gimbo (2015). Resumidamente, a uma alíquota de 60 µL de soro foram adicionados 20 µL de ácido tricloroacético (15%). Após centrifugação (10.000 rpm, 3 min), o sobrenadante foi separado para realização da análise. A reação foi iniciada com a adição de nitroprussiato de sódio (0,01 mM), hipoclorito de sódio (0,32%), hidróxido de sódio (64,5 mM), citrato de sódio (87,1 mM) e salicilato de sódio (161,16 mM). Após homogeneização, a amostra foi incubada por 2 horas no escuro, com posterior leitura em espectrofotômetro. Diluições seriadas de uma solução de cloreto de amônio foram utilizadas para estabelecimento de uma curva-padrão e determinação da concentração de amônia das amostras. A determinação dos metabólitos sanguíneos foi realizada Laboratório de Nutrição e Metabolismo Animal da FCAT-UNESP, campus de Dracena.

### ***Atividade hepática de enzimas-chave das vias metabólicas***

Os peixes utilizados para a retirada do sangue foram eutanasiados por secção medular e laparotomizados para retirada do tecido hepático e da gordura visceral. O tecido hepático foi armazenado em ultrafreezer a -80°C.

As amostras de fígado foram homogeneizadas em tampão Tris-HCl e centrifugadas por 15 minutos à 10° C e 16.000 rpm para determinação da atividade hepática das enzimas hexoquinase (HK; EC 2.7.1.1), glicoquinase (GK; EC 2.7.1.2), e piruvato quinase (PK; EC 2.7.1.40). A atividade da HK e a GK foram mensuradas de acordo com as metodologias de (VIJAYAN et al. 1990), adaptada por Pérez-Jiménez et al. (2009). A atividade da PK foi determinada pelo método de Carbonell et al. (1973).

Também foram determinadas as atividades da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH; 1.1.1.49) através da metodologia de Lohr e Waller (1960). As atividades das enzimas alanina aminotransferase (ALT, E.C. 2.6.1.2) e aspartato aminotransferase (AST, E.C. 2.6.1.1) foram determinadas utilizando kits comerciais (ALT - PP, Gold Analisa Diagnóstica Ltda, Belo Horizonte, Brasil e AST - PP, Gold Analisa Diagnóstica Ltda, Belo Horizonte, Brasil).

Todas as atividades enzimáticas foram expressas por miliunidades por miligrama de proteína solúvel (atividade específica). Uma unidade de atividade

enzimática foi definida como a quantidade de enzima necessária para transformar um  $\mu\text{mol}$  de substrato por minuto sob as condições de análises acima. Foi determinada a concentração de proteínas totais do homogenato pelo método do biureto, descrito por Reinhold (1953).

### ***Reservas energéticas teciduais***

Nas amostras teciduais foram avaliadas as relações somáticas: índice gorduro-viscerossomático (IGVS) e índice hepatossomático (IHS) de acordo com a fórmula:  $[100 \times (\text{peso do tecido} / \text{peso vivo})]$ . Nos fragmentos de fígado foram realizadas as análises para determinação do glicogênio hepático [metodologia enzimático colorimétrico (PERRY et al., 1989)].

### ***Análise dos resultados***

O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos em esquema fatorial 2x3, correspondendo a três níveis de proteína digestível e dois níveis de carboidratos amiláceos, com três repetições cada tratamento. Os resultados foram submetidos à ANOVA e teste de comparação de médias pelo Teste de Tukey (5%), utilizando o software SAS v. 9.0.

## **RESULTADOS**

### ***Desempenho produtivo***

Durante o experimento, não houve mortalidade e os juvenis se mostraram aclimatados às condições experimentais e aceitaram bem as dietas fornecidas. Os resultados de desempenho produtivo para os juvenis de tambaqui alimentados com diferentes níveis de proteína e carboidratos estão presentes na Tabela 3. Não foram observadas interações ( $p > 0,05$ ) entre os níveis de PD e os níveis de CHO nos parâmetros de desempenho produtivo avaliados. Assim como não foram observadas diferenças ( $p > 0,05$ ) nestes parâmetros para os diferentes níveis de proteína digestível da dieta. Entretanto foram encontradas diferenças ( $p < 0,05$ ) entre os níveis de carboidratos no peso final (PF), ganho de peso (GP), ganho de peso diário (GPD) e consumo alimentar (CONS).

**Tabela 3-** Valores médios e valores de P dos parâmetros de desempenho produtivo dos juvenis de tambaqui (*C. macropomum*) após 90 dias de alimentação com níveis de proteínas e carboidratos.

Variáveis	PD			CHO		SEM	Two-way ANOVA		
	23	26	29	25	35		PD	CHO	PD*CHO
PF (g)	116,5	118,1	121,8	115,3 <sup>b</sup>	122,3 <sup>a</sup>	1,62	0,70	0,03	0,47
GP (g)	86,2	87,8	91,3	85,0 <sup>b</sup>	91,9 <sup>a</sup>	1,62	0,74	0,03	0,47
GPD (g)	1,0	1,0	1,0	0,9 <sup>b</sup>	1,0 <sup>a</sup>	0,02	0,74	0,03	0,47
CT (cm)	19,4	19,5	19,7	19,4	19,6	0,10	0,76	0,06	0,30
TCE	1,5	1,51	1,5	1,5	1,55	0,02	0,82	0,05	0,47
CONS (g)	1665,1	1722,0	1726,4	1627,0 <sup>b</sup>	1782,0 <sup>a</sup>	27,2	0,52	0,01	0,54
CA	1,6	1,7	1,6	1,6	1,6	0,04	0,92	0,77	0,69

Média agrupadas. Letras distintas nas linhas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). PF = Peso final. GP = Ganho de peso. GPD= Ganho de peso diário. CT= Comprimento total. TCE= Taxa de crescimento específico. CONS= Consumo.

Foi observado neste estudo que, peixes alimentados com 35% de CHO na dieta tiveram um melhor desempenho produtivo em relação àqueles alimentados com 25% de inclusão, mostrando que, o aumento de carboidratos, provocou maior consumo dos animais, sendo observado também maior ganho de peso dos mesmos, obtendo a mesma conversão alimentar em ambos os casos. Embora o ganho de peso tenha aumentado de acordo com o aumento da proteína na dieta, não foram observadas diferenças ( $p > 0,05$ ), entre estes valores, demonstrando que, mesmo no nível de inclusão de 23% de proteína digestível na dieta, os peixes alcançaram o máximo ganho de peso em comparação com os demais níveis de inclusão.

### **Metabólitos do sangue**

Foram observadas interações entre os níveis de PD e de CHOs nas concentrações de proteínas totais e amônia sérica ( $p < 0,05$ ). Embora não tenham sido observados efeitos da interação, os níveis de proteína na dieta interferiram nas concentrações de colesterol total e de triglicerídeos séricos ( $p < 0,05$ ), e os níveis de carboidratos nos triglicerídeos séricos ( $p < 0,05$ ). Em relação à glicose plasmática, não foram encontradas diferenças ( $p > 0,05$ ). Os valores obtidos para os metabólitos sanguíneos estão presentes na Tabela 4 e Figura 2.

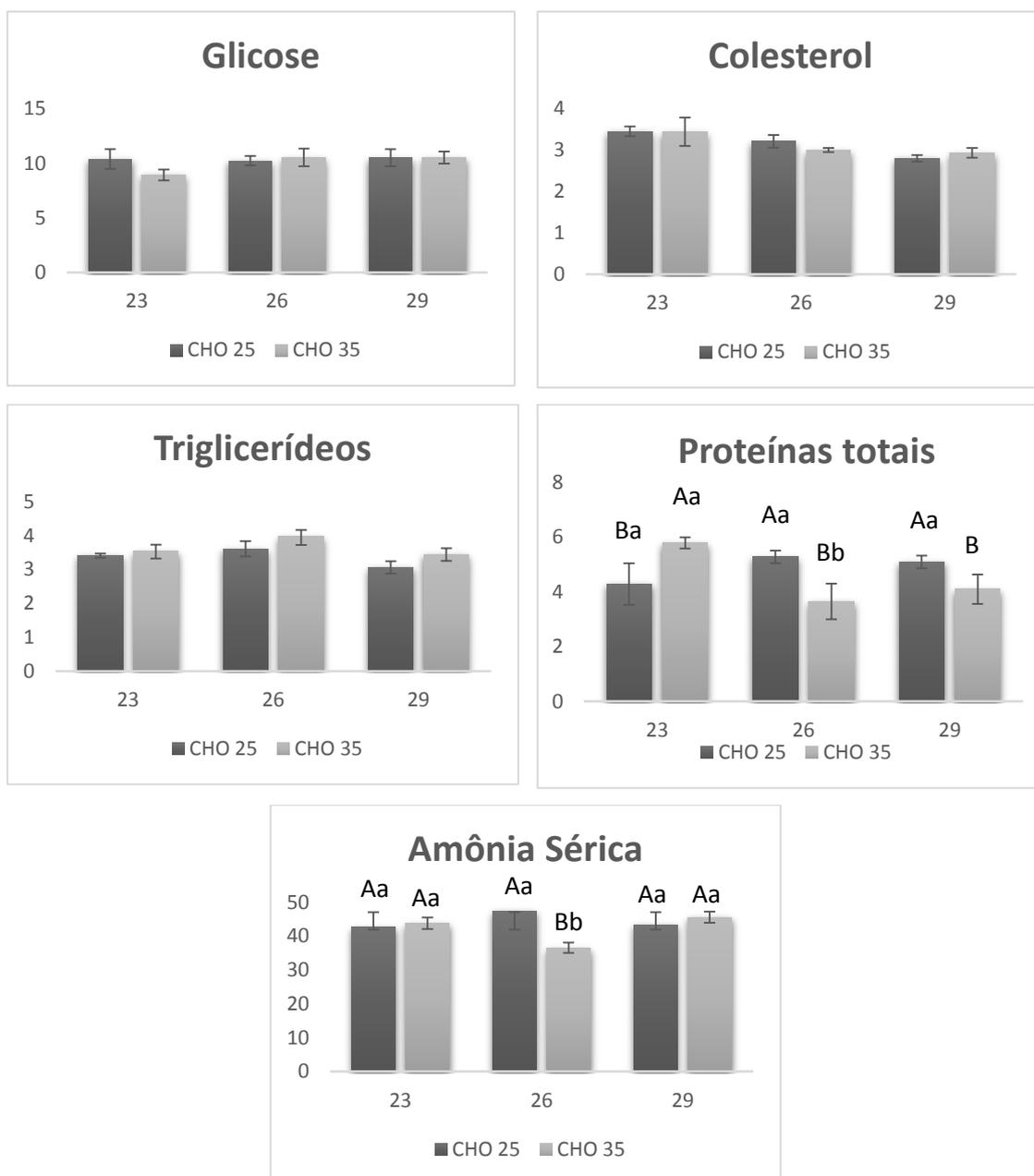
**Tabela 4-** Metabólitos sanguíneos dos juvenis de tambaqui alimentados com diferentes níveis de proteína e carboidratos na dieta.

<i>Variáveis</i>	%PD			%CHO		SEM	Two-way ANOVA		
	23	26	29	25	35		PD	CHO	PD*CHO
GLIC	9,7	10,4	10,5	10,4	10,0	0,23	0,2555	0,3915	0,2393
COL	3,5 <sup>a</sup>	3,1 <sup>b</sup>	2,9 <sup>b</sup>	3,2	3,1	0,07	0,0003	0,7252	0,2559
TRIGLI	3,5 <sup>b</sup>	3,8 <sup>a</sup>	3,3 <sup>b</sup>	3,4 <sup>b</sup>	3,6 <sup>a</sup>	0,08	0,0016	0,0131	0,3327
PROT	5,0	4,5	4,6	4,9	4,5	0,20	0,1418	0,1282	0,0003
AMÔNIA	43,2	41,9	44,4	44,4 <sup>a</sup>	41,9 <sup>b</sup>	0,92	0,1337	0,0206	0,0002

Média agrupadas. Letras distintas nas linhas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Abreviações: GLIC = glicose ( $\text{mmol L}^{-1}$ ); COL= colesterol ( $\text{mmol L}^{-1}$ ); TRIGLI= triglicerídeos ( $\text{mmol L}^{-1}$ ); PROT= proteínas totais ( $\text{g dL}^{-1}$ ); AMONIA = amônia sérica ( $\text{mmol L}^{-1}$ ).

Foram observados maiores níveis de proteínas totais no sangue de juvenis alimentados com dietas contendo 23% PD e 35% de carboidratos, e 26% e 29% PD contendo 25% de CHO na dieta. Em relação aos níveis de amônia sérica, foi observado apenas menor concentração em juvenis alimentados com dieta contendo 26% PD e 35% de CHO na dieta.

O nível de colesterol encontrado em juvenis de tambaqui alimentados com diferentes níveis de proteína foi superior naqueles alimentados com 23% PD em relação aos alimentados com 26% e 29% PD. Em relação aos níveis de triglicerídeos obtidos, maiores valores foram encontrados nos peixes alimentados com 26% PD, sendo também encontrados maiores níveis em juvenis alimentados com 35% de carboidratos na dieta.



**Figura 2-** Metabólitos sanguíneos dos juvenis de tambaqui alimentados com diferentes níveis de proteína e carboidratos na dieta. Letras maiúsculas comparam os níveis proteicos e minúsculas, níveis de carboidratos. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

### **Atividade hepática de enzimas-chave das vias metabólicas**

Foram encontrados efeitos de interação entre os níveis de PD e de CHOs na atividade hepática das enzimas avaliadas ( $p < 0,05$ ), com exceção da enzima glicoquinase (GK). Embora não tenha sido observado efeito de interação entre PD e CHO para a enzima GK, foram encontradas diferenças

( $p < 0,05$ ) entre os níveis de carboidratos na dieta. As atividades hepáticas das enzimas-chave das vias metabólicas estão representadas na Tabela 5 e Figura 3.

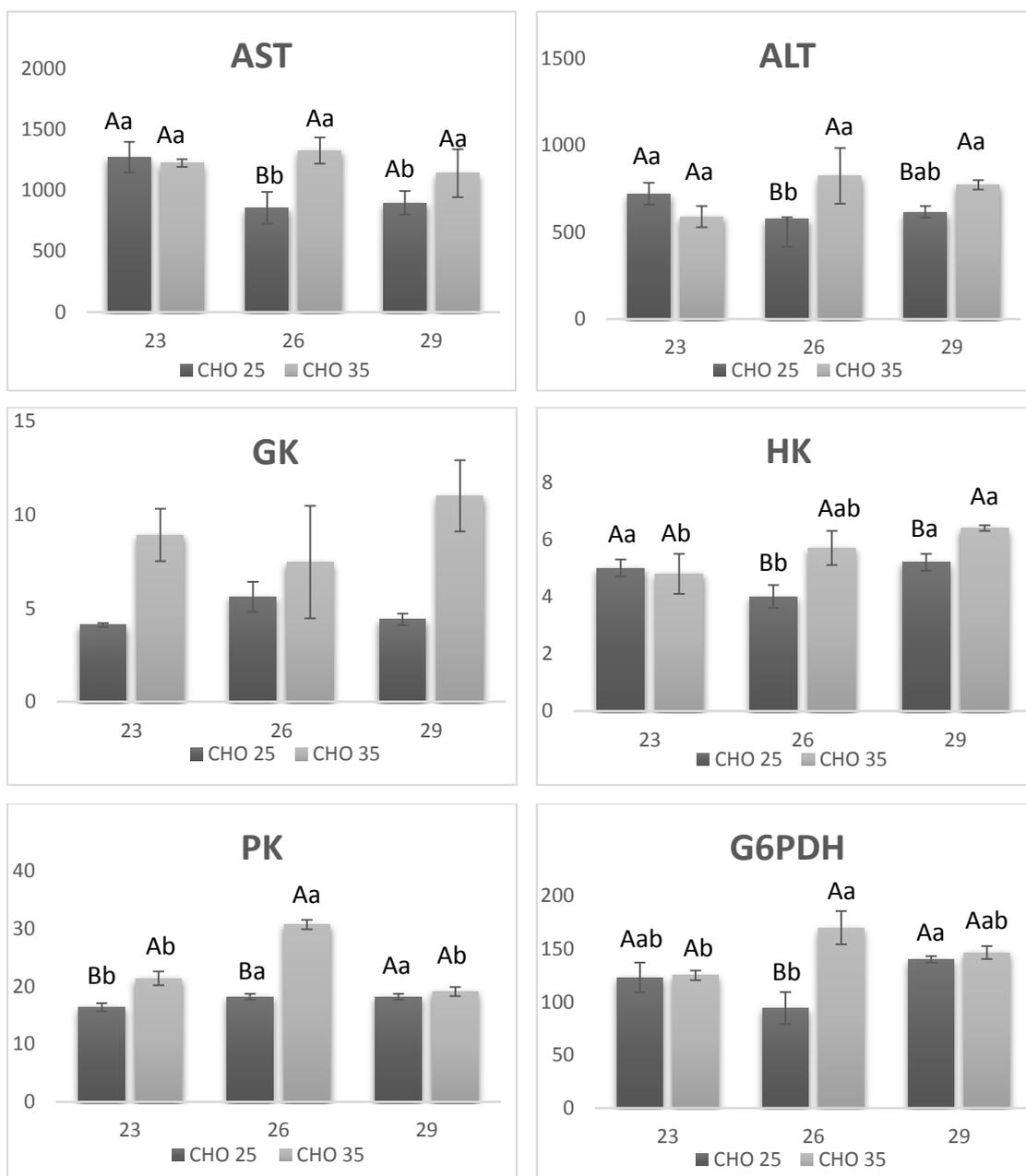
**Tabela 5** - Valores médios e valores de P das atividades hepáticas de enzimas metabólicas dos juvenis de tambaqui após 90 dias de alimentação com níveis de proteínas e carboidratos.

Variáveis	%PD			%CHO		SEM	Two-way ANOVA		
	23	26	29	25	35		PD	CHO	PD*CHO
AST	1250,2 <sup>a</sup>	1091,0 <sup>ab</sup>	1018,5 <sup>b</sup>	1007,9 <sup>b</sup>	1231,9 <sup>a</sup>	50,4	0,0207	0,0024	0,0128
ALT	653,3	699,5	692,1	635,1 <sup>b</sup>	728,1 <sup>a</sup>	27,7	0,5565	0,0257	0,0031
G6PDH	123,5 <sup>b</sup>	132,0 <sup>ab</sup>	143,3 <sup>a</sup>	119,0 <sup>b</sup>	146,8 <sup>a</sup>	6,1	0,0300	0,0002	0,0001
HK	4,9 <sup>b</sup>	4,9 <sup>b</sup>	5,8 <sup>a</sup>	4,8 <sup>b</sup>	5,6 <sup>a</sup>	0,2	0,0039	0,0010	0,0098
GK	6,5	6,5	6,5	4,7 <sup>b</sup>	9,1 <sup>a</sup>	0,7	0,4959	0,0005	0,169
PK	18,9 <sup>b</sup>	24,5 <sup>a</sup>	18,7 <sup>b</sup>	17,6 <sup>b</sup>	23,7 <sup>a</sup>	1,2	0,0001	0,0001	0,0001

Média agrupadas. Letras distintas nas linhas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). AST = Aspartato aminotransferase. ALT = Alanina aminotransferase. G6PDH= Glicose-6-fosfato desidrogenase. HK= Hexoquinase. GK = Glicoquinase. PK=Piruvato quinase.

No geral, os peixes alimentados 23% PD apresentaram alta atividade hepática da enzima AST, em ambos níveis de inclusão de carboidratos. Para este mesmo nível proteico, foi observada maior atividade das enzimas GK e PK, com maior inclusão de carboidrato, sendo observada ainda alta atividade hepática da enzima G6PDH em ambos os níveis de inclusão de carboidratos na dieta.

Para os peixes alimentados com 26% PD foi observada maior atividade hepática das enzimas AST e ALT nos peixes alimentados com maior inclusão de carboidratos na dieta, sendo ainda encontrada maior atividade das enzimas GK, PK e G6PDH. Os peixes alimentados com 29% de inclusão de proteína digestível na dieta tiveram resultados semelhantes ao nível de 26% de inclusão de PD. Foram observadas maiores atividades hepáticas das enzimas AST e ALT, relacionadas ao catabolismo de aminoácidos e da GK e HK relacionadas a glicólise com o aumento de carboidratos na dieta.



**Figura 3-** Atividades hepáticas das enzimas-chave das vias metabólicas em juvenis de tambaqui alimentados com inclusões de proteína digestível e carboidratos na dieta. Letras maiúsculas comparam os níveis proteicos e minúsculas, níveis de carboidratos. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ). Abreviações: AST = aspartato amino transferase ; ALT = alanina amino transferase; HK = hexoquinase; GK = glicoquinase; PK = piruvato quinase e G6PDH = glicose-6-fosfato desidrogenase.

### **Reservas energéticas teciduais**

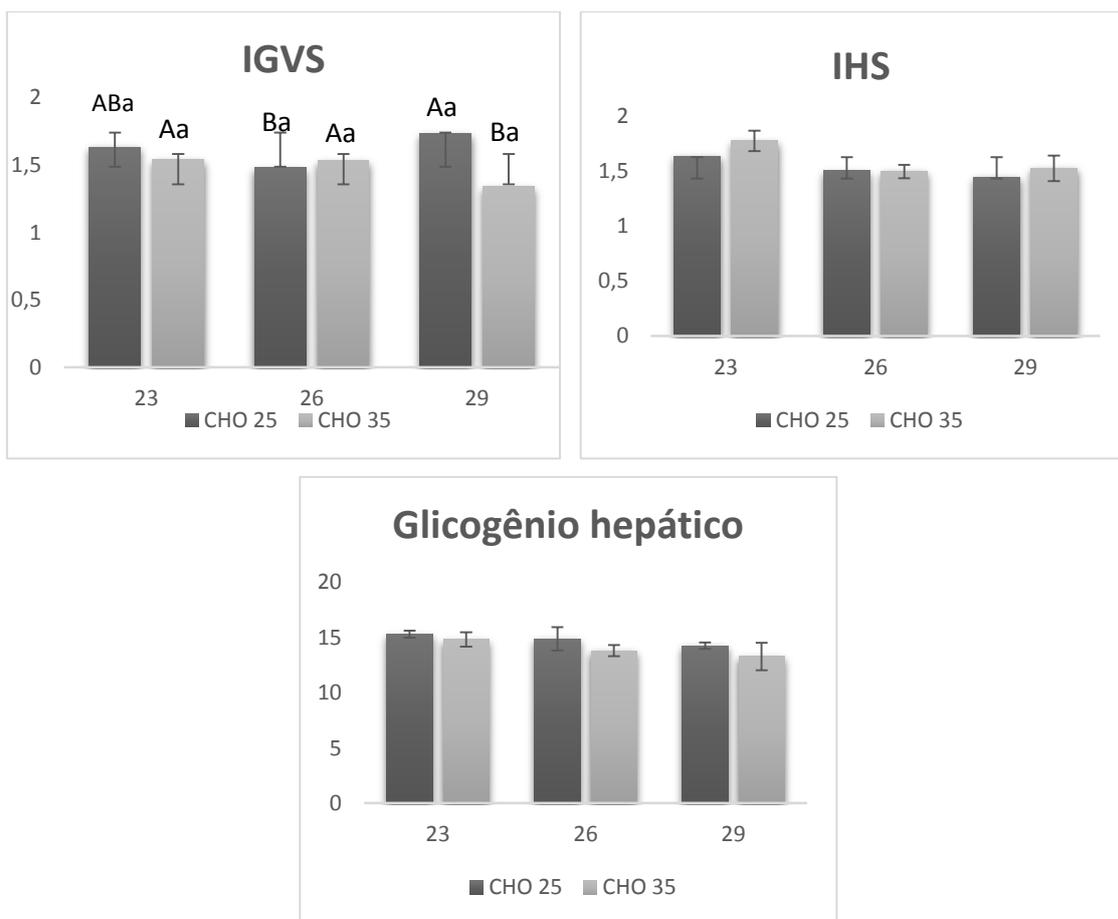
Foram observadas interações entre os níveis de PD e de CHOs apenas no parâmetro do índice gorduroviscerosomático (IGVS) ( $p < 0,05$ ). No parâmetro de glicogênio hepático, embora não tenha sido observada interação, foram encontradas diferenças ( $p < 0,05$ ) para os níveis de inclusão de proteínas e carboidratos na dieta. Com relação ao índice hepatosomático (IHS) foram encontradas diferenças ( $p < 0,05$ ) apenas entre os níveis de PD avaliados. Os valores obtidos para os parâmetros de reservas energéticas teciduais estão apresentados na Tabela 6 e Figura 4.

**Tabela 6** - Valores médios e valores de P das reservas energéticas dos juvenis de tambaqui após 90 dias de alimentação contendo níveis de proteínas e carboidratos.

<i>Variáveis</i>	% PD			%CHO		SEM	Two-way ANOVA		
	23	26	29	25	35		PD	CHO	PD*CHO
Glicogênio	15,1 <sup>a</sup>	14,3 <sup>ab</sup>	13,8 <sup>b</sup>	14,8 <sup>a</sup>	14,0 <sup>b</sup>	0,588	0,039	0,038	0,77
IHS	1,7 <sup>a</sup>	1,5 <sup>b</sup>	1,5 <sup>b</sup>	1,5	1,6	0,005	0,0002	0,065	0,181
IGVS	1,6	1,5	1,5	1,6 <sup>a</sup>	1,5 <sup>b</sup>	0,006	0,323	0,003	0,002

Média agrupadas. Letras distintas nas linhas indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Abreviações: IHS = Índice hepatosomático; IGVS = Índice gorduroviscerosomático.

Dos resultados obtidos, foi observado maior teor de glicogênio hepático em tambaquis alimentados com menor teor de CHO na dieta e também naqueles alimentados com 23% PD. Os peixes alimentados com 23% PD na dieta obtiveram também maior IHS em relação aos demais níveis. O índice gorduroviscerosomático dos peixes foi superior naqueles alimentados com dietas contendo 29% PD e 25% CHO e menor naqueles com 29% PD e 35% CHO.



**Figura 4** - Reservas energéticas dos juvenis de tambaqui alimentados com diferentes níveis de proteína e carboidratos na dieta. Letras maiúsculas comparam os níveis proteicos e minúsculas, níveis de carboidratos. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

## DISCUSSÃO

No presente estudo foi observado o efeito poupador de proteína em juvenis de tambaqui. O efeito poupador de proteína, como o próprio nome diz, busca poupar a proteína da dieta, direcionando-a unicamente para o crescimento dos animais (PEREIRA et al., 2020). A proteína contém os aminoácidos essenciais, responsáveis pela síntese proteica para o crescimento, mas também pode ser utilizada como fonte de energia para peixes. Dietas contendo níveis inferiores de proteína tendem a diminuir os parâmetros de desempenho produtivo, no entanto, no presente estudo, a substituição de parte da proteína exigida por juvenis de tambaqui (29%) por carboidratos na dieta não prejudicou o desempenho produtivo dos peixes, uma

vez que o ganho de peso daqueles alimentados com 23% PD na dieta não variou estatisticamente dos alimentados com 29% PD, demonstrando a possibilidade de poupar proteína através dos carboidratos na dieta.

Mohanta et al. (2007) observaram efeito poupador de proteína para Barbo prateado (*Puntius gonionotus*) alimentados com dietas contendo níveis crescentes de carboidratos e decrescentes de proteína bruta na dieta, observando a possibilidade de diminuição de inclusão de proteínas de 30% para 25% com a inclusão de 34% de carboidratos, resultando em melhor desempenho produtivo dos animais. Pereira et al. (2020) também observaram efeito poupador de proteínas em pacu (*Piaractus mesopotamicu*), com a possibilidade de diminuição da inclusão de 23% PD para 21%, com a inclusão de 35% de CHO na dieta.

Os peixes alimentados com 35% de CHO na dieta obtiveram maior consumo de ração do que os alimentados com 25%, resultando em maior ganho de peso nestes peixes, provavelmente em função da maior quantidade de nutrientes disponíveis para o metabolismo energético e crescimento. Embora em ambos os casos tenha sido obtido a mesma conversão alimentar, o maior consumo nos peixes que ingeriram alto carboidrato na dieta resultou em maior ganho de peso, no mesmo intervalo de tempo experimental. Uma possível explicação seria que, além da preferência do tambaqui por carboidratos em vista da sua alimentação natural, dietas isoenergéticas contendo menor CHO e, conseqüentemente maior lipídio, considerando a rápida digestibilidade e absorção dos lipídios, possibilitaram aos peixes atingir a saciedade aparente mais rapidamente. Por outro lado, na dieta que continha maior carboidrato, e, portanto, menor lipídio, os peixes atingiram a saciedade aparente mais lentamente, resultando em maior consumo e, conseqüentemente, maior aporte de nutrientes da dieta, como é o caso dos aminoácidos utilizados para crescimento, possibilitando assim um interessante resultado no desempenho produtivo nos juvenis de tambaqui alimentados com maior teor de carboidratos na dieta.

Sandre et al. (2017) avaliaram o desempenho produtivo de juvenis de tambaqui consumindo dietas isoproteicas contendo 23% PD, com a inclusão de três níveis de extrativo não nitrogenado (ENN) (41,46 e 51%) e de dois níveis de lipídios (4 e 8%), obtendo maiores resultados de desempenho produtivo

para os juvenis alimentados com 46% ENN, sem efeitos significativos para a inclusão de gorduras, demonstrando haver uma taxa limite de inclusão de carboidratos, que acabam por limitar o desempenho produtivo destes animais.

A inclusão de carboidratos além de limites toleráveis causa diminuição da digestibilidade do amido e menor crescimento dos peixes (ENES et al., 2011a; KROGDAHL et al., 2005; STONE, 2003). Esta redução na digestibilidade pode ocorrer devido à sobrecarga de substrato, com consequente saturação das carboidrases digestivas, ou diminuição no tempo de trânsito intestinal (NRC, 2011; SPANNHOF e PLANTIKOW, 1983). Segundo Kamalam et al. (2017) os níveis máximos de inclusão de carboidratos na dieta são de 15 a 25% para salmonídeos e peixes marinhos, podendo chegar a 50% em peixes onívoros e herbívoros. No presente trabalho, o desempenho produtivo foi maior em juvenis alimentados com dietas contendo 35% de CHO em relação àqueles que consumiram 25% de CHO na dieta, sendo assim não podemos afirmar que o maior nível de carboidratos está acima do tolerado. Porém, com a menor disponibilidade de lipídios como fonte energética, o tambaqui mostrou utilizar bem os carboidratos e proteínas para este fim.

Assim como não existem níveis de exigência de CHOs nas dietas, os limites de inclusão são estabelecidos pelos eventuais efeitos adversos no crescimento e fisiologia dos peixes. Boonanuntasarm et al. (2018) avaliaram o efeito poupador de proteína em tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em três níveis de inclusão de carboidratos com consequente diminuição dos níveis proteicos na dieta. Estes autores observaram melhor desempenho zootécnico em peixes alimentados com 30%, em relação às alimentadas com 0% e 50% de carboidratos, mostrando que a proteína pode ser substituída por outra fonte energética para peixes, porém respeitando-se um limite a partir do qual pode prejudicar o desempenho de peixes. No presente estudo, o tambaqui (*C. macropomum*) se mostrou bastante tolerante ao carboidrato na dieta, uma vez que altos níveis de inclusão aumentaram o desempenho produtivo dos peixes.

O tambaqui é considerado um peixe de hábito alimentar onívoro, e se destaca por apresentar um trato digestório característico de alimentação diversificada, com presença de uma mandíbula forte e dentes capazes de quebrar e triturar frutos e sementes, além de possuir rastros branquiais que viabilizam o processo de filtragem do zooplâncton em épocas de escassez de

alimento (VIDAL JUNIOR et al., 1998). O tambaqui consome na natureza cerca de 133 diferentes tipos de frutos e sementes ofertados na Bacia Amazônica de forma sazonal (SILVA et al., 2003<sup>a</sup>), mostrando a capacidade da espécie em se adequar a dieta ofertada.

Para avaliar se a espécie estaria efetivamente utilizando os carboidratos ofertados na dieta, foram avaliadas as atividades hepáticas das enzimas-chave de diferentes vias metabólicas e relacionadas com os metabólitos sanguíneos dos peixes. Os parâmetros sanguíneos são importantes indicativos sobre a resposta animal a dieta (GODOY et al., 2008). Nos animais, o produto final da digestão do carboidrato é a glicose, que chega na corrente sanguínea e é absorvida pelas células intestinais através de transportadores específicos (COLLIE e FERRAIS, 1995). No fígado, o excesso de glicose na dieta é convertido em glicogênio ou lipídios, ou então utilizados para obtenção de energia, podendo também entrar na via das pentoses fosfato para produção de NADPH para biossíntese de ácidos graxos e colesterol (CASTRO et al., 2015). O fígado é o órgão central no controle da homeostase da glicose, podendo agir como consumidor ou produtor deste nutriente. Os hepatócitos expressam diversas enzimas que são ativadas ou desativadas de acordo com os níveis de glicose no sangue. Quando as concentrações de glicose estão elevadas, as enzimas das vias de glicólise, glicogênese e lipogênese são ativadas. Quando as concentrações de glicose no sangue são baixas, as enzimas sintetizadoras de glicose (gliconeogênese) e de quebra de glicogênio (glicogenólise) são ativadas para suprir a demanda de glicose (Kamalam et al., 2017).

A partir dos resultados obtidos, foi observado que o aumento de carboidratos na dieta, aumentou a atividade hepática das enzimas glicolíticas HK, GK e PK, que demonstram que o tambaqui realizou a quebra de glicose vinda da dieta para a produção de energia. Na medida em que aumentou a atividade das enzimas glicolíticas, também aumentou a atividade hepática da enzima G6PDH, relacionada com a lipogênese, responsável pelo aumento da geração de NADPH, necessária para conversão de carboidratos em gordura (AZAZA et al., 2015).

Quando são incorporadas altas concentrações de energia na dieta na forma de glicose, o metabolismo de peixes realiza a lipogênese para a síntese de ácidos graxos e triglicerídeos, isto pelo fato de grande parte dos peixes

utilizarem as proteínas e lipídios como fonte principal de energia (HEMRE et al., 2002). Suárez et al. (1995) comprovaram a relação estreita entre o aumento das concentrações de carboidratos na dieta com o aumento da lipogênese. Este fato também foi observado por Corrêa et al. (2007), que notaram um aumento nos triglicerídeos e aminoácidos presentes no músculo de tambaqui (*C. macropomum*) com o aumento de carboidratos na dieta, constatando também menores concentrações de aminoácidos presentes no tecido hepático. Os autores concluíram que, a espécie apresenta excelente adaptação a concentrações de 40% de amido na dieta, com consequente redução do catabolismo de aminoácidos, e aumento das concentrações de substratos energéticos como os triglicerídeos, demonstrando a utilização de carboidratos como fonte energética, e armazenamento do excedente na forma de lipídios, similarmente como observado no presente estudo. Segundo Correa et al. (2007), o tambaqui, por ter a capacidade de manter a homeostase glicêmica constante, expressa boa habilidade em utilização do carboidrato da dieta. Panserat et al. (2009) concluíram que a via lipogênica hepática pode apresentar um papel fundamental no armazenamento do excesso da glicose, levando a uma melhora na homeostase da glicose, diminuindo a intolerância aos carboidratos nos peixes.

No presente estudo não foram encontradas diferenças significativas entre os níveis de glicose nos juvenis de tambaqui alimentados com diferentes níveis de proteína digestível e carboidratos na dieta. Corrêa et al. (2007) encontraram a mesma resposta em estudo sobre a utilização de diferentes teores de carboidratos pelo tambaqui. Esta resposta pode estar relacionada com a regulação dos níveis de glicose sanguínea mais rápida pela espécie, considerando que os juvenis tenham ficado em jejum por 12 horas antes da coleta do sangue. A dinâmica da glicose mostra a capacidade de algumas espécies em buscar a homeostase glicêmica. Estudos mostram que peixes onívoros e herbívoros possuem capacidade de regulação da concentração de glicose sanguínea em poucas horas. Takahashi et al. (2018) revelaram que o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) tem a capacidade de metabolizar uma carga de 2,0 g kg<sup>-1</sup> de peso corporal de forma relativamente rápida, possuindo um pico de glicose após 4 horas de administração e retornando aos níveis basais após 6 horas, como também observado em robalo europeu (*Dicentrarchus*

*labrax*) alimentado com dietas contendo diferentes níveis de amido, não obtendo diferenças significativas nos níveis de glicemia encontrados (ENES et al., 2006).

O limite de inclusão na dieta é um importante critério específico da espécie que determina a utilização de carboidratos. Uma das mudanças mais comuns associadas ao aumento de níveis de CHO na dieta é o acúmulo de glicogênio no fígado. No entanto, o aumento de carboidratos não promoveu aumento no armazenamento de glicogênio hepático nos tambaquis, sendo observada esta relação de maneira oposta e ainda observado maior teor de glicogênio no fígado de tambaquis alimentados com 23% PD, que pode estar relacionado com o IHS superior nos peixes alimentados com o mesmo nível proteico (ENES et al., 2010). Foi observado por Buzollo et al. (2019) que com o aumento da proteína dietética para juvenis de tambaqui, houve diminuição no IHS, similarmente como observado neste estudo, demonstrando maior deposição de gordura nestes peixes. Neste estudo não houve aumento na glicose sanguínea e glicogênio hepático com o aumento de CHO na dieta, sugerindo que a glicose circulante estava disponível para fornecer energia para o crescimento dos peixes, não sendo armazenada na forma de glicogênio hepático, demonstrando ainda que os carboidratos na dieta não causaram distúrbios metabólicos nos peixes devido ao acúmulo de glicogênio e hiperglicemia.

A deposição de gordura em peixes está associada ao equilíbrio de aminoácidos e a relação proteína:energia da dieta (BUZOLLO et al., 2019). Sandre et al. (2017) encontraram maior deposição de lipídio no fígado e músculo em tambaquis que consumiram maior extrato etéreo na dieta, seguido também de maior colesterol sérico. Assim, o maior IGVS dos peixes alimentados com 25% CHO pode indicar maior reserva de gordura vinda da dieta nas vísceras, uma vez que estas dietas continham maior teor de extrato etéreo. No entanto, os peixes que consumiram maior CHO apresentaram maior teor de triglicerídeos séricos, seguidos de atividade hepática aumentada da enzima G6PDH, sugerindo maior lipogênese nestes peixes.

Nos animais em geral, o colesterol pode ser obtido na dieta, ou sintetizado pelo fígado ou intestino. Em situações normais, o colesterol é diretamente regulado pelos níveis presentes na dieta (MAITA et al., 2006). No

presente estudo, embora as dietas que continham maior porcentagem de extrato etéreo fossem aquelas com menor inclusão de carboidratos, não foram observadas diferenças estatísticas no colesterol sérico em juvenis alimentados com diferentes níveis de carboidratos, apenas naqueles alimentados com 23% PD.

Foram encontradas relações de interação entre os níveis de PD e CHO em todas as enzimas-chave do metabolismo, com exceção da enzima glicoquinase (GK). Segundo Enes et al. (2009), com relação à regulação nutricional, a atividade da enzima hexoquinase (HK) não é afetada pelo conteúdo de carboidratos na dieta em organismos aquáticos, possivelmente pela sua alta afinidade a glicose ( $K_m$  baixo). Entretanto, a expressão hepática da enzima hexoquinase tipo IV, a glicoquinase (GK) responde fortemente às mudanças nos níveis de glicose no sangue devido ao fornecimento de carboidratos na dieta (revisado por PANSERAT et al., 2014b). Autores constataram um aumento na atividade da GK hepática proporcional ao aumento de carboidratos na dieta, mesmo em peixes carnívoros como trutas e dourados (BOU et al., 2014a; CAPILLA et al., 2003). No presente estudo, a atividade hepática da enzima GK teve uma relação linear com o aumento dos carboidratos na dieta, mostrando assim que as espécies estão efetivamente utilizando este nutriente como aporte energético.

Apesar de alta glicólise, os peixes apresentaram também alto catabolismo de aminoácidos, porém, pelo fato dos peixes mostrarem um bom aproveitamento dos carboidratos como fonte energética, possivelmente este acentuado catabolismo de aminoácidos esteja associado à altas taxas de excreção, conforme observado nos altos níveis de amônia sérica encontrados no sangue dos peixes. Embora tenham sido encontradas menores concentrações de proteínas totais e amônia sérica em juvenis alimentados com dieta contendo 26% PD e 35% de CHO, foram determinadas altas atividades hepáticas da AST e ALT, demonstrando haver maior desaminação de aminoácidos e formação de amônia por estes peixes. Uma possível explicação para que esta resposta não refletisse na concentração de amônia sérica seria a maior taxa de excreção por estes peixes, pelo fato da excreção ocorrer por difusão passiva e, como a água tinha baixas concentrações de amônia a excreção ocorreu de forma intensa. Os peixes alimentados com 26 e 29% PD

na dieta, com menor inclusão de carboidratos, apresentaram maior nível de proteínas totais no sangue, este fato pode estar relacionado com o menor catabolismo de aminoácidos expresso pelas atividades hepáticas das enzimas AST e ALT diminuídas no momento da amostragem, como representado na Figura 3.

Os peixes alimentados com 23% PD, apresentaram altas atividades hepáticas das enzimas AST e ALT, relacionadas também com altos níveis de amônia no sangue, mostrando que um excesso de proteínas na dieta estava ainda sendo catabolizado para eliminação na forma de excreta nitrogenada. No entanto, as altas atividades hepáticas das enzimas digestivas, relacionadas com o alto índice hepatossomático destes peixes, pode sugerir uma diminuição muito grande da proteína da dieta, com conseqüente sobrecarga hepática destes animais. Assim, foi observado a possibilidade de diminuição da inclusão de proteínas digestível em dietas para tambaqui de 29% para 26% de PD através da adição de carboidratos, sem prejuízos para a saúde dos peixes.

Este estudo mostra que com o aumento de carboidratos na dieta há um aumento na lipogênese dos peixes. Os altos níveis de glicose plasmática, triglicerídeos e colesterol séricos e alta atividade hepática da enzima G6PDH são um reflexo do metabolismo lipídico aumentado nos tambaquis alimentados com dietas contendo carboidratos, indicando uma ingestão excessiva de energia (WANG et al., 2017).

## **CONCLUSÃO**

No presente trabalho, foi verificado o efeito poupador de proteína em tambaquis, uma vez que os juvenis alimentados com níveis de proteína digestível inferiores à sua exigência proteica obtiveram o mesmo desempenho produtivo através da adição dos carboidratos na dieta. Em relação ao metabolismo intermediário, o tambaqui demonstrou capacidade de regulação das suas enzimas metabólicas para utilização dos carboidratos para obtenção de energia, sem prejuízos no desempenho dos peixes, demonstrando a possibilidade de diminuição da proteína de 29% PD para 26% sem prejuízos na saúde dos peixes através da adição de 35% de carboidratos na dieta.

## REFERÊNCIAS

AOAC, **Official Methods of Analysis. Association of Official Agricultural Chemists**, Washington, 2000.

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

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

BOONANUNTANASARN, S., KUMKHONG, S., YOOHAT, K., PLAGNES-JUAN, E., BUREL, C., MARANDEL, L., PANSERAT, S. Molecular responses of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to different levels of dietary carbohydrates. **Aquaculture**, v. 482, p. 117-123, 2018.

BOU, M., TODORČEVIĆ, M., FONTANILLAS, R., CAPILLA, E., GUTIÉRREZ, J., NAVARRO, I. Adipose tissue and liver metabolic responses to different levels of dietary carbohydrates in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **Comparative Biochemistry Physiology. Part A: Molecular & Integrative Physiology**, 175, 72–81, 2014<sup>a</sup>.

BUZOLLO H., SANDRE L. C. G.; NEIRA L. M.; JOMORI R. K.; CARNEIRO D. J. Apparent digestibility coefficients of feedstuff used in tambaqui diets. **Boletim Instituto de Pesca**, v. 44, p. 1-7, 2018.

BUZOLLO, H.; SANDRE, L.C.G.; NEIRA, L.M.; NASCIMENTO, T.M.T.; JOMORI, R.K.; CARNEIRO, D.J. Digestible protein requirements and muscle growth in juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Aquaculture Nutrition**, p.1-11, 2019.

CAPILLA, E.; MÉDALE, F.; NAVARRO, I.; PANSERAT, S.; VACHOT, C.; KAUSHIK, S.; GUTIÉRREZ, J. Muscle insulin binding and plasma levels in relation to liver glucokinase activity, glucose metabolism and dietary carbohydrates in rainbow trout. **Regulatory Peptides**, 110, 123–132, 2003.

CARBONELL, J.; FELIU, J.E.; MARCO, R.; SOLS, A. Pyruvate Kinase. Classes of regulatory isoenzymes in mammalian tissues. **European Journal of Biochemistry**, p. 148-156. 1973.

CASTRO, C., CORRAZE, G., PÉREZ-JIMÉNEZ, A., LARROQUET, L., CLUZEAUD, M., PANSERAT, E., OLIVA-TELES, A. Dietary carbohydrate and lipid source affect cholesterol metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. **British Journal of Nutrition** v.114, p. 1143–1156, 2015.

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

COLLIE, N. L., AND R. P. FERRARIS. Nutrient fluxes and regulation in fish intestine, pp. 221–239. In: *Metabolic Biochemistry, Vol. 4* (Hochachka, P. W., and T. P. Mommsen, Eds.). Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science, 1995.

ENES, P., PANSEERAT, S., KAUSHIK, S., OLIVA-TELES, A. Dietary carbohydrate utilization by European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) and gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) juveniles. **Reviews in Fisheries Science**, 19, 201–215, 2011a.

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

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

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

GIMBO, F.Y. Ajuste metabólico e respostas imunes de pacu alimentados com diferentes níveis de carboidrato e submetidos a jejum prolongado. 2015, f.56. *Tese (Doutorado em Zootecnia). Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Agrárias, Jaboticabal, São Paulo.*

GODOY, H.B.R.; LANDELL-FILHO, L.C.; BIANCHINI-SOBRINHO, E. GODOY, M.M.O uso da silagem de subprodutos da filetagem de peixe na alimentação de suínos em crescimento – parâmetros séricos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.45, n.6, p.429-436, 2008.

GOMES, L.C.; SIMÕES, L.N.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; BALDISSEROTTO, B. e GOMES, L.C. Tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2ª ed. Santa Maria, p.175-204, 2010.

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

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

KROGDAHL, Å., HEMRE, G.I., MOMMSEN, T. Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. **Aquaculture Nutrition**, 11, 103–122, 2005.

KUBITZA, F. Qualidade de água na produção de peixes e camarões. Ed. Kubitza, 2000.

LEGATE, N.J.; BONEN, A.; MOON, T.E. Glucose tolerance and peripheral glucose utilization in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), American eel (*Anguilla anguilla*), and black bullhead catfish (*Ameiurus melas*). **Gen Comp Endocrinol**, v.122, p.48-59, 2001.

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

MAITA, M.; MAEKAWA, J.; SATOH, K. I.; FUTAMI, K.; SATOH, S. Disease resistance and hypocholesterolemia in yellowtail *Seriola quinqueradiata* fed a nonfishmeal diet. **Fisheries Science**, v. 72, p. 513-519, 2006.

MOHANTA, K.N.; MOHANTY, S.N.; JENA, J.K. Protein-sparing effect of carbohydrate in silver barb, *Puntius gonionotus* fry. **Aquaculture Nutrition**, v.13, n.4, p.311-17, 2007.

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

NRC, 2011. Carbohydrates and Fiber, in: Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. The National Academies Press, Washington DC, pp. 135–162.

PANSERAT, S., RIDEAU, N., POLAKOF, S. Nutritional regulation of glucokinase: a crossspecies story. **Nutrition Research Reviews**, 27 (01), 21–47, 2014B.

PANSERAT, S., SKIBA-CASSY, S., SEILIEZ, I., LANSARD, M., PLAGNES-JUAN, E., VACHOT, C., AGUIRRE, P., LARROQUET, L., CHAVERNAC, G., MEDALE, F., CORRAZE, G., KAUSHIK, S., MOON, T.W. Metformin improves postprandial glucose homeostasis in rainbow trout fed dietary carbohydrates: a link with the induction of hepatic lipogenic capacities? *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Journal of Comparative Physiology*, V.297, p.707–715, 2009.

PEREIRA, M. M.; NEGATA, M. M.; ENES, P.; OLIVA-TELES, A.; URBINATI, E. C.; TAKAHASHI, L. S. Growth performance and metabolic responses to dietary protein/carbohydrate ratios in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles. **Aquaculture Research**, v. 51, p. 5203-5211, 2020.

PÉREZ-JIMÉNEZ, A.; ABELLÁN, E.; ARIZCUN, M.; CARDENETE, G.; MORALES, A. E.; HIDALGO, M.C. Nutritional and metabolic responses in common dentex (*Dentex dentex*) fed on different types and levels of carbohydrate. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 184, p. 56-64, 2015.

PÉREZ-JIMÉNEZ, A.; HIDALGO, C. M.; MORALES, A. E.; ARIZCUN, M.; ABELLÁN E.; CARDENETE, G. Use of different combinations of macronutrients in diets for dentex (*Dentex dentex*). Effects on intermediary metabolism. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, v.152, p.314-321, 2009.

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

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

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

SANDRE, L.C.G., BUZOLLO, H., NASCIMENTO, T.M.T., NEIRA, L.M., JOMORI, R.K., CARNEIRO, D.J. Productive performance and digestibility in the initial growth phase of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed diets with

different carbohydrate and lipid levels. **Aquaculture Reports**, v.6, p.28-34, 2017.

SILVA, J.A.M.; PEREIRA-FILHO, M.; OLIVEIRA-PEREIRA, M.I. Valor energético de espécies vegetais importantes na alimentação do tambaqui. **Acta Amazônica**, v.33, p.687-700, 2003.

SPANNHOF, L., PLANTIKOW, H. Studies on carbohydrate digestion in rainbow trout. **Aquaculture** 30, 95–108, 1983.

STONE, D.A.J. Dietary carbohydrate utilization by fish. **Reviews in Fisheries Science**, 11, 337–370, 2003.

SUAREZ, R. K.; MOMMSEN, T. P. Gluconeogenesis in teleost fishes. **Canadian Journal of Zoology**, v. 65, p. 1869-1882, 1987.

TAKAHASHI, L.S.; BALDAN, A.P.; URBINATI, E.C. Growth performance and energetic metabolism of pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) fed diets supplemented with ammonium metavanadate. **Aquaculture Research**, v.37, p.1372-7, 2006.

TAKAHASHI, L.S.; HA, N.; PEREIRA, M.M.; BILLER-TAKAHASHI, J.D.; URBINATI, E.C. Carbohydrate tolerance in the fruit-eating fish *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). **Aquaculture Research**, v.49, p.1182-1188, 2018.

VERDOUW, H.; VAN ECHELD, C.J.A.; DEKKERS, E.M.J. Ammonia determination based on indophenol formation with sodium salicylate. **Water Research**, v.12, n.6, p.399-402, 1978.

VIDAL JUNIOR, M. V.; DONZELE, J. L.; CAMARGO, A. C. S.; ANDRADE, D.; SANTOS, L. C. Níveis de proteína bruta para tambaqui (*Colossoma macropomum*), na fase de 30 a 250 gramas. 1. Desempenho dos tambaquês. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 27, n. 3, p. 421-426, 1998.

WANG, X., CHEN, M., WANG, K., YE, J. Growth and metabolic responses in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) subjected to varied starch and protein levels of diets. **Italian Journal of Animal Science**, v. 16, p. 308-316, 2017.

WANG, J.; LI, X.; HAN, T.; YANG, M.; HARPAZ, S. Effects of different dietary carbohydrate levels on growth, feed utilization and body composition of juvenile grouper *Epinephelus akaara*. **Aquaculture**, v. 459, p.143-147, 2016.

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