

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 03/02/2018.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**NÍVEIS DE CARBOIDRATOS E LIPÍDIOS EM DIETAS PARA
JUVENIS DE TAMBACUI (*Colossoma macropomum*):
VARIÁVEIS PRODUTIVAS, FISIOLÓGICAS E TURNOVER
ISOTÓPICO**

Lidiane Cristina Gonçalves de Sandre

Zootecnista

2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**NÍVEIS DE CARBOIDRATOS E LIPÍDIOS EM DIETAS PARA
JUVENIS DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*):
VARIÁVEIS PRODUTIVAS, FISIOLÓGICAS E TURNOVER
ISOTÓPICO**

Lidiane Cristina Gonçalves de Sandre

Orientador: Prof. Dr. Dalton José Carneiro

Coorientadora: Profa. Dra. Rosângela Kiyoko Jomori Bonichelli

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de
Jaboticabal, como parte das exigências para
a obtenção do título de Doutor em Zootecnia.**

2016

S219n Sandre, Lidiane Cristina Gonçalves de
Níveis de carboidratos e lipídios em dietas para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*): variáveis produtivas, fisiológicas e *turnover* isotópico / Lidiane Cristina Gonçalves de Sandre. – – Jaboticabal, 2016
v, 115 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2016

Orientador: Dalton José Carneiro

Coorientadora: Rosângela Kiyoko Jomori Bonichelli

Banca examinadora: Eduardo Gianini Abimorad, Mônica Serra, Marta Verardino de Stéfani, Luiz Edivaldo Pezzato

Bibliografia

1. Carbono. 2. Deutério. 3. Extrativo não nitrogenado. 4. Extrato etéreo. 5. Isótopos estáveis. 6. Metabolismo energético. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 639.3.043.2

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

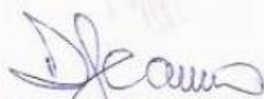
TÍTULO DA TESE: NÍVEIS DE CARBOIDRATOS E LIPÍDIOS EM DIETAS PARA JUVENIS DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*): VARIÁVEIS PRODUTIVAS, FISIOLÓGICAS E TURNOVER ISOTÓPICO.

AUTORA: LIDIANE CRISTINA GONÇALVES DE SANDRE

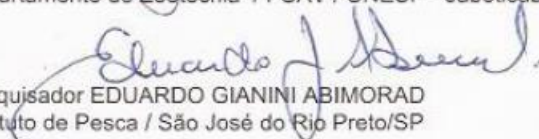
ORIENTADOR: DALTON JOSÉ CARNEIRO

COORIENTADOR: ROSANGELA KIYOKO JOROMI BONICHELLI

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



Prof. Dr. DALTON JOSÉ CARNEIRO
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal



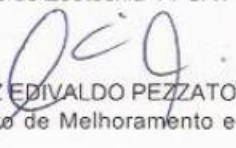
Pesquisador EDUARDO GIANINI ABIMORAD
Instituto de Pesca / São José do Rio Preto/SP



Profa. Dra. MÔNICA SERRA
Professora Substituta / Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal



Prof. Dr. MARTA VERARDINO DE STÉFANI
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Prof. Dr. LUIZ EDIVALDO PEZZATO
Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal / Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu

Jaboticabal, 03 de fevereiro de 2016

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

LIDIANE CRISTINA GONÇALVES DE SANDRE – nascida na cidade de Ribeirão Preto, SP, no dia 11 de junho de 1984. Em agosto de 2004 ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas (FCAT), em Dracena. Durante a graduação, realizou estágios na área de produção animal e desenvolveu projeto de extensão junto à produtores de peixes da região, sob orientação do Prof. Dr. Leonardo Susumu Takahashi e do Prof. Dr. Juliano Fiorelli com bolsa da Pró-Reitoria de Extensão Universitária (PROEX). Ao término do curso foi premiada pelo Conselho Regional de Medicina Veterinária do Estado de São Paulo como 1ª colocada no curso de Zootecnia – 2009, tendo em vista sua aprovação em 1º lugar no conjunto das disciplinas profissionalizantes. Em agosto de 2009, ingressou no curso de Mestrado em Aquicultura do Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) em Jaboticabal, sob orientação do Prof. Dr. Dalton José Carneiro, com bolsa financiada pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Em março de 2012, ingressou no curso de Doutorado em Zootecnia na FCAV também sob orientação do Prof. Dr. Dalton José Carneiro, com auxílio e bolsa financiados pela FAPESP.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

Madre Teresa de Calcutá

DEDICO

Aos meus pais, Ilydio de Sandre e Ana Vera de Sandre que acreditaram, incentivaram e me concederam a oportunidade de estudar, sem medir esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

A Deus, por nunca me desamparar e por me dar saúde, força e sabedoria para superar todas as dificuldades e conquistar mais um objetivo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Dalton José Carneiro, pelos conhecimentos a mim transmitidos, pela confiança e dedicação.

À minha coorientadora Profa. Dra. Rosângela Kiyoko Jomori Bonichelli, pela colaboração na realização deste trabalho e pela amizade construída ao longo destes anos.

Aos membros da banca examinadora de qualificação e defesa: Profa. Dra. Elisabeth Criscuolo Urbinati, Dr. Daniel Mendes Borges Campos, Profa. Dra. Marta Verardino de Stéfani, Dr. Eduardo Gianini Abimorad, Profa. Dra. Mônica Serra, Prof. Dr. Luiz Edivaldo Pezzato. Muito obrigada pela inestimável contribuição, pelas valiosas sugestões e boa vontade em compartilhar conhecimentos.

À FAPESP por conceder a bolsa de estudos e o auxílio à pesquisa.

Ao Prof. Dr. Carlos Ducatti, ao Evandro Tadeu da Silva, a todos os funcionários e alunos do Centro de Isótopos Estáveis da UNESP de Botucatu, pelo apoio técnico e importante colaboração na realização das análises isotópicas.

A todos os amigos do Laboratório de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV/UNESP de Jaboticabal, em especial ao Rodrigo Gimbo (meu companheiro de lar), a Gisele Fávero e a técnica Damares, sempre dispostos a me ajudar nas coletas, análises e interpretação dos resultados.

Aos alunos e ao funcionário Roberto do Setor de carcinicultura do CAUNESP por me receberem tão bem durante o tempo em que realizei a pesagem de minhas amostras.

A todos os docentes, alunos e funcionários do CAUNESP pelo convívio e apoio constante.

À toda minha família, em especial aos meus pais (Ilydio e Ana Vera) por sempre acreditar em mim e me proporcionar a maior herança que poderiam ter deixado, a educação e a cultura.

Ao Dallas Flickinger, meu companheiro, pela presença amorosa, cumplicidade, ajuda nas traduções e pelo incentivo dado durante os momentos mais difíceis.

Ao Prof. Dr. João Pizauro, pelas dicas valiosas para melhor compreensão da correlação existente entre os resultados isotópicos e fisiológicos.

À grande amiga Josi Paschoaloto pela doação de seu tempo e companheirismo na realização das análises de amido.

À Silvinha, pela ajuda nas análises de água e pela amizade.

À amiga Mayara (Joaninha) pelas nossas aventuras e momentos de descontração.

À empresa Guabi pela doação de alguns alimentos utilizados na elaboração das dietas.

A todos os amigos da época em que estudei em Dracena, pelos reencontros e momentos de diversão.

Ao Prof. Dr. Leonardo Takahashi, pelo apoio e grande incentivo durante toda a minha jornada acadêmica.

Às irmãs de coração que a vida me deu, Elane e Thays, pela dedicação de tantos anos em cultivar essa linda amizade. *“Pode ser que um dia não mais existamos. Mas, se ainda sobrar amizade, nasceremos de novo um para o outro”* (Albert Einstein).

Aos amigos do Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos: Natália Leitão, Thiago (Nogento), Thiago (Strumi), Jesaías, Rafael Serafim, Amanda, Thyssia, Ivã, Thalys, Andressa, Joseane, Fred, Juliano, Taís, Bruna, Rudney e em especial a Juliana Tomomi (minha companheira de lar e a pessoa com o maior coração do mundo) e as minhas “irmãs” Hellen e Lígia que foram fundamentais em todas as etapas deste trabalho, pelas conversas e momentos de alegrias que passamos juntas. *“Abençoados os que possuem amigos, os que os têm sem pedir. Porque amigo não se pede, não se compra e nem se vende. Amigo a gente sente!”* (Machado de Assis).

A todos, o meu muito obrigada!

SUMÁRIO

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....	iii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT	v
CAPÍTULO 1 – Considerações gerais.....	1
1. Introdução	1
2. Revisão de literatura	2
2.1 Carboidratos na nutrição e no metabolismo de peixes	2
2.2 Lipídios na nutrição e metabolismo de peixes	6
2.3 Isótopos estáveis e sua aplicação em estudos alimentares	9
2.4 Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>): aspectos gerais e nutrição	14
3. Objetivos	17
4. Referências.....	18
CAPÍTULO 2 – Desempenho produtivo e digestibilidade de dietas contendo diferentes níveis de carboidratos e lipídios para o tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)	33
1. Introdução	35
2. Material e métodos.....	36
3. Resultados	42
4. Discussão	49
5. Conclusões	53
6. Referências.....	53
CAPÍTULO 3 – Crescimento e metabolismo energético de tambaquês (<i>Colossoma macropomum</i>) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de carboidratos e lipídios	60
1. Introdução	62
2. Material e métodos.....	63
3. Resultados	67

4. Discussão	70
5. Conclusões	74
6. Referências	75
CAPÍTULO 4 – <i>Turnover</i> isotópico de carbono $\delta^{13}\text{C}$ e deutério $\delta^2\text{H}$ em tecidos de juvenis de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de carboidratos e lipídios	81
1. Introdução	83
2. Material e métodos.....	84
3. Resultados e discussão	92
4. Conclusões	106
5. Referências	107
CAPÍTULO 5 – Considerações finais	114

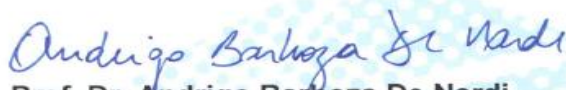
CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

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

**CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS****CERTIFICADO**

Certificamos que o Protocolo nº 018492/12 do trabalho de pesquisa intitulado "**Níveis de carboidratos e lipídios em dietas para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) e turnover isotópico do carbono (^{13}C) e deutério (^2H)**", sob a responsabilidade do Prof. Dr. Dalton José Carneiro está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação (COBEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 04 de setembro de 2012.

Jaboticabal, 04 de setembro de 2012.


Prof. Dr. Andrigo Barboza De Nardi
Coordenador - CEUA

NÍVEIS DE CARBOIDRATOS E LIPÍDIOS EM DIETAS PARA JUVENIS DE TAMBACUI (*Colossoma macropomum*): VARIÁVEIS PRODUTIVAS, FISIOLÓGICAS E TURNOVER ISOTÓPICO

RESUMO

O tambaqui *Colossoma macropomum* é o peixe nativo brasileiro mais produzido na aquicultura continental de água doce. No entanto, pouco ainda se sabe sobre as exigências qualitativas e quantitativas de nutrientes das espécies nativas utilizadas na aquicultura. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial de utilização de lipídios e carboidratos em dietas para juvenis de tambaqui, por meio de análise do desempenho produtivo, da composição corporal, do metabolismo energético e do *turnover* isotópico dos nutrientes no músculo, no fígado e na gordura visceral. Na fase pré-experimental, foram utilizados 3.600 juvenis de tambaqui que receberam uma dieta baseada em plantas do ciclo fotossintético C₃ por um período de 70 dias, para que os tecidos corporais expressassem a composição isotópica semelhante ao da dieta ofertada. Após esse período, 1080 peixes (com peso aproximado de 10 g) foram distribuídos aleatoriamente em 24 tanques e alimentados com a dieta baseada em plantas do ciclo fotossintético C₄, durante 120 dias. O experimento foi realizado com seis tratamentos e quatro repetições em esquema fatorial 3 x 2 constituído por três níveis de extrativo não nitrogenado (41, 46 e 51% ENN) e dois teores de extrato etéreo (4 e 8% EE). O maior nível de inclusão de ENN (51%) causou redução no consumo e, conseqüentemente, no crescimento dos animais. O incremento no teor de EE para 8% aumentou a deposição de gordura corporal, reduziu os coeficientes de digestibilidade dos nutrientes e da energia, elevou os triglicerídeos séricos e também a gordura do fígado e músculo. Houve efeito poupador de proteína para o crescimento nos tambaquis alimentados com 46% de ENN, uma vez que apresentaram melhores resultados para ganho em peso, taxa de eficiência proteica, eficiência de retenção de proteína bruta e participação da proteína bruta no ganho em peso. O período de experimentação de 120 dias foi suficiente para refletir a composição isotópica das dietas e, pelo $\delta^{13}\text{C}$, o músculo foi o tecido que mais evidenciou as diferenças entre as dietas, com o *turnover* isotópico mais acelerado em animais que receberam as dietas com menores teores de carboidrato (41 e 46%) e lipídios (4%). Para o deutério, os valores isotópicos permitiram a projeção do *turnover* exponencial e as taxas foram mais aceleradas no fígado e gordura visceral, para as dietas contendo maiores teores de carboidrato e/ ou lipídios. Desta forma, pode-se afirmar que o tambaqui utiliza tão bem os lipídios como os carboidratos para maximização do aproveitamento de proteína. Os resultados indicam que o melhor balanceamento entre os níveis de ENN e EE dietético foi 46% e 4%, respectivamente, sem prejudicar o crescimento e evitar acúmulo excessivo de gordura em juvenis de tambaqui.

Palavras-chave: carbono, deutério, extrativo não nitrogenado, extrato etéreo, isótopos estáveis, metabolismo energético

LEVELS OF CARBOHYDRATES AND LIPIDS IN DIETS FOR JUVENILES OF TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*): PRODUCTIVE, PHYSIOLOGICAL AND ISOTOPIC TURNOVER VARIABLES

ABSTRACT

The tambaqui *Colossoma macropomum* is the most produced native fish in Brazil in continental freshwater aquaculture. Little is known, however, about the qualitative and quantitative requirements of nutrients for the native species used in aquaculture. From this context, the objective of this study was to evaluate the potential of using lipids and carbohydrates in diets for juveniles of tambaqui, through the analyses of performance, body composition, energy metabolism, and the isotopic turnover of nutrients in the muscle, liver and visceral fat. In the pre-experimental phase, 3600 tambaqui juveniles were used which received a diet based on plants from the C₃ photosynthetic cycle for a period of 70 days, in which the body tissues would express the isotopic signature similar to the offered diet. After this period, 1080 fish (with a weight of approximately 10 g) were randomly distributed into 24 tanks and were fed diets based on plants from the C₄ photosynthetic cycle, for 120 days. The experiment was carried out with six treatments and four replications in a 3 x 2 factorial scheme consisted of three levels of nitrogen free extract (41, 46 and 51% NFE) and two levels of ether extract (4 and 8% EE). The highest level of inclusion of the NFE (51%) caused a reduction in the consumption and consequently in the growth of the animals. The increase in the level of EE to 8% increased the deposition of body fat, reduced the coefficients of digestibility of the nutrients and energy, increased serum triglycerides and the fat in liver and muscle. There was a protein-sparing effect for the growth of the tambaquis fed with 46% of NFE, since these animals presented the best results for weight gain, protein efficiency rate, retention efficiency of crude protein, and participation of the crude protein in the weight gain. The experimental period of 120 days was sufficient to reflect the isotopic composition of the diets and, for the $\delta^{13}\text{C}$, the muscle was the best tissue to demonstrate the differences between the diets, with a more accelerated isotopic turnover in animals receiving the diets with lower levels carbohydrates (41 and 46%) and lipids (4%). For the deuterium, the isotope values allowed the projection of the exponential isotopic *turnover* and the rates were more accelerated in the liver and visceral fat, for the diets containing greater levels of carbohydrates and/ or lipids. Thus, the tambaqui can be affirmed to use the lipids as efficiently as carbohydrates to maximize the use of protein. The results indicate that the best balance between the levels of dietary NFE and EE was 46 and 4%, respectively, without impairing growth and avoiding an excessive accumulation of fat in juveniles of tambaqui.

Keywords: carbon, deuterium, nitrogen free extract, ether extract, stable isotopes, energy metabolism

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1. Introdução

Atualmente, com o desenvolvimento da produção piscícola, o tambaqui *Colossoma macropomum* é criado e difundido em diversas regiões do Brasil e do continente sul-americano (BRASIL, 2013). Em razão dos custos com a alimentação de peixes e da importância do tambaqui para aquicultura brasileira, é necessário conhecer suas exigências nutricionais para elaboração e produção de rações balanceadas que permitam a máxima resposta produtiva, proporcionando saúde aos peixes confinados e minimizando os impactos ambientais (EMBRAPA, 2011).

Os pesquisadores em nutrição de peixes têm dado bastante atenção para a questão da redução do teor de proteína das dietas com concomitante maximização da utilização proteica para o crescimento (RUNGRUANGSAK-TORRISSEN et al., 2009). A otimização do uso da proteína pode ser obtida com o aumento da concentração energética da dieta pela adição de nutrientes não proteicos, como lipídios e carboidratos (WATANABE; ELLIS; CHAVES, 2001). Estes, em proporções adequadas, resultam em economia da proteína para crescimento (efeito poupador de proteína), reduzindo a excreção de nitrogênio e melhorando assim a qualidade do efluente da criação de peixes (KAUSHIK; MÉDALE, 1994).

De maneira geral, a determinação das exigências nutricionais nas diferentes espécies é feita com base na avaliação do desempenho proporcionado pelas dietas (BICUDO; SADO; CYRINO, 2009). Entretanto, nestes estudos a influência dessas dietas em aspectos fisiológicos e metabólicos dos animais é pouco estudada, principalmente quando relacionados às espécies de peixes tropicais. Esses fatores podem ser importantes ferramentas no conhecimento da dinâmica de utilização dos nutrientes (CAMARGO; POUÉY; MARTINS, 2005).

Metabolicamente, o crescimento muscular reflete a incorporação dos nutrientes da dieta, especificamente dos bioelementos, como os átomos de carbono, nitrogênio, hidrogênio, oxigênio e enxofre, que são os responsáveis por mais de 90% de todos os tecidos vivos. A incorporação dos átomos das dietas nos tecidos animais pode ser mensurada pela técnica dos isótopos estáveis que se apresenta como uma ferramenta potencialmente importante para as pesquisas em fisiologia, uma vez que o *turnover*

destes elementos químicos nos tecidos vivos está associado ao crescimento dos animais (DUCATTI, 2007). Assim, avanços nessa tecnologia têm aberto novas possibilidades para análises de materiais biológicos em estudos ambientais.

Portanto, tendo em conta o hábito alimentar onívoro do tambaqui (HONDA, 1974) e a carência de informações sobre a utilização de fontes energéticas não proteicas em sua dieta, torna-se necessário avaliar o potencial de aproveitamento de lipídios e carboidratos para maximizar a utilização da proteína no crescimento, além de compreender melhor o aproveitamento desses nutrientes das dietas através do desempenho e de parâmetros fisiológicos de juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo diferentes combinações de lipídios e carboidratos.

CAPÍTULO 5 – Considerações finais

O propósito deste trabalho foi estudar a inclusão de diferentes níveis de carboidratos e lipídios para juvenis de tambaqui visando otimizar a utilização da proteína para o crescimento. Baseado nos dados apresentados é possível constatar que houve efeito poupador de proteína quando se incluiu 46% de extrativo não nitrogenado (ENN) nas dietas, uma vez que foi observado maior ganho em peso, melhor taxa de eficiência proteica, maior eficiência de retenção de proteína bruta e maior participação da proteína bruta no ganho em peso. Além disso, apresentou resultados satisfatórios das variáveis fisiológicas relacionadas ao metabolismo energético, mostrando a capacidade desta espécie, de hábito alimentar onívoro, em buscar a homeostase glicêmica. Dessa forma, este nível é o mais indicado para o crescimento do tambaqui. Sugere-se ainda, que a inclusão de extrato etéreo (EE) seja de 4% a fim de evitar redução dos coeficientes de digestibilidade aparente de nutrientes e energia e também o acúmulo excessivo de gordura corporal, que no caso do tambaqui foi bastante elevada no tecido muscular. Portanto, tal característica pode comprometer a qualidade do produto final.

A presente pesquisa apresentou importantes contribuições sobre a utilização dos isótopos estáveis como uma metodologia complementar em estudos de nutrição de peixes para auxiliar na compreensão dos resultados. O *turnover* isotópico do $\delta^{13}\text{C}$ nos tecidos analisados mostrou correlações com o desempenho e as variáveis fisiológicas, com maiores taxas de incorporação para as dietas que proporcionaram menor deposição de gordura nos tecidos.

Na intenção de aprimorar a técnica isotópica e disponibilizar mais informações sobre o assunto, este trabalho é um dos pioneiros no Brasil a estudar o *turnover* isotópico do deutério (^2H) em tecidos de peixes. A incorporação deste isótopo apresentou taxas mais aceleradas em tecidos mais ricos em lipídios, um empobrecimento do tecido no deutério e também maior fracionamento em relação as dietas. Para uma melhor compreensão da incorporação do deutério, outros estudos são necessários a fim de buscar respostas mais conclusivas sobre a relação que pode existir entre este isótopo com rotas metabólicas que envolvam principalmente os lipídios, a água e a perda ou o ganho de átomos de hidrogênio. É uma lacuna que surgiu à medida que os resultados foram interpretados, e esperamos que as

informações apresentadas possam contribuir para abrir novos caminhos em pesquisas nesta área, visando a possibilidade de incluir mais um bioelemento, o deutério, em estudos de nutrição animal.