



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

Altiery Felix e Silva

**DESEMPENHO, PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS,
METABOLISMO E ENZIMAS DIGESTIVAS DE TAMBAQUI
(*Colossoma macropomum*) ALIMENTADOS COM DIFERENTES
FONTES E NÍVEIS DE CARBOIDRATO E REDUÇÃO DA
PROTEÍNA.**

PETROLINA-PE
2016

ALTIERY FELIX E SILVA

**DESEMPENHO, PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS,
INTERMEDIÁRIOS METABÓLICOS E ENZIMAS DIGESTIVAS DE
JUVENIS DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)
ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO DIFERENTES
FONTES E NÍVEIS DE CARBOIDRATO E REDUÇÃO DA
PROTEÍNA.**

Dissertação apresentada como
requisito para obtenção do título
de Mestre em ciência animal
pela Universidade Federal do
Vale do São Francisco.

Orientador: Dr José Fernando
Bibiano Melo

PETROLINA-PE
2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

Altiery Felix e Silva

DESEMPENHO, PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS, INTERMEDIÁRIOS METABÓLICOS E ENZIMAS DIGESTIVAS DE JUVENIS DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO DIFERENTES FONTES E NÍVEIS DE CARBOIDRATO E REDUÇÃO DA PROTEÍNA.

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em ciência animal pela Universidade Federal do Vale do São Francisco.

Aprovado em: 28 de Julho de 2016.

Banca Examinadora

Prof. Dr. José Fernando Bibiano Melo (Orientador)
Doutor em Ciências Fisiológicas
Universidade Federal do Vale do São Francisco

Prof. Dr. Carlos Eduardo Copatti
Depto. de Zoologia do Instituto de Biologia
Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. David Ramos da Rocha
Doutor em Zootecnia
Universidade Federal do vale do São Francisco

Dedico,

“À toda minha família e amigos!”

Agradecimentos

Agradeço ao meu pai Almir Felix Gonçalves, que sempre me apoiou em todas as minhas decisões.

A minha mãe Maria Daguima Felix e Silva, que sempre procurou me motivar durante a minha jornada.

A minha esposa Jessyca Samara Silva Pereirae ao meu filho Brayan Felix Pereira, que me apoiou e me motivou mesmo estando distante.

Aos meus irmãos Elias Roberto Felix e Silva e Iraumir Thercio Felix e Silva, que ficaram ajudando meu pai e minha mãe durante o período que estive ausente.

Ao meu orientador José Fernando Bibiano Melo, pela oportunidade, orientação e pela amizade.

A Rosangela (secretária da Pós-Graduação em Ciência Animal), pela atenção e amizade.

Aos meus amigos de laboratório Anderson Miranda de Souza, Geraldo Fernandes de Souza Germino, Elizângela Maria de Souza, Renilde Cordeiro de Souza, Seldon Almeida de Souza, Eloilton Pereira de Oliveira, essa equipe é responsável pela produção dos mais diversos tipos de trabalho no laboratório de aquicultura.

Aos meus amigos estagiários Emerson, Andressa, Thaimara, Ruht, Laísa, Marcia, que estão sempre a disposição para ajudar nas atividades do dia a dia.

A Codevasf e a Embrapa, pelo apoio técnico e de material.

A CAPES, pela concessão de bolsa durante o período de realização do mestrado.

A LABTEST, pelo fornecimento de reagentes pelo projeto rede.

E a todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste mestrado.

“Lute com determinação, abrace a vida com paixão, perda com classe e vença com ousadia. O mundo pertence a quem se atreve e a vida é muito para ser insignificante”.

(Charles Chaplin)

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho, os parâmetros hematológicos, as respostas metabólicas e a atividade das enzimas hepáticas e digestivas em juvenis de tambaqui alimentados com diferentes fontes, níveis de carboidratos e concentrações de proteína. Foram avaliadas oito dietas com variações de: (FM – fubá de milho; MI – manga *in natura*; PB – proteína bruta) nas proporções de FM/PB 30%/30%, 36%/28%, 42%/26% e 48%/24% - MI/PB 30%/30%, 36%/28%, 42%/26% e 48%/24%. Durante 47 dias 144 ($3,93 \pm 0,5$ g) juvenis de tambaqui foram alimentados *ad libitum* duas vezes ao dia em sistema fechado de recirculação de água. Ao final do experimento foram avaliados o desempenho, parâmetros hematológicos, respostas metabólicas, atividade de enzimas hepáticas e digestivas. Os peixes alimentados com a dieta FM/PB – 42%/26% apresentaram o melhor desempenho. Nos parâmetros hematológicos todas as variáveis avaliadas apresentaram diferenças significativas. Entre os parâmetros hematimétricos, o hematócrito não apresentou interação entre as fontes e níveis. As variáveis metabólicas responderam às dietas testadas para manter os processos de obtenção de energia. A albumina plasmática e as triglicérides não apresentaram interação. As atividades das enzimas hepáticas são responsivas as rações testadas e apresentaram interação significativa. As atividades das enzimas digestivas avaliadas apresentaram efeito de interação. Pode-se concluir que as dietas com o fubá de milho nas proporções de 42/26 (fubá de milho/proteína bruta) produzem maior crescimento no tambaqui e mantém normais os parâmetros hematológicos e as respostas metabólicas.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the performance, hematological, metabolic responses and the activity of the liver and digestive enzymes in tambaqui juveniles fed different sources, carbohydrate levels and protein concentrations. eight diets with variations were evaluated: (FM - corn meal, MI - Mango in natura; PB - crude protein) in FM ratios / PB 30% / 30%, 36% / 28%, 42% / 26% and 48% / 24% - MI / PB 30% / 30%, 36% / 28%, 42% / 26% and 48% / 24%. For 47 days 144 (3.93 ± 0.5 g) tambaqui juveniles were fed ad libitum twice daily in a closed recirculating water system. At the end of the experiment were evaluated the performance, hematological, metabolic responses, activity of liver and digestive enzymes. Fish fed the FM / CP diet - 42% / 26% showed the best performance. Haematological parameters all the variables showed significant differences. Among the hematological parameters, hematocrit showed no interaction between the sources and levels. Metabolic variables responded to diets tested to keep getting energy processes. The plasma albumin and triglycerides showed no interaction. The activities of liver enzymes are responsive tested rations and showed significant interaction. The activities of the evaluated digestive enzymes showed interaction effect. It can be concluded that diets with corn meal in the proportions of 42/26 (corn meal / CP) produce higher growth in tambaqui and maintains normal hematologic parameters and metabolic responses.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	Ingredientes utilizados para confecção das rações experimentais.....	29
FIGURA 2.	Secagem das rações em estufa recirculação forçada a 55° C por 24 horas.....	29

ARTIGO

FIGURA 1.	Parâmetros de desempenho zootécnico de juvenis de tambaqui alimentados com variações de carboidratos e concentrações de proteína (a – Ganho de peso total; b – Ganho de peso médio diário; c – Conversão alimentar aparente; d Taxa de crescimento específico; e – Fator de condição).....	55
....		
FIGURA 2.	Parâmetros hematológicos de juvenis de tambaqui alimentados com variações de carboidratos e concentrações de proteína (a – Hematócrito; b – Hemoglobina; c – Eritrócitos; d – Volume corpuscular média; e – Hemoglobina corpuscular média; f – Concentração de hemoglobina corpuscular média).....	57
FIGURA 3.	Metabólitos intermediários de juvenis de tambaqui alimentados com variações de carboidratos e concentrações de proteína (a – Glicose plasmática; b – Glicogênio hepático; c – Triglicérides plasmática; d – Colesterol plasmática; e – Albumina plasmática; f – Proteínas totais plasmática).....	60
FIGURA 4.	Aminoácidos totais plasmáticos (a); Aspartato aminotransferase hepática (b) e Glutamato desidrogenase (c).....	61
....		
FIGURA 5.	Atividade das enzimas digestivas no intestino de tambaqui alimentados com variações de fontes de carboidratos e concentrações de proteína (a- protease alcalina inespecífica, b - amilase, c - lipase).....	62

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.	Composição nutricional da manga.....	21
TABELA 2.	Formulação e composição calculada das rações experimentais.....	28

ARTIGO

TABELA 1.	Formulação e composição calculada das rações experimentais.....	47
TABELA 2.	Parâmetros de desempenho zootécnico de juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo diferentes fontes e níveis de carboidratos e redução dos níveis de proteína bruta.....	51
TABELA 3.	Parâmetros hematológicos de juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo diferentes fontes e níveis de carboidratos e redução dos níveis de proteína bruta.....	52
TABELA 4.	Resultados de intermediários metabólicos plasmáticos, glicogênio hepático e atividade das enzimas (AST) e (GDH).....	53
TABELA 5.	Atividade das enzimas intestinais de juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo diferentes fontes e níveis de carboidratos e redução dos níveis de proteína bruta.....	54

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES

%	Porcentagem
µl	Microlitro
µs/cm	MicroSiemens por centímetro
AAT	Aminoácidos totais
ADP	Adenosina difosfato
ALB	Albumina
AST	Aspartato aminotransferase
ATP	Adenosina trifosfato
BHT	Butil hidroxi tolueno
C	Celsius
CAA	Conversão alimentar aparente
CHCM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
CHO	Carboidrato
dL	Decilitro
EB	Energia bruta
et al	E colaboradores
FAO	Organizações das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
FB	Fibra bruta
fL	Fentolitro
g	Gramas
GDH	Glutamato desidrogenase
GH	Glicogênio hepático
GLI	Glicose
GPMD	Ganho de peso médio diário
GPMT	Ganho de peso médio total
H₂SO₄	Ácido sulfúrico
Hb	Hemoglobina
HCM	Hemoglobina corpuscular média
Ht	Hematócrito
K₂SO₄	Sulfato de potássio
KOH	Hidróxido de potássio

L	Litro
mg	Miligrama
ml	Mililitro
MM	Matéria mineral
mM	Milimolar
MS	Matéria seca
NADP	Dinucleotído de nicotinamida e adenina
NADPH	Fosfato dinucleotído de nicotinamida e adenina
nm	Nanômetro
OMS	Organização Mundial da Saúde
PIB	Produto Interno Bruto
PB	Proteína bruta
pg	Picograma
pH	Potencial hidrogeniônico
ppm	Partes por milhão
PVC	Policloreto de vinil
Rpm	Rotações por minuto
Tab.	Tabela
TRI	Triglicerídeo
U.	Unidade
VCM	Volume corpuscular médio

SUMÁRIO

RESUMO	IX
ABSTRACT	X
LISTA DE FIGURAS	XI
LISTA DE TABELAS	XII
LISTA DE ABREVIATURAS	XIII
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	16
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
2.1 Produção piscícola no Brasil.....	17
2.2 Tambaqui (<i>colossoma macropomum</i>).....	18
2.3 Inclusões de alimentos alternativos na alimentação de peixes.....	19
2.4 Fruticultura no Brasil.....	20
2.4.1 Manga (<i>mangifera indica l.</i>).....	20
2.5 Metabolismo proteico em peixes.....	21
2.6 Metabolismo de carboidratos em peixes.....	22
2.7 Parâmetros hematológicos.....	24
2.8 Metabólitos intermediários em peixes.....	24
2.9 Enzimas digestivas em peixes.....	26
3.0 MATERIAL E MÉTODOS.....	27
3.1 Sistema experimental.....	27
3.2 Formulação, confecção das dietas experimentais.....	27
3.3 Manejo alimentar e desempenho zootécnico.....	29
3.4 Coleta do material biológico.....	30
3.5 Determinação dos parâmetros hematológicos.....	30
3.6 Determinação dos metabólitos intermediários e enzimas hepáticas.....	31
3.7 Determinação das enzimas digestivas.....	32
3.8 Análise estatística.....	33
4.0 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS.....	34
5.0 ARTIGO.....	43

1. INTRODUÇÃO GERAL

A aquicultura é uma atividade agropecuária em constante crescimento no mundo onde está se desenvolvendo em um crescimento acentuado e será o segmento que proporcionará a maior contribuição para oferta de alimentos proteicos nas próximas décadas (MPA, 2012). O Brasil é um dos maiores produtores de pescado do mundo e tem potencial para exponenciar a sua produção devido aos recursos naturais favoráveis a produção de pescado, como 10 milhões de hectares de lâmina de água de qualidade em rios, reservatórios de usinas hidrelétricas e propriedades particulares no Brasil, além de 8,5 mil Km de costa marítima (MPA, 2012). Soma-se a disposição de clima favorável e de mão de obra para a produção das mais diversas espécies de peixes nativos com potencial para cultivo.

O Vale do São Francisco já é conhecido como um dos maiores produtores e exportadores de frutas do Brasil. E se mostra com grande potencial para a piscicultura, apresentando boas condições edafoclimáticas. Na região encontra-se cultivares bem tecnificados, banhado pelo rio São Francisco. Dispõe do lago de Sobradinho com um espelho d' água de 4.214 Km², bem localizado (40 Km de Juazeiro/BA e Petrolina/PE) e de outros açudes com potencial de utilização para a piscicultura. Há mão de obra em abundância na região devido à grande produção de diversas culturas agrícolas que podem servir de ingredientes na confecção de ração.

O maior problema para a intensificação da piscicultura é o gasto com a alimentação que pode chegar a 70% dos custos de produção (LIMA et al., 2011). Faz-se necessário desenvolver pesquisas e técnicas direcionadas para nutrição de peixes, essenciais para a viabilização econômica e sustentável da produção de peixes. Uma alternativa para redução dos custos de produção é o uso de alimentos alternativos chamados de subprodutos, coprodutos ou resíduos com potencial nutricional, digestível para a viabilização dos ingredientes para a formulação de rações para peixes.

A definição de metabolismo é a soma das reações químicas e energéticas em uma célula ou organismo partir dos carboidratos, lipídios e proteínas, e a conversão (catabolismo) dos mesmos em energia para manutenção e crescimento (NEW, 1987).

Analisar os intermediários metabólicos e as enzimas de transdesaminação são essenciais para compreender o melhor aproveitamento dos nutrientes pelos peixes. Através das análises metabólicas pode-se obter a resposta sobre a direção dos nutrientes

e verificar situações indesejáveis no metabolismo, como o uso de proteína para obtenção de energia (MELO, 2004).

As frutas produzidas no Vale do São Francisco são destinadas geralmente ao consumo *in natura*, porém um gargalo é a rápida deterioração das mesmas (SANTOS, COELHO, CARREIRO, 2008). A geração de grandes volumes de resíduos agrícolas, que são descartados no meio ambiente, muitas vezes inadequadamente provoca a contaminação do solo ou através da propagação da mosca da fruta (principal problema no polo frutífero). Esses resíduos apresentam inviabilidade para o consumo humano, porém oferecem um potencial nutricional para a alimentação animal *in natura*, ou como ingrediente na formulação de ração de diferentes espécies de peixe.

Dentre essas frutas produzidas no vale do São Francisco a manga (*Mangifera indica L.*) está entre as principais frutas exportadas pelo Brasil, onde em 2013 foram embarcadas 122,2 milhões toneladas, gerando uma receita de US\$ 163,7 milhões (ANUÁRIO DA FRUTICULTURA, 2015). Estima-se que após o processamento da manga, um volume de 35 a 60% da fruta são descartados na forma de resíduos, casca e caroços variam de 10 a 30% (LARRAURI et al., 1996). Estes resíduos coprodutos ou subprodutos podem apresentar potencial nutricional para a sua utilização na alimentação de peixes, onde a fruta fresca é uma ótima fonte de vitamina A, vitamina C, fósforo, potássio, ácidos graxos e aminoácidos essenciais para peixes (MARQUEZ et al., 2010; SILVA e CALISTO, 2013).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Produção Piscícola no Brasil

No Brasil o consumo da carne de pescado chegou a 14,50 Kg por habitante em 2013 o que representa um aumento de 23,7% em relação ao ano anterior (FAO, 2013). O consumo recomendado pela OMS (Organização Mundial da Saúde), no entanto ainda está abaixo da média de consumo mundial que corresponde a 18,8 Kg por habitante. Em 2014 o Brasil produziu 474,3 mil toneladas de peixes em cativeiro (IBGE, 2014), no entanto quase 40% do peixe consumido no Brasil é importado da América do Sul, Ásia e Europa (MPA, 2012). O Brasil tem grande potencial para aumentar a sua produção de pescado, com um litoral de 8,5 mil Km² e 12% da água doce do planeta (MPA, 2012).

2.2 Tambaqui (*Colossoma macropomum*)

Natural das bacias Amazônica e Orinoco o tambaqui (*Colossoma macropomum*), segundo BRITSKI, 1977 ocupa a seguinte posição sistemática:

Reino: Animália

Filo: Chordata

Subfilo: Vertebrata

Superclasse: Pisces

Classe: Actinopterygii

Ordem: Characiformes

Família: Serrasalminidae

Gênero: *Colossoma*

Espécie: *Colossoma macropomum*, (CUVIER 1818)

Espécie muito rústica que suporta hipóxia (baixos valores de oxigênio dissolvido na água, 1 mg L^{-1}) devido a capacidade de expansão do lábio inferior que lhe permite captar e direcionar oxigênio das camadas mais superficiais (maior concentração e oxigênio) para as brânquias (ARAÚJO-LIMA e GOULDING, 1998; BALDISSEROTO, 2009). Apresenta melhores taxas de crescimento em pH ácido entre 4 e 6 (ARIDE et al., 2007), e resistência a toxicidade da amônia (até $0,46 \text{ mg L}^{-1}$ de amônia não ionizada) (ISMIÑO-ORBE, 1997). O tambaqui tem hábito alimentar onívoro com tendência a herbívoro, filtrador e frugívoro, ótima adaptação a alimentação fornecida, e degrada muito bem proteínas de origem animal e vegetal (NUNES et al., 2006). Apresenta rápido crescimento e excelente ganho de peso (SANTOS et al., 2010). O cultivo desta espécie se destaca-se principalmente pela fácil obtenção de juvenis, excelente potencial de produção, alta produtividade e grande aceitação de mercado devido ao seu sabor ser muito apreciado (RODRIGUES, 2014). O seu cultivo é concentrado nas regiões tropicais, devido as condições climáticas (NUNES et al., 2006). Segundo o IBGE (2014) o tambaqui é a espécie nativa (Bacias Amazônica e Orinoco) mais cultivada no Brasil, com uma produção de 139,2 mil toneladas ficando atrás apenas da tilápia do Nilo.

2.3 Inclusões de Alimentos Alternativos na Alimentação de Peixes

O maior problema para a intensificação da piscicultura é o alto custo das rações nos diferentes tipos de produção, onde os valores gastos com rações podem chegar a 70% do custo total de produção (LIMA et al., 2011; SOUZA et al., 2014). Então se faz necessário a busca por alimentos alternativos que venham a atender as exigências nutricionais dos peixes e baratear os custos de produção. A proteína é o ingrediente mais oneroso da ração e utilizado como fonte de energia para os peixes (WILSON, 1989), entretanto o uso de proteína para o fornecimento de energia é economicamente inviável, podendo ser utilizadas outras fontes para essa finalidade, como carboidratos e lipídios. Os ingredientes mais utilizados são a farinha de peixe, o milho e o farelo de soja, porém estes produtos sofrem oscilações de preços em determinados períodos do ano devido a quantidade ofertada. Outro fator que aumenta os custos destes ingredientes é o transporte para localidades que não disponibilizam de produção o que pode tornar a atividade inviável (SANTOS et al., 2008).

Os carboidratos são as fontes de energia comumente utilizada na fabricação de ração para os animais. No seu habitat natural as fontes de carboidratos são limitadas, sendo assim as espécies de peixes não estão habituadas a ingerir altas concentrações de carboidratos na dieta (ARAÚJO-LIMA e GOULDING, 1998). A utilização de ingredientes regionais é pesquisada por diversos autores na formulação das rações, em busca de depreciar o custo de produção e garantir o atendimento das exigências nutricionais e desempenho semelhante as rações formuladas com ingredientes convencionais (SANTOS et al., 2009). Estes ingredientes devem ser ofertados ao longo do ano, apresentar potencial nutricional, baixo custo, e apresentar desempenho superior ou semelhante aos alimentados com rações compostas por ingredientes convencionais. Alguns resultados foram descritos a partir da inclusão de ingredientes regionais na confecção de ração para peixes CAMPECHE et al., 2014 substituindo milho pelo farelo de licuri na alimentação de alevinos de tambaqui, BEZERRA et al., 2014 utilizaram a farinha de manga em substituição ao milho na alimentação de alevinos de tambaqui e SOUZA et al., 2013 testaram a farinha de manga substituindo o milho na alimentação de juvenis de tilápia do Nilo.

2.4 Fruticultura no Brasil

O Brasil é destaque no cenário mundial da fruticultura, onde desde 2004 colhe mais de 40 milhões de toneladas de frutas. No ano de 2013 o Brasil colheu 41,6 milhões de toneladas (IBGE, 2013). No entanto com o aumento populacional se faz necessário a expansão da produção agrícola, o que aumentaria a produção de resíduos agrícolas e industriais provocando a poluição do meio ambiente e desperdício de nutrientes que poderiam ser utilizados na produção de ração para peixes. No nordeste brasileiro, destaca-se o vale do São Francisco reconhecido internacionalmente como grande produtor e exportador de frutas, principalmente porque nessa região é onde se encontra os mais tecnificados meios de cultivo (SOUZA et al., 2002; SILVA et al, 2014).

Toneladas de resíduos industriais provenientes do processamento das frutas, são descartados sem prévio tratamento no ambiente (SOUZA, 2012). Então agregar valores a estes resíduos é de interesse econômico e ambiental (VIEIRA, 2007). Esses resíduos são de consumo impróprio para humanos e podem apresentar potencial nutricional para a formulação de ração para as diversas espécies de peixes contribuindo para preservação do meio ambiente e para baratear os custos de produção.

2.4.1 Manga (*Mangifera indica L.*)

Dentre as frutas produzidas no vale do São Francisco, a manga (*Mangifera indica L.*) é destaque com uma área de produção de 23.000 hectares (GERMINO et al., 2015), representa uma grande importância no aspecto econômico, onde a manga é bastante utilizada como matéria prima para produção de doces, geleias, sucos e néctar (BENEVIDES et al., 2008). Apresenta bom potencial nutricional (Tabela 1), é rica em antioxidantes, betacaroteno e vitaminas A e C (SILVA e CALISTO, 2013). Entretanto é uma fruta muito perecível e apresenta perdas de ordem quantitativas e qualitativas que podem variar de 20 a 40%, causando prejuízos econômicos (SIGRIST, 1983).

TABELA 1: Composição nutricional da manga.

MANGA TOMMY (polpa)	(g/100g)
Umidade	82,11
Matéria seca	0,34
Proteínas	0,61
Lipídeos	0,44
Fibras	4,13
Cinzas	8,94
Açúcares totais	0,15
Açúcares redutores	3,28
Açúcares não redutores	16,5
Minerais	(mg/100g)
Magnésio	7
Fósforo	14
Ferro	0,1
Potássio	138
Zinco	0,1
Cálcio	8

(MARQUEZ et al., 2010)

2.5 Metabolismo Proteico em Peixes

A inclusão de níveis adequados de proteína se faz necessário para otimizar a produção reduzindo os custos da alimentação de peixes (WU e GATLIN, 2014; SILVA et al., 2015). A proteína é o ingrediente mais caro da ração para peixes e é preferencialmente utilizado para produção de energia, o que onera a produção de peixes (SOUZA et al., 2011; FIGUEIREDO et al., 2014). Este nutriente é muito importante para as funções de manutenção, crescimento e reprodução podendo afetar diretamente no desempenho e no custo da alimentação (MARTÍNEZ-PALÁCIOS et al., 2007; DENG et al., 2014).

O metabolismo proteico em peixes é bastante complexo, inicia-se na digestão e absorção dos aminoácidos e peptídeos, uma vez absorvidos os aminoácidos e peptídeos são utilizados para síntese de proteínas ou são desviados para as vias catabólicas para

síntese energética, dependendo das necessidades do animal (BOMBARDELLI, et al., 2003). Níveis excessivos de proteína na ração afetam diretamente a produção de peixes. O excesso da proteína é metabolizado e utilizado como fonte de energia aumentando a excreta de compostos nitrogenados para o meio aquático prejudicando o desempenho e meio ambiente de cultivo (CHO E BUREAU, 2001).

O pool de aminoácidos no corpo dos peixes podem ser oriundos da dieta ou do catabolismo das proteínas corporais, no entanto os aminoácidos não são armazenados no corpo e seu excesso é rapidamente desaminado (WALTON, 1985). O fígado é responsável pela manutenção do pool de aminoácidos (LOVELL, 1998). Os aminoácidos livres podem ser catabolizados em vários tecidos, mas principalmente na mucosa intestinal, no fígado, na musculatura esquelética, no rim e no cérebro (BEITZ, 1996). O catabolismo de aminoácidos é realizado pelas enzimas de transaminação (aminotransferases) e desaminação oxidativa, onde a segunda é influenciada pela primeira (NELSON et al., 2004; DE ALMEIDA et al., 2011). Estas transaminases são específicas para cada aminoácido e o efeito da atividade destas enzimas é fazer a coleta dos grupos amino dos diferentes aminoácidos em uma única forma, o L – glutamato o qual será encaminhado para as vias biossintéticas, o L – glutamato será transportado do citoplasma para interior da mitocôndria onde passará por um processo de desaminação oxidativa realizada pela ação da glutamato desidrogenase (GDH), o aumento da atividade desta enzima é o indicativo de catabolismo de aminoácidos para síntese energética. (NELSON et al., 2004; MELO, 2004; DE ALMEIDA et al., 2011).

A atividade combinada das enzimas de transaminação e desaminação é chamada de transdesaminação e a avaliação deste conjunto de enzimas pode ser utilizado como indicativo de alteração do estado metabólico, podendo inferir sobre o aproveitamento dos nutrientes da dieta afim de verificar situações indesejáveis como a utilização das proteínas para fins energéticos (BEITZ, 1996; MELO, 2004; LUNDSTEDT et al., 2004).

2.6 Metabolismo de Carboidratos em Peixes

A utilização de carboidratos em peixes é limitada quando comparado com mamíferos (REN et al., 2015). Os peixes não apresentam exigência de carboidratos na dieta, no entanto a inclusão de carboidratos complexos na alimentação tem alguns benefícios. O carboidrato dietético geralmente é utilizado para o suprimento energético

e a inclusão apropriada deste nutriente reduz o catabolismo de proteínas e lipídios, diminui a excreta de compostos nitrogenados na água e reduz os custos da ração, uma vez que o carboidrato é o nutriente de menor custo na elaboração de ração (WILSON, 1994; PERES e OLIVA-TELES, 2002; ADEROLU et al., 2009; VASQUEZ-TORRES e ARIAS-CASTELLANOS, 2013). A inclusão excessiva de carboidrato na dieta causa efeitos negativos no desempenho, na assimilação dos nutrientes e nas funções fisiológicas (TAN et al., 2009; TIAN et al., 2012). Os níveis de inclusão de carboidratos na dieta são variáveis a depender do hábito alimentar da espécie, capacidade de digestão e pelas diferenças anatômicas do trato gastrointestinal (ADEROLU et al., 2009). Geralmente os peixes de hábito herbívoro e onívoro de água quente utilizam mais eficientemente maiores níveis de carboidratos quando comparados com peixes de hábito carnívoro de água fria (NRC, 2011). Os peixes são considerados intolerantes a glicose quando comparado aos mamíferos e algumas hipóteses foram levantadas em relação a esta má utilização da glicose, como a falta de transportadores de glicose que são dependentes de insulina, a baixa potência da glicose como secretagoga de insulina quando comparada com aminoácidos, menor número de receptores de insulina, a não inibição a produção endógena de glicose e a baixa lipogênese hepática a partir da glicose (MOMMSEN e PLISETSKAYA, 1991; HEMRE e KAHRS, 1997; NAVARRO et al., 1999; PANSERAT et al., 2000; ENES et al., 2009); reduzida utilização periférica de glicose e inibição da secreção de insulina por outros hormônios requer maior elaboração (MOON, 2001). O fígado é principal órgão regulador da homeostase de glicose (POLAKOF et al., 2012). A glicose é completamente catabolizada pela glicólise, ciclo de Krebs e cadeia respiratória para produção de adenosina trifosfato (ATP), ou através da via das pentoses para produção de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADP) para biossíntese, o excesso de glicose pode ser armazenado na forma de glicogênio pela glicogênese ou convertido em lipídios pela lipogênese (POLAKOF et al., 2012). No caso de privação alimentar o requerimento de glicose é suprido com a quebra do glicogênio pela glicogenólise ou através da síntese de novo a partir de lactato, glicerol e alguns aminoácidos pela gliconeogênese (POLAKOF et al., 2012).

2.7 Parâmetros Hematológicos

O conhecimento dos parâmetros hematológicos se faz necessário para a identificação de estresse provocado pela dieta testada, monitoria do estado de higidez, profilaxia de enfermidades e alterações fisiológicas (PEREIRA JUNIOR et al., 2013; COSTA, et al., 2014; ARAUJO et al., 2015). Os eritrócitos são as células mais abundantes na circulação e sua principal função é realizar o transporte de oxigênio (O₂) e de gás carbônico (CO₂) pela combinação de hemoglobina com O₂ formando a oxihemoglobina nos órgãos respiratórios e a posterior troca pelo CO₂ tecidual (RAZANI-PAIVA, 2007). O percentual de hematócrito reflete a proporção de eritrócitos no sangue em relação à quantidade de leucócitos, trombócitos e plasma sanguíneo (RAZZANI-PAIVA et al., 2013). É um dos parâmetros hematológicos mais confiáveis devido a sua baixa variabilidade e baixa margem de erro, este parâmetro é bastante utilizado para detectar a presença de parasitos protozoários flagelados de sangue (RAZANI-PAIVA et al., 2013). A determinação da taxa de hemoglobina é bastante utilizada para avaliar a ocorrência de anemias (RAZANI-PAIVA et al., 2013). O cálculo dos índices hematimétricos (Volume corpuscular médio, VCM; Hemoglobina corpuscular média, HCM e Concentração de hemoglobina corpuscular média, CHCM) são de grande importância para avaliar e classificar as anemias, estes índices relacionam os dados de hematócrito e número de eritrócitos; taxa de hemoglobina e número de eritrócitos; e taxa de hemoglobina e hematócrito (WINTROBE, 1934; RAZANI-PAIVA et al., 2013).

2.8 Metabólitos Intermediários em Peixes

A avaliação dos metabólitos intermediários tem como principal função verificar possíveis variações no estado fisiológico dos peixes, em função de respostas adaptativas causadas por estresse ambiental ou de manejo, nutricional devido a alimentação (LUNDSTEDT et al., 2004; MELO, et al., 2006). A glicose é um importante índice para avaliação do estado fisiológico dos peixes, onde as variações da glicemia podem estar relacionadas a nutrição, saúde, idade, tamanho, peso, temperatura do ambiente, práticas de manejo e transporte (GOMES et al., 2003; KAVITHA et al., 2012). Os níveis da glicose plasmática variam de acordo com o metabolismo ou fisiologia do animal devido à quebra dos carboidratos ou a alta utilização da glicose para efeitos metabólicos

(POLAKOF et al., 2012; LI et al., 2016), a avaliação da variação do nível de glicose ainda pode ser utilizada como indicativo de estresse, por estar relacionadas com a liberação do cortisol ou de outros hormônios como as catecolaminas (MOMMSEN et al., 1999).

Os triglicerídeos são uma ótima fonte de energia e sua oxidação fornece mais que o dobro de energia quando comparados aos polissacarídeos como o amido e glicogênio (NELSON et al., 2004). Os níveis de triglicerídeos são influenciados pela natureza química de seus ácidos graxos constituintes, estes valores podem passar por variações, quando substitui-se o óleo de peixe pelo óleo de origem vegetal (CASTRO et al., 2015) quanto a presença de ligações simples ou duplas ou ainda por suas configurações cis ou trans dos ácidos graxos insaturados (CHAMPE et al., 2010). O colesterol tem papel fundamental na composição da membrana celular e serve como precursor de vários produtos com atividade biológica como as vitaminas hidrossolúveis, os hormônios esteroidiais que regulam a expressão gênica e os sais biliares que atuam como detergente no intestino, emulsificando a gordura das dietas para deixá-las mais acessíveis às lipases (NELSON et al., 2004). Alterações nos níveis de colesterol podem ser encontrados pela variação dos nutrientes da dieta tais como: origem da fonte de óleo, inclusão de carboidratos (CASTRO et al., 2015) e ou pela variação da fonte proteica (LI et al., 2015).

Os níveis de proteínas e albumina plasmática estão relacionados com o estado nutricional e a higidez, pode-se verificar uma alteração do nível deste metabolito devido a variação de ingredientes ou nutrientes da dieta e pela sua utilização para fins metabólicos (MAGNADOTTIR, 2006; KAVITHA et al., 2012). As proteínas são um excelente indicador para avaliar o metabolismo dos peixes quando submetidos a dieta com variações em sua composição, a redução do nível plasmático da proteína está diretamente ligada à redução dos níveis proteicos ou da digestibilidade da proteína na dieta (SOLTANZADEH et al., 2016). Os aminoácidos estão envolvidos nas mais diversas funções da vida e a manutenção do seu nível pode ser de origem dietética ou através do catabolismo de proteínas corporais, tem como principais funções a síntese proteica (síntese de músculo), produção de hormônios e neurotransmissores (BOMBRADELLI et al., 2004). Vários fatores podem influenciar no nível de aminoácidos plasmático, tamanho, composição da dieta, e frequência alimentar (LOVELL, 1998; FARHAT; KHAN, 2014).

2.9 Enzimas digestivas em Peixes

As enzimas digestivas são encontradas no estômago e no intestino dos peixes, sendo que as estomacais apresentam maior atividade com pH ácido e no intestino quando pH está próximo de 7,0. O pâncreas é responsável pela produção e liberação (início do intestino ou cecos pilóricos) de várias enzimas como as proteases, amilase e lipase. A lipase é liberada em resposta a presença de triglicerídeos e quanto mais insaturado for um ácido graxo melhor será a ação das lipases. A atividade da enzima lipase também pode ser influenciada pela temperatura da água e pelo consumo de ração uma vez que o aumento do substrato pode estimular o pâncreas a secretar maiores quantidades desta enzima aumentando a eficiência de aproveitamento dos lipídios (MOURA et al., 2012). Do mesmo modo com a atividade da amilase e protease, onde sua atividade pode ser modulada de acordo com os níveis de carboidratos e proteínas na dieta (BALDISSEROTTO, 2009).

A secreção e atividade das enzimas digestivas são modulados em decorrência do hábito alimentar espécies no qual as herbívoras e onívoras apresentam maior atividade da amilase quando comparados com carnívoros (HIDALGO et al., 1999), de variações ambientais como frequência alimentar e estágio de desenvolvimento (DRABOWSKI et al., 1992; DENG et al., 2015;), qualidade e composição da dieta fornecida (BALDISSEROTTO, 2009). As variações na atividade das enzimas digestivas protease alcalina inespecífica, amilase e lipase são descritos em estudos prévios (GOULART et al., 2013; BEZERRA et al., 2014; ZHOU et al., 2015; GAO et al., 2016), que descrevem a adaptação fisiológica dos peixes a dieta fornecida.

MELO, (2004) correlacionou o aumento da atividade da enzima protease alcalina inespecífica e a redução da atividade das enzimas amilase e lipase em jundiá (*Rhamdia quelen*) com as variações dos níveis de proteína, carboidratos e lipídios das dietas. Estas modulações na atividade das enzimas digestivas também foram descritas por Zhou et al. (2016) em juvenis de *Larmichthys crocea* alimentados com dietas com diferentes relações de carboidratos e lipídios, onde a atividade da amilase aumentou gradativamente com o aumento do nível de carboidrato na ração e a atividade da lipase diminuiu paralelamente com a redução dos níveis de lipídios da ração.

No entanto alguns ingredientes possuem fatores antinutricionais que são inibidores de enzimas como a tripsina (LAZZARI et al., 2015).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Modelo Experimental

O experimento foi realizado no laboratório de aquicultura da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF). Para realização deste experimento foram utilizados 144 juvenis de tambaquis com peso médio inicial de $3,43 \pm 0,05$ g distribuídos aleatoriamente em 24 caixas de PVC com capacidade de 500L em um sistema fechado com recirculação de água com biofiltro. Cada unidade experimental foi composta por 06 juvenis de tambaqui. Foram testadas 08 dietas contendo variações de fontes de carboidratos (fubá de milho - FM e a manga *in natura* – MI) e concentrações de proteína bruta em cada fonte de 30, 28, 26 e 24 %. A formulação e a composição centesimal calculada das rações estão descritas na tabela 2 e ilustrada na figura 1.

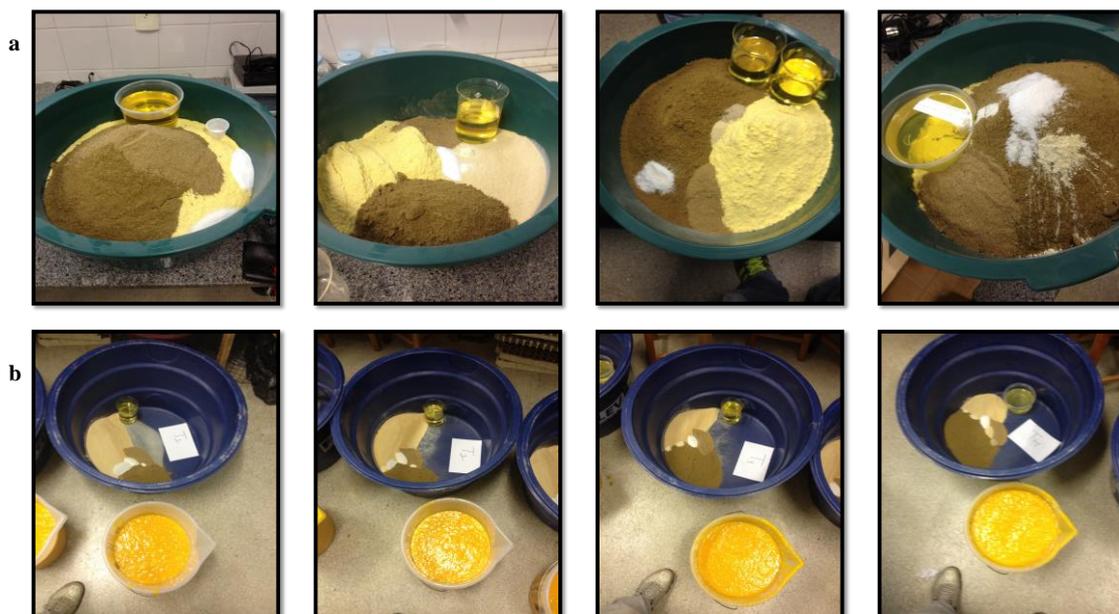
3.2 Formulação e Confeção das Dietas Experimentais

As dietas experimentais foram formuladas de acordo com as exigências nutricionais da espécie. A manga utilizada na confecção das rações era imprópria para o consumo humano (rejeito de produção). Após aquisição da manga *in natura*, eram descascadas e retirado o caroço, logo em seguida eram trituradas e misturadas aos demais ingredientes das rações testadas. Foi realizada aproveitando da umidade das frutas na confecção das dietas experimentais. Os valores da composição da manga foram determinados com base na matéria seca para sua inclusão. Após a mistura, os ingredientes foram peletizados em moedor tipo bola e secos em estufa de recirculação de ar forçada por 24 horas a 55°C (figura. 2) e em seguida foram trituradas para adaptação do pellet ao tamanho da boca dos juvenis de tambaqui.

Tabela 2. Formulação e composição calculada das rações experimentais.

Ingredientes (%)	PB/FM 30%/30%	PB/FM 28%/36%	PB/FM 26%/42%	PB/FM 24%/48%	PB/MI 30%/30%	PB/MI 28%/36%	PB/MI 26%/42%	PB/MI 24%/48%
Farinha de peixe 55% PB	11,41	15,21	22,85	30,64	10,63	14,23	19,59	26,87
Farelo de soja 45% PB	47,99	38,19	23,37	8,24	47,29	37,40	25,23	10,13
Fubá de milho	30,00	36,00	42,00	48,00	–	–	–	–
Manga <i>in natura</i>	–	–	–	–	30,00	36,00	42,00	48,00
Óleo de soja	7,13	7,59	8,77	10,03	8,43	9,14	10,18	11,78
L-lisina	–	–	–	0,05	–	–	–	0,15
DL-metionina	–	–	–	0,03	–	–	–	0,06
Sal comum	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Premix-APP ¹	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Vitamina C ²	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Fosfato bicálcio	0,46	–	–	–	0,64	0,22	–	–
BHT ³	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Nutrientes	Composição nutricional calculada							
Matéria seca (%)	94,91	94,22	94,95	93,97	88,27	85,17	92,58	92,20
Energia bruta (Kcal/Kg ração)	4.200	4.200	4.200	4.200	4.200	4.200	4.200	4.200
Proteína bruta (%)	30,00	28,00	26,00	24,00	30,00	28,00	26,00	24,00
Fibra bruta (%)	2,92	2,37	1,54	0,70	2,87	2,31	1,63	0,79
Carboidratos totais (%)	44,48	45,15	43,69	42,10	46,09	47,10	47,14	45,94
Cálcio (%)	0,96	1,04	1,46	1,88	0,95	1,04	1,27	1,66
Fósforo (%)	0,80	0,80	1,00	1,21	0,80	0,80	0,89	1,08
Lisina (%)	1,95	1,80	1,65	1,52	1,90	1,73	1,57	1,52
Metionina (%)	1,33	1,14	0,89	0,68	1,30	1,11	0,89	0,68
Arginina (%)	2,00	1,80	1,57	1,32	1,95	1,74	1,52	1,26
Histidina (%)	0,69	0,62	0,54	0,45	0,68	0,60	0,52	0,43
Isoleucina (%)	1,30	1,17	1,02	0,87	1,27	1,13	0,99	0,82
Leucina (%)	2,19	1,98	1,72	1,46	2,14	1,91	1,67	1,39
Fenilalanina (%)	1,32	1,19	1,02	0,86	1,29	1,15	0,99	0,82
Treonina (%)	1,04	0,96	0,88	0,80	1,02	0,93	0,84	0,75
Triptofano (%)	0,29	0,24	0,19	0,13	0,28	0,24	0,19	0,13
Valina (%)	1,40	1,29	1,18	1,06	1,36	1,25	1,12	1,00
Ácido linoleico	3,99	4,16	4,66	5,20	4,65	4,94	5,39	6,10

¹Premix min. e vit. (mineral and vitamin mix): Níveis de garantia por quilograma do produto: Vit. A, 1.200.000UI; Vit. D₃, 200.000UI; Vit. E, 12.000mg; Vit. K3, 2.400mg; Vit. B1, 4.800mg; Vit. B2, 4.800mg; Vit. B6, 4.000mg; Vit. B12, 4.800mg; Ác. Fólico, 1.200mg; Pantotenato Ca, 12.000mg; Vit. C, 48.000mg; Biotina, 48mg; Colina, 65.000mg; Niacina, 24.000mg; Ferro, 10.000mg; Cobre, 6.000mg; Manganês, 4.000mg; Zinco, 6.000mg; Iodo, 20mg; Cobalto, 2mg; Selênio, 20mg; ²Vitamina C protegida: sal cálcica 2-monofosfato de ácido ascórbico, 42% de princípio ativo (calcic salt, ascorbic acid 2-monophosphate-42% active principle); 3. Butil-Hidroxitolueno



Fonte: arquivo pessoal

Figura 1. a (Fubá de milho); b (Manga *in natura*) – Ingredientes utilizados para confecção das rações experimentais.



Fonte: arquivo pessoal

Figura 2. Secagem das rações em estufa recirculação de ar a 55° C por 24 horas.

3.3 Manejo Alimentar e Desempenho Zootécnico

Os juvenis de tambaqui foram alimentados duas vezes ao dia (8:00 e as 16:00) de maneira *ad libitum* por 47 dias. Após o arraçoamento, as caixas foram sifonadas diariamente para a retirada de fezes e possíveis sobras de ração. Os parâmetros de qualidade de água foram monitorados durante o período experimental.

Ao fim do período experimental os juvenis de tambaqui foram pesados para avaliação do desempenho zootécnico através dos seguintes parâmetros:

Ganho de peso total (GPT, g) = Peso final – Peso inicial

Ganho de peso médio diário (GPMD, g) = GPT / período experimental

Taxa de crescimento específico (TCE, %) = $(\ln(\text{pf}) - \ln(\text{pi})) \times 100 / \text{tempo}$

Fator de condição (FC) = $(\text{peso} / \text{comprimento}^3) \times 100$.

ln = logaritmo neperiano

Pf = peso final

Pi = peso inicial

3.4 Coleta do Material Biológico

Para as análises dos parâmetros metabólicos, sanguíneos e coleta de tecidos biológicos (intestino e fígado), retirou-se 06 juvenis de tambaqui por tratamento. Os peixes foram submetidos a coleta de sangue por punção vaso caudal com seringas heparinizadas. Todos os procedimentos experimentais realizados com os peixes foram autorizados pelo Comitê de ética no uso de animais (CEUA) da Universidade Federal do Vale do São Francisco, protocolo número 0016/140415.

A coleta do sangue para obtenção do plasma foi por centrifugação a 5.000 x rpm por 5 minutos, após congelado à -20° C para posterior análises dos intermediários metabólicos. Logo os peixes foram anestesiados com benzocaína ($1\text{g}/10\text{L}^{-1}$) e em seguida eutanaziados para coleta do fígado onde foram realizadas as avaliações da atividade das enzimas de transaminação (aspartato aminotransferase - AST) e desaminação (glutamato desidrogenase, GDH) e glicogênio. Nos intestinos foram avaliadas as enzimas digestivas, amilase, protease alcalina inespecífica e lipase.

3.5 Determinação dos Parâmetros Hematológicos

Para a avaliação dos parâmetros hematológicos foi utilizado o sangue coletado, no qual foram analisados o hematócrito, contagem de eritrócitos, hemoglobina total e através desses dados calculou-se o volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). O hematócrito (Ht) foi realizado conforme descrito por GOLDENFARB et al. (1971), o tubo microcapilar heparinizado é preenchido em 2/3 de seu volume total e logo após a vedação foi centrifugada a 12.000 rpm por 5 minutos. A concentração de hemoglobina

(Hb) pelo método da cianometahemoglobina descrita por DRABKIN (1948), utilizando o reagente de Drabkin e a leitura foi realizada a 540nm. A contagem de eritrócitos foi feita em câmara de Neubauer, utilizando o reagente de NATT & HERRICK (1952). O volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) foram calculados utilizando os valores absolutos de Ht, a concentração de Hb e o número de eritrócitos. Os resultados dos parâmetros hematológicos foram estimados conforme fórmulas a seguir (WINTROBE, 1934):

$$\text{VCM} = \text{Hematócrito} * 10 / \text{N}^\circ \text{ de Eritrócitos} (* 10^6 \mu\text{L}^{-1}) = \text{fL}$$

$$\text{HCM} = \text{Taxa de Hemoglobina} * 10 / \text{N}^\circ \text{ de Eritrócitos} = \text{pg}$$

$$\text{CHCM} = \text{Taxa de concentração de Hemoglobina} * 100 / \text{Hematócrito} = \text{g/dL}^{-1}$$

3.6 Determinação dos Metabolitos Intermediários e Enzimas Hepáticas

Os metabolitos aferidos no plasma foram glicose (mg/dL), albumina (g/dL), triglicerídeos (mg/dL) e colesterol total (mg/dL) seguindo os métodos colorimétricos dos reagentes (labtest®). Os aminoácidos livres foram determinados seguindo a metodologia de COPLEY (1941), onde foi utilizado um padrão de glicina 1mm e o extrato era adicionado a uma solução de ninhidrina 0,1% em propanol e a leitura foi realizada em espectrofotômetro em 570 nm.

As determinações de glicogênio hepático (GH) foram realizadas conforme descrito por BIDINOTTO et al. (1997). Onde as amostras de fígado de cada peixe foram pesadas na proporção de 100 a 110mg e logo em seguida foram transferidos para tubos de ensaio. Logo, foram adicionados 1,0 ml de KOH 6,0N e incubado por 3 minutos em banho-maria a 100° C. Dissolvido os tecidos, 100 µl deste extrato foi transferido para um tubo e adicionado 250 µl de etanol e 100 µl de K₂SO₄ 10 %, seguidos de agitação. Logo após, a amostra era centrifugada a 3.000 rpm por 3 minutos. Posteriormente, o sobrenadante era descartado por inversão e o precipitado re-suspendido em 2 ml de água destilada, após a mistura realizou-se a transferência de 100 µl da amostra, 250 µl de fenol e 1 ml de H₂SO₄ para parar a reação, posteriormente foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 480 nm.

Para determinar a atividade das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e glutamato desidrogenase (GDH), amostras de fígado com peso aproximado de 100mg

foram homogeneizadas em tampão (10 mM fosfato / 20 mM tris-pH 7,0) a 4°C, utilizando homogeneizador mecânico. A determinação da atividade de AST foi feita por meio colorimétrico dos reagentes (Labtest[®]). A leitura da atividade da enzima foi realizada em Comprimento de onda de 360 nm.

A atividade da enzima GDH foi determinada segundo HOCHACHKA et al. (1978). A reação é baseada na redução de 2-cetoglutarato em glutamato. O meio de reação continha tampão imidazol-HCl pH 7,7- 50 mM, acetato de amônio 250 mM, NADH 0,1 mM, ADP 1 mM, NADP 0,5 mM, 2-cetoglutarato 5 mM. Para determinação da atividade utilizou-se 100 microlitros do homogeneizado e realizada a leitura em comprimento de onda de 360nm.

3.7 Determinação das Enzimas Digestivas

A atividade de amilase no intestino foi determinada segundo o método proposto por HIDALGO et al. (1999). Em 1,0ml de solução de amido em tampão Tris 0,1M (pH 7,0), contendo NaCl 0,02M, foi adicionado volume adequado de homogeneizado celular, sendo a mistura da reação incubada por 40 minutos a 25°C. Decorrido o tempo de reação, foi adicionado 250µl de ácido tricloro acético (TCA) 15%, sendo a mistura da reação centrifugada a 3000 x g por 2 minutos. No sobrenadante foi estimada a concentração de glicose pelo método de PARK e JOHNSON (1949).

Na determinação da atividade proteolítica alcalina no intestino foi utilizada solução de caseína 1% como substrato da reação. A mistura de incubação foi composta de 250 - 400 µl de azocaseína 1 %, tampão Tris/HCl 0.1 M (pH 8.0). Após a incubação da mistura por 30 minutos à 35 °C, a reação foi interrompida pela adição de 1.0 ml de TCA 15 %, depois foi centrifugada a 1.800 g por 10 minutos (WALTER, 1984). Foi utilizada tirosina como padrão e a unidade de atividade enzimática será definida como a quantidade de enzima necessária para catalisar a formação de 1µg de tirosina por minuto.

A atividade de lipase não específica no intestino foi determinada segundo método descrito por GAWLICKA et al. (2000). A reação era incubada a 35 °C em meio contendo 0,4 mM p-nitrofenil meristato em solução tampão 24 mM de bicarbonato de amônio pH 7.8 e 0,5% Triton X-100. Após 30 minutos, as reações eram interrompidas pela adição de NaOH 25 mM. A leitura em espectrofotômetro foi realizada a 405 nm.

3.8 Análise Estatística

Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial (4x2) sendo quatro níveis (30, 36, 42 e 48%) e duas fontes de carboidratos (farinha de milho e manga *in natura*) com quatro repetições. Os resultados foram analisados pelo programa computacional *Statistical Analysis System* – SAS (Versão 9.1, 2003), sendo anteriormente verificada a normalidade dos resíduos pelo teste de SHAPIRO-WILK (PROC UNIVARIATE) e as variâncias comparadas por contrastes ortogonais (linear, quadrática e desvio da quadrática e efeito de fonte) com nível de significância de 5% pelo PROC GLM. Quando significativo o efeito de interação níveis *versus* fonte procedeu-se a o desdobramento da mesma. Posteriormente as análises de contrastes, quando significativas, determinou-se os parâmetros das equações de regressão pelo PROC REG.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADEROLU, A.Z.; LAWAL, M.O.; OLADIPUPO, M.O. Processed Cocoyam Tuber as Carbohydrate Source in the Diet of Juvenile African Catfish (*Clarias Gariepinus*). **European Journal of Scientific Research**, v.35, n. 3, p.453-460, 2009.
- ARAÚJO, D.M.; JUNIOR, A.C.F.; TEIXEIRA, C.P.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M. Perfil hematológico de tilápias-do-nilo alimentadas com dietas contendo diferentes lipídios e estimulados por baixa temperatura. **Revista Caatinga**, v. 28, n. 1, p. 220-227, 2015.
- ARAÚJO-LIMA, C.; GOULDING, M. **Os frutos do tambaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia**. Sociedade Civil de Mamirauá, Brasília: CNPq. 1998. 186p.
- ARIDE, P.H.R.; ROUBACH, R.; VAL, A.L. Tolerance response of tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier) to water pH. **Aquaculture Research**, v. 38, n. 6, p. 588-594, 2007.
- BALDISSEROTTO, B. **Respiração e circulação**. In: BALDISSEROTTO, B. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. 2ª ed. Santa Maria: Editora UFSM. p.53-75, 2009.
- BEITZ, D.C. **Metabolismo de proteínas e aminoácidos** In: Swenson, M.J., Reece, W.O. Dukes – Fisiologia dos animais domésticos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 430-446, 1996.
- BELING, R.R.; MÜLLER, I.; REETZ, E.R.; KIST, B.B.; SANTOS, C.E.; CARVALHO, C.; DRUM, M. **Anuário Brasileiro da fruticultura 2015**. Santa Cruz do Sul: gazeta, 2015, 104p.
- BENEVIDES, S.D.; RAMOS, A.M.; STRINGHETA, P.C.; CASTRO, V.C. Qualidade da manga e polpa da manga Ubá. **Ciência e tecnologia de alimentos**, v. 28, n. 3, p. 571-578. 2008.
- BEZERRA, S.K.; SOUZA, R.C.; MELO, J.F.B.; CAMPECHE, D.F.B. 2014. Crescimento de tambaqui alimentado com diferentes níveis de farinha de manga e proteína na ração. **Archivos de Zootecnia**, v. 63, n. 244, p. 587-598.
- BIDINOTTO, P.M.; SOUZA, R.H.S.; MORAES, G. Hepatic glicogen in eight tropical freshwater teleost fish: A procedure for field determinations of microsamples. **Bol. Tec. CEPTA**, v. 10, p. 53-60, 1997.
- BOMBARDELLI, R.A.; MEURER, F.; SYPPERRECK, M.A. Metabolismo proteico em peixes. **Arq. Ciênc. Vet. Zool**, v. 7, p. 69-79, 2004.

- BRITSKI, H.A. Sobre o gênero *Colossoma* (Pisces, Characidae). **Ciência e Cultura**, v. 9 (Supl.), 1977, 810p.
- CAMPECHE, D.F.B.; MELO, J.F.B.; BALZANA, L.; SOUZA, R.C.; FIGUEIREDO, R.A.C.R. Farelo de licuri em dietas para alevinos de tambaqui (*Colossoma macropomum*, *Curvier 1818*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 2, p. 539-545. 2014.
- CASTRO, C.; CORRAZE, G.; PEREZ-JIMENES, A.; LARROQUET, L.; CLUZEAUD, M.; PANSERAT, S.; OLIVA-TELES. Dietary carbohydrate and lipid source affect cholesterol metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. **British Journal Nutrition**, v. 114, p.1143-1156, 2015
- CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. **Bioquímica ilustrada**. 4 ed. Porto Alegre: ArtMed, 2010.
- CHO, C. Y.; D. P. BUREAU. A review of diet formulation strategies and feeding systems to reduce excretory and feed wastes in aquaculture. **Aquaculture Research**, v. 32, n. 1, p. 349-360, 2001.
- COPLEY, N.G. Alloxan and ninhydrin test. **Analyst**, 66: 492-493, 1941.
- COSTA, D.V.; FERREIRA, M.W.; NAVARRO, R.D.; ROSA, P.V.; MURGAS, L.D.S. Parâmetros hematológicos de tilápias-do-Nilo ("*Oreochromis niloticus*") alimentadas com diferentes fontes de óleo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 15, n. 3, p. 754-764, 2014.
- DE ALMEIDA, L.C.; AVILEZ, I.M.; HONORATO, C.A.; HORI, T.S.F.; MORAES, G. Growth and metabolic responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed diferente levels of protein and lipid. **Aquaculture Nutrition**, v. 17, p. 253-262, 2011.
- DENG, J.; ZHANG, X.; HAN, X.; TAO, L.; BI, B.; KANG, B. Dietary protein requirement of juvenile Dianchi Golden-line Barbel, *Sinocyclocheilus graham*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 45, n. 4, p. 421-429, 2014.
- DENG, J.M.; WANG, Y.; CHEN, L.Q.; MAI, K.S.; WANG, Z.; ZHANG, X. Effects of replacing plant protein with rubber seed meal on growth, nutrient utilization and blood biochemical parameters of tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*). **Aquaculture nutrition**, v. 21, p. 1-10, 2015.
- DRABKIN, D.L. The standardization of hemoglobina measurement. **American of the Journal Medical Sciences**, v. 215, p. 210-211, 1948.

- DABROWSKI, K.; KRUMSCHNABEL, G.; PAUKKU, M.; LABANOWSKI, J. Cyclic growth and activity of pancreatic enzymes of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) alevins. **Journal of Fish Biology**, London, v. 40, p. 511-521, 1992.
- ENES, P.; PANSERAT, S.; KAUSHIK, S.; OLIVA-TELES, A. Nutritional regulation of hepatic glucose metabolism in fish. **Fish Physiology Biochemistry**, v. 35, p. 519-539, 2009.
- FARHAT e KHAN, M.A. Response of fingerling stinging catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch) to varying levels of dietary L-leucine in relation to growth, feed conversion, protein utilization, leucine retention and blood parameters. **Aquaculture Nutrition**, v. 20, p. 291-302, 2014.
- FIGUEIREDO, R.A.C.R.; SOUZA, R.C.; BEZERRA, K.S.; CAMPECHE, D.F.B.; CAMPOS, R.M.L.; SOUZA, A.M.; MELO, J.F.B. Relação proteína: carboidrato no desempenho e metabolismo de juvenis de pacamãs (*Lophiosilurus alexandri*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e zootecnia**, v. 66, n. 5, p. 1567-1576, 2014.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Food outlook: biannual report on global food markets**. Rome: FAO, 2013. 134p.
- GAO, Y.J.; LIU, Y.J.; CHEN, X.Q.; YANG, H.J.; LI, X.F.; TIAN, X. Effects of graded levels of histidine on growth performance, digested enzymes activities, erythrocyte osmotic fragility and hypoxia-tolerance of juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idella*, **Aquaculture**, v. 452, p. 388-394, 2016.
- GAWLICKA, A.; PARENT, B.; HORN, H.M.; ROSS, N.; OPSTAD, I.; TORRISSEN, J. Activity of digestive enzymes in yolk-sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): indication of readiness for first feeding. **Aquaculture**, v. 184, p. 303-314, 2000.
- GERMINO, G.F.S.; CAMPOS, R.M.L.; MELO, J.F.B. Uso de alimentos alternativos para a produção de rações para peixes do Rio São Francisco. In: OLIVEIRA, L.M.S.R.; FLORES, F.T. (Ed): **Reciclando práticas rumo ao desenvolvimento sustentável**. CRV, 2015, p.105-119.
- GOLDENFARB, P.B.; BOWYER, F.P.; HALL, E.; BROSIOUS, E. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determinations. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 56, p.35-39, 1971.
- GOMES, L.C.; ARAUJO-LIMA, C.A.R.M.; ROUBACH, R.; URBINATI, E.C. Avaliação dos efeitos da adição de sal e da densidade no transporte de tambaqui. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 2, p. 283-290, 2003.

- GOULART, F.R.; SPERONI, C.S.; LOVATTO, N.M.; LOUREIRO, B.B.; CORRÊIA, V.; RANDÜNZ-NETO, J.; SILVA, L.P. Atividade de enzimas digestivas e parâmetros de crescimento de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com farelo de linhaça *in natura* e demucilada, **Semina: Ciência Agrárias**, v. 34, n. 6, p. 3069-3080, 2013.
- HEMRE, G. I.; KAHRS, F. 14C-glucose injection in Atlantic cod, *Gadus morhua*, metabolic responses and excretion via the gill membrane. **Aquaculture Nutrition**, v. 3, p. 3-8, 1997.
- HIDALGO, M.C.; UREA, E.; SANZ, A. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities. **Aquaculture**, v. 170, p. 267-283, 1999.
- HOCHACHKA, P.W.; GUPPY, H.E.; STOREY, K.B.; HULBERT, W.C. Metabolic biochemistry of water vs air-breathing fishes: muscle enzymes and ultra structures. **Canadian Journal of Zoology**, v. 56, n. 4, p. 736-750, 1978.
- IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). **Levantamento sistemático da produção agrícola**. v. 26, n. 1, p.1-83. 2013.
- IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). **Produção da pecuária municipal**. v. 41, p.1-39. 2014.
- ISMIÑO-ORBE, R.A. **Excreção e efeito da amônia sobre o crescimento do tambaqui (*Colossoma macropomum Cuvier, 1818*)**. Manaus, 1997. 29p. Tese (Dissertação de Mestrado) Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Manaus, AM, 1997.
- KAVITHA, C.; RAMSESH, M.; KUMARAN, S.S.; LAKSHMI, S.A. Toxicity of Moringa oleifera seed extract on some hematological and biochemical profiles in a freshwater fish, *Cyprinus carpio*. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 64, n. 7-8, p. 681-687, 2012.
- LARRAURI, J. A.; RUPÉREZ, P.; BORROTO, B.; SAURA-CALIXTO, F. Mango peels as a new tropical fibre: preparation and characterization. **Lebensmittel Wissenschaft und – Technologie**, v. 29, n. 8, p. 729-733, 1996.
- LAZZARI, R.; UCZAY, J.; RODRIGUES, R.B.; PIANESSO, D.; ADORIAN, T.D.; MOMBACH, P.I. Uso do resíduo de frutas em dietas para Piava. **Boletim Instituto de Pesca.**, v. 42, n. 2, p. 227-237, 2015.
- NELSON, D.L.; COX, M.M.; LEHNINGER, A.L. **Principales of Biochemistry**, 4° ed, FREEMAN, W.H. New York, 2004.

- LI, P.Y.; WANG, J.Y.; SONG, Z.D.; ZHANG, L.M.; ZHANG, H.; LI, X.X.; PAN, Q. Evaluation of soy protein concentrate as a substitute for fishmeal in diets for juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*). **Aquaculture**, v. 448, n. 1, p. 578-585, 2015.
- LI, X.; ZHU, X.; HAN, D.; YANG, Y.; JIN, J.; XIE, S. Carbohydrate utilization by herbivorous and omnivorous freshwater fish species: a comparative study on gibel carp (*Carassius auratus gibelio*. var CAS III) and grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). **Aquaculture Reserach**, v. 47, p. 128-139, 2016.
- LIMA, M. R.; LUDKE, M.C.M.M.; NETO, F.F.P.; PINTO, B.W.C.; TORRES, T.R.; SOUZA, E.J.O. Farelo de resíduo de manga para tilápia do Nilo. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.33, n.1, p.65-71. 2011.
- LOVELL, T. **Nutrition and feeding of fsh**. New York: Chapman e Hall, 259p. 1988.
- LUNDSTEDT, L.M.; MELO, J.F.B.; MORAES, G. Digestive enzymes and metabolic profile of *Pseudoplatystoma corruscans* (Teleostei: Siluriformes) in response to diet composition. **Comparative Biochemistry Physiology**, New York, v. 137B, p. 331-339, 2004.
- MAGNADOTTIR, B. Innate immunity of fish (overview). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 20, n. 2, p. 137-151, 2006.
- MARQUES, A.; CHICAYBAM, G.; ARAUJO, M.T.; MANHÃES, L.R.T.; SABAA-SRUR, A.U.O. Composição centesimal e de minerais de casca e polpa de manga (*Mangifera indica L.*) CV. Tommy Atkins. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1206-1210. 2010.
- MARTÍNEZ-PALACIOS, C.A.; RÍOS-DURÁN, M.G.; AMBRIZ-CERVANTES, L. et al. Dietary protein requirement of juvenile Mexican Silverside (*Menidia estor Jordan 1879*), a stomachless zooplanktophagous fish. **Aquaculture Nutrition**, v.13, p.304-310, 2007.
- MELO, J.F.B. **Digestão e metabolismo de jundiá (*Rhamdia quelen*) submetido a diferentes regimes alimentares**. São Carlos, 2004. 80 f. Tese (Doutorado – Ciências fisiológicas) Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, SP, 2004.
- MELO, J.F.B.; TAVARES-DIAS, M.; LUNDESTEDT, L.M.; MORAES, G. Efeito do conteúdo de proteína na dieta sobre os parâmetros hematológicos e metabólicos do bagre sul americano *Rhamdia quelen*. **Revista Ciência Agroambiental**, v. 1, n.1, p. 43-51, 2006.
- MOMMSEN, T.; PLISETSKAYA, E. Insulin in fishes and agnathans: history, structure, and metabolic regulation. **Reviews in Aquatic Science**, v. 4, p. 225-259, 1991.

- MOMMSEN, T. P.; VIJAYAN, M. M.; MOON, T. W. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, Dordrecht, v. 9, n. 3, p. 211-268, 1999.
- MOON, T. W. Glucose intolerance in teleost fish: fact or fiction? **Comparative Biochemistry Physiology**, v. 129B, p. 243-249, 2001.
- MOURA, G.S.; OLIVEIRA, M.G.A.; LANNA, E.A.T. Desempenho e atividade de lipase em tilápias do Nilo. **Archivos de Zootecnia**, v. 61, n. 235, 367-374, 2012.
- MPA - MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura**. Brasil 2012. Brasília. 129p.
- NATT, M.P.; HERRICK, C.A. A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. **Poultry Science**, v. 31, p. 735-738, 1952.
- NAVARRO, I.; LEIBUSH, B.; MOON, T.; PLISETSKAYA, E.; BANOS, N.; MENDEZ, E.; PLANAS, J.; GUTIERREZ, J. Insulin, insulin-like growth factor-I (IGF-I) and glucagon: the evolution of their receptors. **Comparative Biochemistry Physiology**, v. 122B, p. 137-153, 1999.
- NEW, M.B. **Feed and feeding of fish and shrimp**. Rome, 1987, 275 p.
- NUNES, E.S.; CAVERO, B.A.; PEREIRA-FILHO, M.; ROUBACH, R. Enzimas digestivas exógenas na alimentação de juvenis de tambaqui. **Pesquisa. Agropecuária Brasileira**, v.4, p.139-143, 2006.
- NRC (National Research Council), 2011. **Nutrient requirements of fish and shrimp**. National Academy Press, Washington D.C. (135-162 pp.).
- PANSERAT, S.; MÉDALE, F.; BRÈQUE, J.; PLAGNES-JUAN, E.; KAUSHIK, S. Lack of significant long-term effect of dietary carbohydrates on hepatic glucose-6-phosphatase expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal Nutritional Biochemistry**, v. 11, n. 1, p. 22-29, 2000.
- PARK, J. T.; JOHNSON, M. J. Submicro determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, v. 181, p. 149-151, 1949.
- PEREIRA JUNIOR, G.; PEREIRA, E.M.O.; PEREIRA FILHO, M.; BARBOSA, P.S.; BRASIL, E.M.; SHIMODA, E. Parâmetros hematológicos de juvenis de tambaqui alimentados com rações contendo farinha de crueira de mandioca. **Acta Biomedica Brasiliensia**, v. 4, n. 1, p. 1-11, 2013.
- PERES, H.; OLIVA-TELES, A. Utilization of raw and gelatinized starch by European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. **Aquaculture**, v. 205, p. 287-299, 2002.

- POLAKOF, S.; PANSERAT, S.; SOENGAS, J.L.; MOON, T.W. Glucose metabolismo in fish: a review. **Journal Comparative Physiology B**, v. 182, p. 1015-1045, 2012.
- RAZANI-PAIVA, M.J.T. **Hematologia como ferramenta para a avaliação da saúde de peixes**. In: BARROS, M.M.; PEZZATO, L.E. 2°. Simpósio de Nutrição e Saúde de Peixes, Anais... 2°. Simpósio de Nutrição de Peixes, Botucatu, São Paulo. Universidade Estadual Paulista, pp. 47-51, 2007.
- RAZANI-PAIVA, M.J.T.; PÁDUA, S.B.; TAVARES-DIAS, M.; EGAMI, M.I. **Métodos para análise hematológica em peixes**. Editora da Universidade Estadual de Maringá. Maringá. 2013, 140p.
- REN, M.; HABTE-TSION, H.M.; XIE, J.; LIU, B.; ZHOU, Q.; GE, X.; PAN, L.; CHEN, R. Effects of dietary carbohydrate source on growth performance, diet digestibility and liver glucose enzyme activity in blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala*. **Aquaculture**, v. 438, p. 75-81, 2015.
- RODRIGUES, A.P.O. Nutrição e alimentação de tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Boletim Instituto De Pesca**, v. 40 n. 1, p. 135-145, 2014.
- SANTOS, E.L.; WINTERLE, W.M.C.; LUDKE, M.C.M.M.; BARBOSA, J. M. Digestibilidade de ingredientes alternativos para tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*): REVISÃO. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, v. 3, n. 2, p. 135-149, 2008.
- SANTOS, C.A.A.; COELHO, A.F.S.; CARREIRO, S.C. Avaliação microbiológica de polpas de frutas congeladas. **Ciência e tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 4, p. 913-915, 2008.
- SANTOS, L.; FILHO, M.P.; SOBREIRA, C.; ITUASSU, D.; FONSECA, F.A.L. Exigência Proteica de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) após privação alimentar. **Acta Amazônica**, v. 40, p. 597-604, 2010.
- SANTOS, L.D.; MEURER, F.; OLIVEIRA, S.T.L.; SOUSA, S.M.N.; SOUZA, R.C. **Digestibilidade de alimentos alternativos do Semiárido Nordeste em rações peletizadas e extrusadas para tilápia do Nilo**. 3 ° Simpósio Internacional de Nutrição e Saúde de Peixes. FMVZ-UNESP- Botucatu Novembro de 2009.
- SIGRIST, J.M.M. **Perdas pós-colheita de frutas e hortaliças**. In: CEREDA, M.P.; SANCHES, L. Manual de armazenamento e embalagem - produtos agropecuários. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, p. 1-12. 1993.
- SAS INSTITUTE. SAS/STAT: **guide for personal computer**; version 9.1. Cary, p.235, 2003.

- SILVA, C.A.; FUJIMOTO, R.Y. Crescimento de tambaqui em resposta a densidade de estocagem em tanques-rede. **Acta Amazônica**, v. 45, n. 3, p. 323-332, 2015.
- SILVA, D.A.; CALISTO, S.M.M. **Avaliação físico-química e sensorial da manga Tommy Atkins submetida a desidratação**. Londrina, 2013. Tese (conclusão de curso de graduação) Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina-PR, 2013.
- SILVA, E.M.; MONSERRAT, L.A.; SAMPAIO, L.A.; TESSER, M.B. Crescimento e metabolismo do nitrogênio em juvenis de *Trachinotus marginatus* alimentados com diferentes níveis proteicos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 1, p. 131-139, 2015.
- SILVA, J.S.; FERREIRA, M.O.; LIMA, J.R.F.; PAIXÃO, A.N. **Análise da eficiência técnica dos produtores de manga do vale do São Francisco**. 52º Congresso SOBER – Sociedade Brasileira de Economia, Administração e sociologia Rural. 2014.
- SOLTANZADEH, S.; FERREIDOUNI, A.E.; OURAJI, H.; KHALILI, K.J. Growth performance, body composition, hematological, and serum biochemical responses of beluga (*Huso huso*) juveniles to different dietary inclusion levels of faba bean (*Vicia faba*) meal. **Aquaculture International**, v. 24, p. 395-413, 2016.
- SOUZA, J. da S.; ALMEIDA, C. O. de.; ARAÚJO, J. L. P.; CARDOSO, C. E. L. **Aspectos socioeconômicos**. In: GENÚ, P. J. de C., PINTO, A. C. de. Q.. A cultura da mangueira. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. p. 21-29.
- SOUZA, J.H.; FRACALOSSO, D.M.; GARCIA, A.S.; RIBEIRO, F.F.; TSUZUKI, M.Y. Desempenho zootécnico e econômico de juvenis de robalo peva alimentados com dietas contendo diferentes concentrações proteicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 2, p. 190-195, 2011.
- SOUZA, R.C. **Farinha de Manga na Alimentação de alevinos de tilápia do Nilo como fonte de carboidrato na ração e elaboração de hambúrguer**. 2012. 71p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, PE, 2012.
- SOUZA, R.C.; CAMPECHE, D.F.B.; CAMPOS, R.M.L.; FIGUEIREDO, R.A.C.R.; MELO, J.F.B. Frequência alimentar para juvenis de tambaqui. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, p. 927-932, 2014.
- SOUZA, R.C.; MELO, J.F.B.; NOGUEIRA FILHO, R.M.; CAMPECHE, D.F.B.; FIGUEIREDO, R.A.C.R. Influencia da farinha de manga no crescimento e composição corporal da tilapia do nilo. **Archivos de Zootecnia**. v. 62, p. 217-225, 2013.

- TAN, Q.; WANG, F.; XIE, S.; ZHU, X.; LEI, W.; SHEN, J. Effect of high dietary starch levels on the growth performance, blood chemistry and body composition of gibel carp (*Carassius auratus var. gibelio*). **Aquaculture Research**, v. 40, p. 1011–1018, 2009.
- TIAN, L.X.; LIU, Y.J.; YANG, H.J.; LIANG, G.Y.; NIU, J. Effects of different dietary wheat starch levels on growth, feed efficiency and digestibility in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). **Aquaculture International**, v. 20, p. 283-293, 2012.
- VASQUEZ-TORRES.; ARIAS-CASTELLANOS. Effect of dietary carbohydrates and lipids on growth in cachama (*Piaractus brachypomus*). **Aquaculture Research**, v. 44, p. 1768–1776, 2013.
- VIEIRA, P.A.F. **Caracterização dos resíduos de manga e efeito sobre o desempenho e os parâmetros bioquímicos em frango de corte**. Viçosa. 2007. 76f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Agrícola) Universidade Federal de Viçosa-MG, 2007.
- WALTER, H.E. **Proteinases: Methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrates**. In Bergmeyer, H.U.(Ed.). *Methods of enzymatic Analysis*, Verlag Chemie, Weinheim., v. 5, p. 270- 277, 1984.
- WALTON, M.J. **Aspect of amino acid metabolismo in teleost fish** In: COWEY, C.B., MACKIE, A.M., BELL, J.G. *Nutrition and feeding in fish*. New York: Academic Press, 1985. p. 47-68.
- WILSON, R.P. **Amino acids and proteins**. In: HALVER, J.E. (Ed.) *Fish nutrition*. London: Academic Press, 1989. p. 144-151.
- WILSON, R.P. Utilization of dietary carbohydrate by fish. **Aquaculture**, v. 124 p. 67-80, 1994.
- WINTROBE, M.M. Variations on the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. **Folia Haematol**, v. 51, p. 32-49, 1934.
- WU, X.Y.; GATLIN III, D.M. Effects of altering dietary protein content in morning and evening feedings on growth and ammonia excretion of red drum (*Sciaenops ocellatus*). **Aquaculture**, v. 434, p. 33-37, 2014.
- ZHOU, C.; GE, X.; NIU, J.; LIN, H.; HUANG, Z.; TAN, X. Effect of dietary carbohydrate levels on growth performance, body composition, intestinal and hepatic enzyme activities, and growth hormone gene expression of juvenile golden pompano, *Trachinotus ovatus*, **Aquaculture**, v. 437, p. 390-397, 2015.
- ZHOU, P.; WANG, M.; XIE, F.; DENG, D.F.; ZHOU, Q. Effects of dietary carbohydrate to lipid ratios on growth performance, digestive enzyme and hepatic

carbohydrate metabolic enzyme activities of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*),
v. 452, p. 45-51, 2016.

5.0 ARTIGO NAS NORMAS DA REVISTA LATIN AMERICAN JOURNAL of AQUATIC RESEARCH (LAJAR)

Desempenho, hematologia e metabolismo em juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) alimentados com dietas contendo diferentes fontes e níveis de carboidrato e concentrações de proteína.

A.F. Silva¹, J.F.B. Melo¹

¹Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF – Petrolina, PE

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the performance, hematological, metabolic responses and the activity of the liver and digestive enzymes in tambaqui juveniles fed different sources, carbohydrate levels and protein concentrations. eight diets with variations were evaluated: (FM - corn meal, MI - Mango in natura; PB - crude protein) in FM ratios / PB 30% / 30%, 36% / 28%, 42% / 26% and 48% / 24% - MI / PB 30% / 30%, 36% / 28%, 42% / 26% and 48% / 24%. For 47 days 144 (3.93 ± 0.5 g) tambaqui juveniles were fed ad libitum twice daily in a closed recirculating water system. At the end of the experiment were evaluated the performance, hematological, metabolic responses, activity of liver and digestive enzymes. Fish fed the FM / CP diet - 42% / 26% showed the best performance. Haematological parameters all the variables showed significant differences. Among the hematological parameters, hematocrit showed no interaction between the sources and levels. Metabolic variables responded to diets tested to keep getting energy processes. The plasma albumin and triglycerides showed no interaction. The activities of liver enzymes are responsive tested rations and showed significant interaction. The activities of the evaluated digestive enzymes showed interaction effect. It can be concluded that diets with corn meal in the proportions of 42/26 (corn meal / CP) produce higher growth in tambaqui and maintains normal hematologic parameters and metabolic responses.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el crecimiento, hematológicos, las respuestas metabólicas y la actividad de enzimas en el hígado y las enzimas digestivas de juveniles de tambaqui alimentados con diferentes fuentes, concentraciones de hidratos de carbono y proteína. Se evaluaron ocho dietas con variaciones: (FM - harina de maíz, MI - Mango in natura; PB - proteína bruta) en relaciones de FM / PB 30% / 30%, 36% / 28%, 42% / 26% y 48% / 24% - MI / PB 30% / 30%, 36% / 28%, 42% / 26% y 48% / 24%. Durante 47 días 144 ($3,93 \pm 0,5$ g) los juveniles de tambaqui fueron alimentados ad libitum, dos veces al día en un sistema cerrado de recirculación de agua. Al final del experimento se evaluó el crecimiento, hematología, respuestas metabólicas, la actividad de las enzimas del metabolismo y digestivas y. Los peces alimentados con la dieta FM / CP - 42% / 26% mostró el mejor crecimiento. Los parámetros hematológicos mostraron diferencias significativa. Solamente en el hematocrito no mostró interacción entre las fuentes, las concentraciones de hidratos de carbono y proteína. Las variables metabólicas respondieron a las dietas probadas para mantener los procesos energéticos. La albúmina de plasma y los triglicéridos no mostraron interacción. Las actividades de las enzimas hepáticas son sensibles y tienen respuestas a las dietas experimentales, demostrando interacción significativa. Las actividades de las enzimas digestivas evaluados mostraron efecto de interacción. Se puede concluir que las dietas con harina de maíz en la proporción de 42/26 (harina de maíz / proteína total) producen mayor crecimiento de tambaqui y mantiene los parámetros hematológicos normales y las respuestas metabólicas.

Introdução

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é um peixe nativo das bacias dos rios Amazonas e Orinoco, de hábito alimentar onívoro (Costa, 2014), com tendência a herbívoro, filtrador e frugívoro (Nunes *et al.*, 2006). Esta espécie apresenta grande rusticidade e resistência a hipóxia (Araújo-Lima e Goulding, 1998; Baldisseroto, 2009), características favoráveis para o seu cultivo em diferentes sistemas de criação.

A alimentação dos peixes representa gastos entre 50-70% do custo total de produção (De Almeida *et al.*, 2011), devido ao uso de altos níveis de ingredientes proteicos (farinha de peixe) e ao processamento utilizado (Xavier *et al.*, 2014). A adição de fontes e níveis de carboidratos vem sendo estudada principalmente para peixes de hábito alimentar onívoro, onde os níveis de inclusão são adequados para melhorar a eficiência da utilização dos demais nutrientes que compõe a ração. Os peixes apresentam uma menor eficiência na utilização dos carboidratos em relação aos mamíferos, no entanto efeitos benéficos são apresentados com a suplementação de carboidratos nas dietas de peixes (Ren *et al.*, 2015).

O aproveitamento do carboidrato dietético pode variar de acordo com o hábito alimentar das espécies, da fonte e do nível de carboidrato na dieta (NRC, 2011). Dietas de peixes suplementadas com carboidratos auxiliam na redução do catabolismo de lipídios e proteínas, fornece metabolitos para síntese biológica e ainda reduz os custos na produção de ração devido a maior disponibilidade deste nutriente (Krogdahl *et al.*, 2005; Tian *et al.*, 2012; Zhou *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2016). O milho é rico em carboidratos e muito utilizado como matéria prima em vários produtos industriais (Butolo, 2010), dentre eles a confecção de ração comercial para peixes, onde o milho é utilizado como uma importante fonte de energia (Hardy & Barrows, 2002). Existem outras fontes de carboidratos alternativas que vem sendo utilizada na alimentação de peixes, que são aproveitadas a partir de frutas descartadas do consumo humano (Santos *et al.*, 2009; Bezerra *et al.*, 2014; Souza *et al.*, 2014, Lazzari *et al.*, 2015). Entre as frutas utilizadas destaca-se a manga (*mangífera indica*), a qual é comercializada na forma in natura ou processada. Em sua composição encontra-se valores equivalentes de carboidratos de 16,5g em cada 100g (Marques, *et al.*, 2010). Nos cultivares Haden e Tommy açucares como glicose, frutose e sacarose são encontrados em proporções

aproximadas de 0,59%, 3,15% e 9,05% respectivamente e quanto aos valores proteicos encontra-se aproximadamente 4,4g/kg de polpa (Bernades-silva, *et al.*, 2003).

O valor nutricional dos resíduos da fruticultura ainda é pouco estudado na piscicultura, o que se faz necessário investigar o uso destes ingredientes em ensaios de digestibilidade e desempenho para um melhor aproveitamento destes resíduos.

O objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho, os parâmetros hematológicos, as respostas metabólicas e atividade das enzimas digestivas em juvenis de tambaqui alimentados com diferentes fontes e níveis de carboidrato e concentrações de proteína bruta da dieta.

Material e Métodos

Para realização deste experimento foram utilizados 144 juvenis de tambaquis com peso médio inicial de $3,93 \pm 0,5$ g distribuídos aleatoriamente em 24 caixas de PVC com capacidade de 500L em um sistema fechado com recirculação de água com biofiltro. Cada unidade experimental foi composta por 06 juvenis de tambaqui. Foram testadas 08 dietas contendo variações de fontes de carboidratos (fubá de milho - FM e a manga *in natura* – MI) e nas concentrações de proteína bruta 30, 28, 26 e 24 %. A formulação e a composição centesimal calculada das rações estão descritas na tabela 1.

As dietas experimentais foram formuladas de acordo com as exigências nutricionais da espécie. A manga utilizada na confecção das rações era imprópria para o consumo humano (rejeito de produção). Após aquisição da manga *in natura*, eram trituradas e misturadas aos demais ingredientes que compoaram as rações. Foi realizada aproveitando da umidade das frutas na confecção das dietas experimentais. Os valores da composição da manga foram determinados com base na matéria seca para sua inclusão nas rações. Após a mistura, os ingredientes foram peletizados em moedor tipo bola e secos em estufa de recirculação de ar forçada por 24 horas a 55°C e em seguida foram trituradas para adaptação do pellet ao tamanho da boca dos juvenis de tambaqui.

Os juvenis de tambaqui foram alimentados duas vezes ao dia (8:00 e as 16:00) de maneira *ad libitum* por 47 dias. Após o arraçoamento, as caixas foram sifonadas diariamente para a retirada de fezes e possíveis sobras de ração. Os parâmetros de qualidade de água foram monitorados durante o período experimental.

Tabela 1. Formulação e composição calculada das rações experimentais.

Ingredientes (%)	PB/FM	PB/FM	PB/FM	PB/FM	PB/MI	PB/MI	PB/MI	PB/MI
	30%/30%	28%/36%	26%/42%	24%/48%	30%/30%	28%/36%	26%/42%	24%/48%
Farinha de peixe 55% PB	11,41	15,21	22,85	30,64	10,63	14,23	19,59	26,87
Farelo de soja 45% PB	47,99	38,19	23,37	8,24	47,29	37,40	25,23	10,13
Fubá de milho	30,00	36,00	42,00	48,00	–	–	–	–
Manga <i>in natura</i>	–	–	–	–	30,00	36,00	42,00	48,00
Óleo de soja	7,13	7,59	8,77	10,03	8,43	9,14	10,18	11,78
L-lisina	–	–	–	0,05	–	–	–	0,15
DL-metionina	–	–	–	0,03	–	–	–	0,06
Sal comum	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Premix-APP ¹	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Vitamina C ²	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Fosfato bicálcio	0,46	–	–	–	0,64	0,22	–	–
BHT ³	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Nutrientes	Composição nutricional calculada							
Matéria seca (%)	94,91	94,22	94,95	93,97	88,27	85,17	92,58	92,20
Energia bruta (Kcal/Kg ração)	4.200	4.200	4.200	4.200	4.200	4.200	4.200	4.200
Proteína bruta (%)	30,00	28,00	26,00	24,00	30,00	28,00	26,00	24,00
Fibra bruta (%)	2,92	2,37	1,54	0,70	2,87	2,31	1,63	0,79
Carboidratos totais (%)	44,48	45,15	43,69	42,10	46,09	47,10	47,14	45,94
Cálcio (%)	0,96	1,04	1,46	1,88	0,95	1,04	1,27	1,66
Fósforo (%)	0,80	0,80	1,00	1,21	0,80	0,80	0,89	1,08
Lisina (%)	1,95	1,80	1,65	1,52	1,90	1,73	1,57	1,52
Metionina (%)	1,33	1,14	0,89	0,68	1,30	1,11	0,89	0,68
Arginina (%)	2,00	1,80	1,57	1,32	1,95	1,74	1,52	1,26
Histidina (%)	0,69	0,62	0,54	0,45	0,68	0,60	0,52	0,43
Isoleucina (%)	1,30	1,17	1,02	0,87	1,27	1,13	0,99	0,82
Leucina (%)	2,19	1,98	1,72	1,46	2,14	1,91	1,67	1,39
Fenilalanina (%)	1,32	1,19	1,02	0,86	1,29	1,15	0,99	0,82
Treonina (%)	1,04	0,96	0,88	0,80	1,02	0,93	0,84	0,75
Triptofano (%)	0,29	0,24	0,19	0,13	0,28	0,24	0,19	0,13
Valina (%)	1,40	1,29	1,18	1,06	1,36	1,25	1,12	1,00
Ácido linoleico	3,99	4,16	4,66	5,20	4,65	4,94	5,39	6,10

¹Premix min. e vit. (mineral and vitamin mix): Níveis de garantia por quilograma do produto: Vit. A, 1.200.000UI; Vit. D₃, 200.000UI; Vit. E, 12.000mg; Vit. K3, 2.400mg; Vit. B1, 4.800mg; Vit. B2, 4.800mg; Vit. B6, 4.000mg; Vit. B12, 4.800mg; Ác. Fólico, 1.200mg; Pantotenato Ca, 12.000mg; Vit. C, 48.000mg; Biotina, 48mg; Colina, 65.000mg; Niacina, 24.000mg; Ferro, 10.000mg; Cobre, 6.000mg; Manganês, 4.000mg; Zinco, 6.000mg; Iodo, 20mg; Cobalto, 2mg; Selênio, 20mg; ²Vitamina C protegida: sal cálcica 2-monofosfato de ácido ascórbico, 42% de princípio ativo (calcic salt, ascorbic acid 2-monophosphate-42% active principle); 3. Butil-Hidroxitolueno;

Ao fim do período experimental os juvenis de tambaqui foram pesados para avaliação do desempenho zootécnico através dos seguintes parâmetros:

Ganho de peso total (GPT, g) = Peso final – Peso inicial

Ganho de peso médio diário (GPMD, g) = GPT / período experimental

Taxa de crescimento específico (TCE %) = $(\ln(pf) - \ln(pi)) \times 100 / \text{tempo}$

Fator de condição (FC) = $(\text{peso} / \text{comprimento}^3) \times 100$.

ln = logaritmo neperiano; pf = peso final; pi = peso inicial

Para as análises dos parâmetros metabólicos, sanguíneos e coleta de tecidos biológicos (intestino e fígado), retirou-se seis juvenis de tambaqui por tratamento. Os peixes foram submetidos a coleta de sangue por punção vaso caudal com seringas heparinizadas. Todos os procedimentos experimentais realizados com os peixes foram autorizados pelo Comitê de ética no uso de animais (CEUA) da Universidade Federal do Vale do São Francisco, protocolo número 0016/140415.

A retirada do sangue para obtenção do plasma foi por centrifugação a 5.000 x rpm por 5 minutos, após congelado à -20 graus centígrados para posterior análises dos intermediários metabólicos. Logo os peixes foram anestesiados com benzocaína (1 g/10 L⁻¹) e em seguida eutanaziados para coleta do fígado e intestino onde foram realizadas as avaliações da atividade das enzimas de transaminação (aspartato aminotransferase - AST) e desaminação (glutamato desidrogenase, GDH) e glicogênio. Nos intestinos foram avaliadas as atividades das enzimas digestivas, amilase, protease alcalina inespecífica e lipase.

Para a avaliação dos parâmetros hematológicos foi utilizado o sangue coletado, no qual foram analisados o hematócrito, contagem de eritrócitos, hemoglobina total e através desses dados calculou-se o volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). O hematócrito (Ht) foi realizado conforme descrito por Goldenfarb *et al.* (1971), o tubo microcapilar heparinizado é preenchido em 2/3 de seu volume total e logo após a vedação foi centrifugada a 12.000 rpm por 5 minutos. A concentração de hemoglobina (Hb) pelo método da cianometahemoglobina descrita por Drabkin (1948), utilizando o reagente de Drabkin e a leitura foi realizada a 540 nm. A contagem de eritrócitos foi feita em câmara de Neubauer, utilizando o reagente de Natt & Herrick (1952). O volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) foram calculados utilizando os valores absolutos de Ht, a concentração de Hb e o número de eritrócitos. Os resultados dos parâmetros hematológicos foram estimados conforme fórmulas a seguir (Wintrobe, 1934):

$$\text{VCM} = \text{Hematócrito} * 10 / \text{N}^{\circ} \text{ de Eritrócitos} (* 10^6 \mu\text{L}^{-1}) = \text{fL}$$

$$\text{HCM} = \text{Taxa de Hemoglobina} * 10 / \text{N}^{\circ} \text{ de Eritrócitos} = \text{pg}$$

$$\text{CHCM} = \text{Taxa de concentração de Hemoglobina} * 100 / \text{Hematócrito} = \text{g/dL}^{-1}$$

Os metabolitos aferidos no plasma foram glicose (mg/dL), albumina (g/dL), triglicerídeos (mg/dL) e colesterol total (mg/dL) seguindo os métodos colorimétricos

dos reagentes (labtest®). Os aminoácidos livres foram de terminados seguindo a metodologia de Copley (1941), onde foi utilizado um padrão de glicina 1mm e o extrato era adicionado a uma solução de ninhidrina 0,1 % em propanol e a leitura foi realizada em espectrofotômetro em 570 nm.

As determinações de glicogênio hepático (GH) foram realizadas conforme descrito por Bidinotto *et al.* (1997). Onde as amostras de fígado de cada peixe foram pesadas na proporção de 100 a 110 mg e logo em seguida foram transferidos para tubos de ensaio. Logo, foram adicionados 1,0 ml de KOH 6,0 N e incubado por 3 minutos em banho-maria a 100° C. Dissolvido os tecidos, 100 µl deste extrato foi transferido para um tubo e adicionado 250 µl de etanol e 100 µl de K₂SO₄ 10 %, seguidos de agitação. Logo após, a amostra era centrifugada a 3.000 rpm por 3 minutos. Posteriormente, o sobrenadante era descartado por inversão e o precipitado re-suspendido em 2 ml de água destilada, após a mistura realizou-se a transferência de 100 µl da amostra, 250 µl de fenol e 1 ml de H₂SO₄ para parar a reação, posteriormente foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 480 nm.

Para determinar a atividade das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e glutamato desidrogenase (GDH), amostras de fígado com peso aproximado de 100 mg foram homogeneizados em tampão (10 mM fosfato / 20 mM tris-pH 7,0) a 4° C, utilizando homogeneizador mecânico. A determinação da atividade de AST foi feita por meio colorimétrico dos reagentes (Labtest ®). A leitura da atividade da enzima foi realizada em Comprimento de onda de 360 nm.

A atividade da enzima GDH foi determinada segundo Hochachka et al. (1978). A reação é baseada na redução de 2-cetoglutarato em glutamato. O meio de reação continha tampão imidazol-HCl pH 7,7- 50 mM, acetato de amônio 250 mM, NADH 0,1 mM, ADP 1 mM, NADP 0,5 mM, 2-cetoglutarato 5 mM. Para determinação da atividade utilizou-se 100 microlitros do homogeneizado e realizada a leitura em comprimento de onda de 360 nm.

Para determinação das enzimas digestivas amostras de intestino com peso aproximado de 100 mg foram homogeneizados em tampão 10 mM fosfato / 20 mM tris-pH 7,0 a 4° C, utilizando homogeneizador mecânico.

A atividade de amilase do intestino foi determinada segundo o método proposto por Hidalgo *et al.* (1999). Em 1,0 ml de solução de amido em tampão Tris 0,1 M (pH 7,0), contendo NaCl 0,02 M, foi adicionado volume adequado de homogeneizado celular, sendo a mistura da reação incubada por 40 minutos a 25 °C. Decorrido o tempo

de reação, foi adicionado 250 µl de ácido tricloro acético (TCA) 15 %, sendo a mistura da reação centrifugada a 3000 x g por 2 minutos. No sobrenadante foi estimada a concentração de glicose pelo método de Park & Johnson (1949).

Na determinação da atividade proteolítica alcalina do intestino foi utilizada solução de caseína 1 % como substrato da reação. A mistura de incubação foi composta de 250 - 400 µl de azocaseína 1 %, tampão Tris/HCl 0.1 M (pH 8.0). Após a incubação da mistura por 30 minutos à 35 °C, a reação foi interrompida pela adição de 1.0 ml de TCA 15 %, depois foi centrifugada a 1.800 g por 10 minutos (Walter, 1984). Foi utilizada tirosina como padrão e a unidade de atividade enzimática será definida como a quantidade de enzima necessária para catalisar a formação de 1 µg de tirosina por minuto.

A atividade de lipase não específica do intestino foi determinada segundo método descrito por Gawlicka *et al.* (2000). A reação era incubada a 35 °C em meio contendo 0,4 mM p-nitrofenil meristato em solução tampão 24 mM de bicarbonato de amônio pH 7.8 e 0,5 % Triton X-100. Após 30 minutos, as reações eram interrompidas pela adição de NaOH 25 mM. A leitura em espectrofotômetro foi realizada a 405 nm.

Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial (4x2) sendo quatro níveis (30, 36, 42 e 48 %) e duas fontes de carboidratos (farinha de milho e manga *in natura*) com quatro repetições. Os resultados foram analisados pelo programa computacional *Statistical Analysis System* – SAS (Versão 9.1, 2003), sendo anteriormente verificada a normalidade dos resíduos pelo teste de SHAPIRO-WILK (PROC UNIVARIATE) e as variâncias comparadas por contrastes ortogonais (linear, quadrática e desvio da quadrática e efeito de fonte) com nível de significância de 5 % pelo PROC GLM. Quando significativo o efeito de interação níveis *versus* fonte procedeu-se a o desdobramento da mesma. Posteriormente as análises de contrastes, quando significativas, determinou-se os parâmetros das equações de regressão pelo PROC REG.

Resultados

Os resultados encontrados nas análises dos parâmetros de qualidade de água durante o experimento foram: condutividade elétrica 91,2 µs/cm, salinidade total 43,61 ppm, oxigênio dissolvido 6,3 mg/L, concentração de amônia 0,059 mg/L, concentração de nitrito 0,044 mg/L, concentração de fósforo 0,286 mg/L, concentração de nitrato

2,832 mg/L, pH 7,23 e temperatura média de $26,1 \pm 4,78^{\circ}\text{C}$, resultados que são favoráveis ao cultivo da espécie (Urbinati & Gonçalves, 2005).

Os parâmetros de desempenho observados neste estudo de inclusão de fontes e níveis de carboidratos reduzindo os níveis de proteína são apresentados na Tabela 2. Houve diferença significativa e efeito de interação ($P < 0,05$) em todos os parâmetros de desempenho zootécnico avaliados. Os peixes apresentaram melhores resultados de desempenho (GPT, GMPD e FC) na dieta com 42 % de fubá de milho e 26 % de proteína bruta.

Tabela 2. Parâmetros de desempenho zootécnico de juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo diferentes fontes e níveis de carboidratos e redução dos níveis de proteína bruta.

Variáveis	Fubá de milho/PB					Manga <i>in natura</i> /PB				
	30/30	36/28	42/26	48/24	EPM	30/30	36/28	42/26	48/24	EPM
GPT (g)	29,63	33,49	36,31	29,14	0,75	19,12	23,67	6,52	7,93	0,98
GMPD (g)	0,63	0,71	0,77	0,62	0,02	0,41	0,50	0,14	0,17	0,02
TCE (%)	4,54	4,78	4,85	4,87	0,05	3,73	4,01	1,95	1,91	0,13
FC	1,90	1,54	1,46	1,53	0,03	1,46	2,02	1,46	1,79	0,04
Efeito (Probabilidade)										
Taxas	Linear	Quadrático	Níveis	Fontes	N*F	ER		R ²		
GPT	*	*	*	*	*	FM=-81,846+5,999x-0,076x ²		0,44		
						MI=21,217+0,526x-0,017x ²		0,51		
GMPD	*	*	*	*	*	FM=-1,741+0,127-0,001x ²		0,31		
						MI=0,441+0,011-0,000x ²		0,51		
TCE	*	*	*	*	*	FM=4,099+0,016x		0,23		
						MI=7,775-0,125x		0,61		
FC	NS	NS	NS	*	*	FM=6,854-0,256x+0,003x ²		0,61		
						MI=-4,697+0,327x-0,004x ²		0,33		

GPT: Ganho de Peso Total; GMPD: Ganho de Peso Médio Diário; TCE: Taxa de Crescimento Específico; FC: Fator de Condição.

EPM: Erro Padrão Médio; PB: Proteína Bruta; *: $P < 0,05$; NS: Não Significativo.

As dietas experimentais influenciaram nos parâmetros hematológicos dos juvenis de tambaqui (tabela 3). Os valores médios de hematócrito foram influenciados ($P < 0,05$) em níveis e fontes. A taxa de hemoglobina e o número de eritrócitos, apresentaram influência ($P < 0,05$) em níveis, fontes e mostraram interação. Os resultados de volume corpuscular médio (VCM) apresentaram interação ($P < 0,05$) em níveis. As médias de concentrações de hemoglobina corpuscular média (HCM) mostraram-se significativas ($P < 0,05$) apenas em fontes.

Tabela 3. Parâmetros hematológicos de juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo diferentes fontes e níveis de carboidratos e redução dos níveis de proteína bruta.

Taxas	Fubá de milho/PB					Manga <i>in natura</i> /PB				
	30/30	36/28	42/26	48/24	EPM	30/30	36/28	42/26	48/24	EPM
Hematócrito (%)	25,00	25,75	23,20	20,75	0,49	22,40	22,00	13,80	16,75	0,93
Hemoglobina (g/dL)	17,22	16,55	20,20	14,75	0,56	13,98	12,51	8,00	10,92	0,49
Eritrócitos (10 ⁶ /μL)	2,21	4,38	3,88	3,65	0,18	3,03	2,53	2,29	2,00	0,12
VCM ¹ (fL)	99,07	52,77	76,72	56,18	4,90	73,55	73,05	57,58	86,11	3,05
HCM ² (pg)	94,63	43,23	53,80	40,73	4,80	43,41	57,45	35,59	51,94	2,27
CHCM ³ (g/dL ⁻¹)	68,40	96,38	76,37	64,32	3,81	62,28	57,48	55,16	69,81	2,31
Efeito (Probabilidade)										
Taxas	Linear	Quadrático	Níveis	Fontes	N*F	ER	R ²			
Hematócrito	*	NS	*	*	NS	FM=33,593-0,253x	0,55			
Hemoglobina	NS	*	*	*	*	MI=35,790-0,439x	0,51			
						FM=-22,146+2,141x-0,028x ²	0,38			
Eritrócitos	NS	*	*	*	*	MI=62,930-2,477x+0,028x ²	0,62			
						FM=-	0,66			
VCM	*	*	*	NS	*	23555600,000+1363733,33x-16666,67x ²	0,42			
						MI=6802566,667-170322,222x+1472,222x ²	0,42			
HCM	NS	*	*	NS	NS	FM=417,408-16,680x + 0,194x ²	0,38			
CHCM	NS	NS	NS	*	*	MI=353,736-15,251x + 0,200x ²	0,33			
						Y=549,211-23,280x+0,266x ²	0,71			
CHCM	NS	NS	NS	*	*	FM=-312,928+21,142x-0,277x ²	0,34			
						MI=247,384-10,198x+0,135x ²	0,23			

¹VCM: Volume Corpuscular Médio; ²HCM: Hemoglobina Corpuscular Média; ³CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média.

EPM: Erro Padrão Médio; PB: Proteína Bruta; *: P<0,05; NS: Não Significativo.

Os resultados de intermediários metabólicos plasmáticos, glicogênio hepático (GH) e atividade das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e glutamato desidrogenase (GDH) aferidas no fígado são apresentados na tabela 4. Os resultados de glicose, triglicérides e proteínas totais analisadas no plasma apresentaram efeito significativo (P<0,05) nas dietas ofertadas em fontes, níveis e efeito de interação. No entanto os níveis de glicose são mais elevados nos tratamentos de inclusão de fubá de milho. Os níveis de triglicérides foram maiores nos tratamentos de inclusão da manga *in natura* nos tratamentos de 42/26 e 48/24. O colesterol plasmático teve efeito (P<0,05) em relação as fontes, pois as maiores concentrações foram nas rações com a manga *in natura*. As concentrações de albumina plasmática foram significativas (P<0,05) em fontes e níveis, as quais diminuíram com o aumento dos níveis de carboidratos e redução da proteína da dieta em ambas fontes de carboidratos testadas. Os níveis de

aminoácidos totais mostraram interação significativa ($P<0,05$). Os resultados de GH, AST e GDH apresentaram efeito significativo ($P<0,05$) em níveis, fontes e efeito de interação. Os níveis de GH aumentaram com o aumento dos níveis de fubá de milho na dieta, no entanto resultados opostos foram obtidos com o aumento dos níveis de manga *in natura* na dieta. A atividade da AST foi maior quando se utilizou a manga *in natura* na ração. A atividade da enzima GDH foi maior nas dietas que continham o fubá de milho como fontes de carboidratos (especialmente nos tratamentos 30/30 e 48/24).

Tabela 4. Resultados de intermediários metabólicos plasmáticos, glicogênio hepático e atividade das enzimas (AST) e (GDH).

Metabolitos/ enzimas	Fubá de milho/PB					Manga <i>in natura</i> /PB				
	30/30	36/28	42/26	48/24	EPM	30/30	36/28	42/26	48/24	EPM
Gli ¹ (mg.dL ⁻¹)	106,96	97,12	110,18	114,15	2,98	112,31	99,40	84,46	85,11	2,85
GH ² mg/g/tecido	261,12	264,45	265,32	274,81	1,79	269,83	264,42	263,63	259,27	1,96
Tri ³ (mg.dL ⁻¹)	135,43	110,24	142,49	171,06	6,53	153,31	156,45	241,57	284,98	13,65
Col ⁴ (mg.dL ⁻¹)	63,21	67,04	76,81	90,14	3,55	121,64	105,70	114,11	109,06	3,88
Alb ⁵ (g.dL ⁻¹)	0,93	0,85	0,80	0,63	0,03	0,84	0,65	0,65	0,48	0,03
Prot ⁶ (g.dL ⁻¹)	3,43	3,54	3,88	3,21	0,13	3,13	3,60	3,00	2,84	0,09
AAT ⁷ (µl.mL)	34,64	39,54	32,00	28,56	1,50	28,99	29,93	32,78	41,08	1,38
AST ⁸ (U.g ⁻¹ /prot*)	253,63	269,19	289,46	286,98	6,64	266,27	299,14	595,49	295,03	29,99
GDH ⁹ (U.g ⁻¹ /prot*)	378,09	388,35	178,48	420,48	23,33	200,27	94,75	127,08	230,36	12,23

	Efeito (Probabilidade)						
	Linear	Quadrático	Níveis	Fontes	N*F	ER	R ²
Glicose	*	*	*	*	*	FM=307,100+9,502x + 0,101x ²	0,86
GH	NS	NS	NS	*	*	MI=154,164-1,503x FM=239,171+0,698x	0,76 0,30
Triglicérides	*	*	*	*	*	MI=285,390-0,541x FM=49,360+2,319x MI=-103,004+8,002x	0,21 0,25 0,67
Colesterol	NS	NS	NS	*	NS	FM=74,30 MI=112,62	- -
Albumina	*	NS	*	*	NS	FM=1,410-0,015x MI=1,354-0,017x	0,37 0,64
Prot. Totais	*	*	*	*	*	FM=-4,732+0,443x- 0,006x ² MI=- 2,534+0,326x+0,005x ²	0,33 0,35
Amin. Totais	NS	NS	NS	NS	*	FM=-35,192+4,095x- 0,058x ² MI=83,187- 3,333x+0,051x ²	0,24 0,51
Atividade AST	*	*	*	*	*	FM=11,663+11,778x- 0,125x ² MI=- 3301,257+186,296x- 2,314x ²	0,20 0,42
Atividade GDH	NS	*	*	*	*	FM=2770,427- 126,903x+1,609x ² MI=2223,623- 111,056x+1,450x ²	0,27 0,85

¹Glicose, ²Glicogênio Hepático, ³Triglicérides, ⁴Colesterol, ⁵Albumina, ⁶Proteínas Totais, ⁷Aminoácidos Totais, ⁸AST-Aspartato Aminotransrase Hepática, ⁹Glutamato Desidrogenase.

EPM: Erro Padrão Médio; PB: Proteína Bruta; *: $P<0,05$; NS: Não Significativo.

As atividades das enzimas digestivas apresentaram diferenças significativas ($P < 0,05$). A protease alcalina e a amilase foram influenciadas em níveis, fontes e interação. A lipase apresentou efeito significativo ($P < 0,05$) em níveis e interação.

Tabela 5. Atividade das enzimas intestinais de juvenis de tambaqui alimentados com dietas contendo diferentes fontes e níveis de carboidratos e redução dos níveis de proteína bruta.

Enzimas (UI/mg/P)	Fubá de milho/PB					Manga <i>in natura</i> /PB				
	30/30	36/28	42/26	48/24	EPM	30/30	36/28	42/26	48/24	EPM
Protease Alcalina	84,15	75,22	68,22	44,57	4,56	62,44	57,70	26,18	44,47	4,18
Amilase	0,32	0,37	0,42	1,80	0,16	0,47	0,38	1,26	0,92	0,09
Lipase	2,88	2,41	2,02	1,03	0,19	1,86	1,67	1,43	3,01	0,17
Efeito (Probabilidade)										
	Linear	Quadrático	Níveis	Fontes	N*F	ER	R ²			
Protease alcalina	*	*	*	*	*	FM=-1,051+5,874x-0,102x ²	0,68			
						MI=339,197-13,894x+0,159x ²	0,48			
Amilase	*	*	*	*	*	FM= 11,347-0,640x+0,009x ²	0,93			
						MI=-3,170+0,168x-0,001x ²	0,48			
Lipase	*	*	*	NS	*	FM=0,609+0,182x-0,003x ²	0,82			
						MI=18,081-0,907x+0,012x ²	0,78			

P: Proteína; EPM: Erro Padrão Médio; PB: Proteína Bruta; *: $P < 0,05$; NS: Não Significativo.

Discussão

De acordo com os resultados dos parâmetros zootécnicos avaliados peso, taxa de crescimentos específico e fator de condição neste estudo (Figura 1), o fubá de milho foi a melhor fonte de carboidrato para juvenis de tambaqui, quando comparada com a manga *in natura*. Resultados semelhantes foram relatados (Lima *et al.*, 2011) na avaliação da substituição do milho pelo farelo de resíduo de manga na alimentação de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), Souza *et al.* (2013) quando avaliaram a substituição do milho pela farinha de manga na alimentação de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e por Pretto *et al.* (2014) quando avaliaram o desempenho da carpa húngara (*Cyprinus carpio*) com diferentes fontes de carboidratos na dieta. A inclusão de manga *in natura* não proporcionou resultados satisfatórios quando comparado ao milho. Estes resultados podem estar relacionados ao hábito alimentar da espécie e ou composição nutricional da fruta. Há dificuldade em definir as fontes e

níveis de inclusão de carboidratos nas rações para peixes devido a alguns fatores como: estado físico, composição e complexidade molecular da fonte de carboidratos, influenciando diretamente na digestibilidade, metabolismo e no melhor aproveitamento dos carboidratos (NRC, 2011; Lazzari *et al.*, 2015). Tem-se verificado que a menores índices de digestibilidade da proteína, energia de alguns alimentos como a semente da seringueira (Lima *et al.*, 2011; Guimarães *et al.*, 2014; Deng *et al.*, 2015), podem prejudicar o desempenho dos peixes.

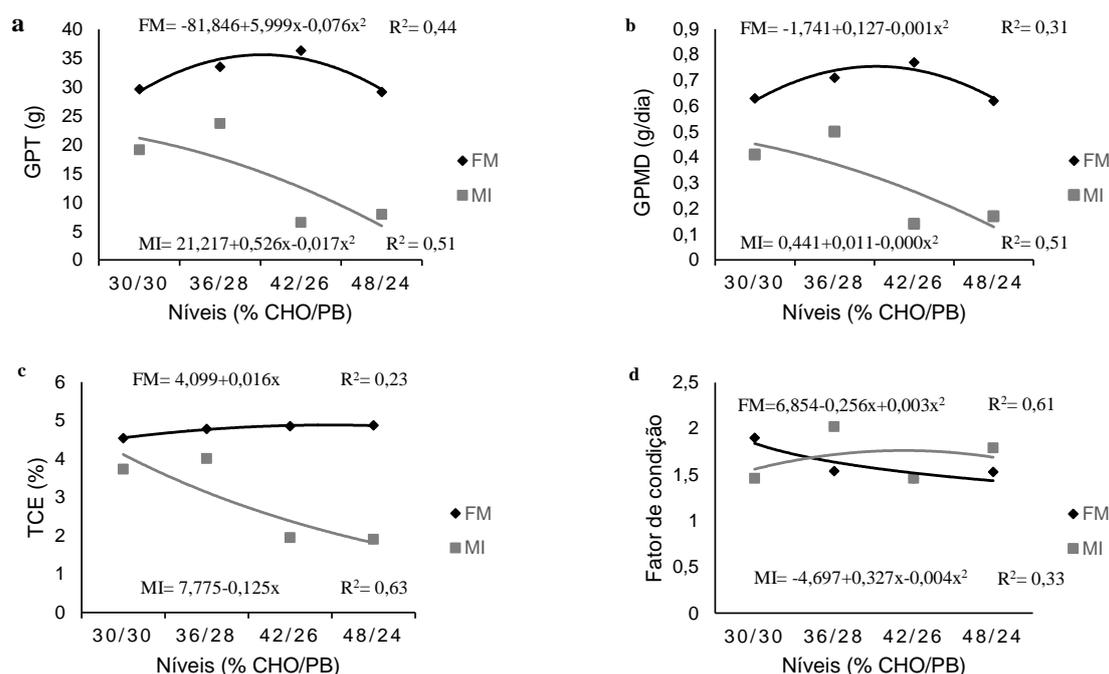


Figura 1. Parâmetros de desempenho zootécnico de juvenis de tambaqui alimentados com variações de carboidratos e concentrações de proteína (a – Ganho de peso total; b – Ganho de peso médio diário; c – Taxa de crescimento específico; d – Fator de condição).

Os efeitos ocasionados pelas fontes de carboidratos e níveis de proteína nos parâmetros hematológicos foram acentuados (figura. 2). As duas fontes de carboidratos e as concentrações de proteína modificaram o perfil hematimétrico do tambaqui. Pelas equações ajustadas em cada variável analisada percebe-se a adaptação da série vermelha às condições alimentares. O mesmo foi verificado em juvenis de tambaqui alimentados com rações contendo farinha de folha de leucena Pereira-Junior *et al.* (2014). Resultados contraditórios foram observados por Pereira-Junior *et al.* (2013) quando

incluíram farinha de cruera de mandioca na ração de juvenis de tambaqui e por Oba-Yoshioka *et al.* (2015) ao substituírem a ração comercial por uma mistura composta de soja e milho nas rações para híbridos de tambatinga. No presente estudo o número de eritrócitos, a taxa de hemoglobina e o hematócrito foi maior nos animais alimentados com fubá de milho, o que pode estar relacionado ao maior desempenho. Nos eritrócitos estão contidas a hemoglobina que tem como função realizar o transporte do oxigênio (O₂) e de parte do gás carbônico (CO₂) (Ranzani-Paiva & Silva-Souza, 2004) para os tecidos e células, o que proporciona maior metabolização das moléculas. O status hematológico é importante para avaliação do estado nutricional e de saúde dos peixes (Farhat & Khan, 2014), estado fisiológico (Yugi-Sado *et al.*, 2014) e condições ambientais (Soltanzadeh *et al.*, 2016). É provável que nos tambaquis alimentados com manga *in natura* tenha prejudicado a série vermelha e produzindo adaptações compensatórias como foi a variável na redução dos eritrócitos, mas com aumento do volume corpuscular médio (2d) e da concentração da hemoglobina (2F).

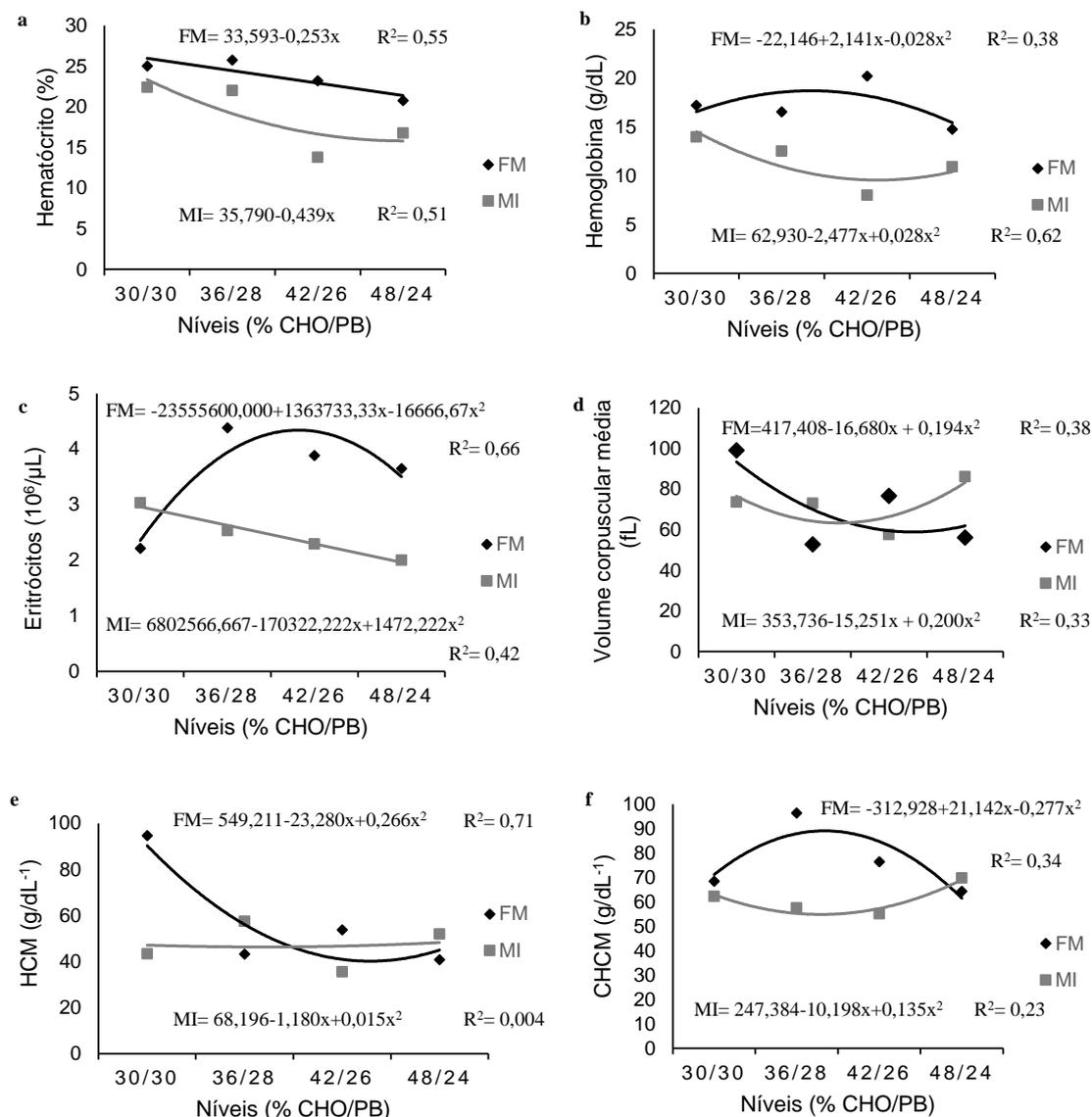


Figura 2. Parâmetros hematológicos de juvenis de tambaqui alimentados com variações de carboidratos e concentrações de proteína (a – Hematócrito; b – Hemoglobina; c – Eritrócitos; d – Volume corpuscular média; e – Hemoglobina corpuscular média; f – Concentração de hemoglobina corpuscular média).

Os intermediários metabólicos do tambaqui alimentados pelas fontes e níveis de carboidratos e variações das concentrações de proteínas apresentam perfil adaptativo (figuras. 3 & 4). A adaptação de parâmetros metabólicos em peixes causados pela alimentação já tem sido descrita por vários autores (Abdel-Tawwab *et al.*, 2015; Apún-Molina *et al.*, 2015; Lazzari *et al.*, 2015).

Entre os metabólitos estudados a manutenção da glicemia, bem como suas alterações nos peixes, é responsiva pelas dietas e seus nutrientes. Ren *et al.* (2015)

verificaram que o aumento de carboidrato na alimentação de juvenis de *Megalobrama amblycephala* com diferentes fontes de carboidratos aumenta a glicemia. O nível de glicose plasmática está relacionado diretamente a variações osmorregulatórias, presença de fatores estressantes e composição da ração (Polakof *et al.*, 2012). Já em relação ao glicogênio hepático, que é a reserva de glicose para o organismo, os valores mantiveram-se próximos, mesmo havendo interação. No uso de fubá de milho com maiores quantidades nas rações houve maior depósito e no uso da manga *in natura* menos depósito de glicogênio (F3a e F3b). Os resultados de glicogênio hepático foram semelhantes em tambaquis alimentados com maiores quantidades de farinha de manga Bezzera *et al.* (2014). A concentração de glicogênio hepático é influenciada pela alimentação dos peixes (Melo *et al.*, 2006).

Os triglicerídeos plasmáticos as duas fontes testadas, as maiores quantidades de carboidratos e as menores concentrações de proteína refletiram em aumento na concentração deste metabólito (Fig. 3c). O excesso de glicose é convertido em lipídio através da lipogênese, esta indução pode ocorrer após a alimentação e envolve diretamente a homeostase de glicose (Polakof *et al.*, 2012; Castro *et al.*, 2015).

O colesterol total plasmático somente teve interação entre as fontes e não entre as concentrações de carboidratos e proteína das dietas (Fig. 3d). Na literatura o colesterol é alterado pelos tipos de lipídios presentes na dieta (Ribeiro *et al.*, 2013; Castro *et al.*, 2015). As alterações observadas, encontram-se dentro de níveis de referência nos peixes (Pretto *et al.*, 2014; Bezerra *et al.*, 2014)

As alterações observadas nos níveis de albumina e proteínas totais plasmática apresentaram o mesmo comportamento (Fig. 3e e 3f). Elas estão relacionadas a estratégias metabólicas de transporte e lesões de tecidos, além de desnutrição (Razzani-Paiva *et al.*, 2004; Dallagnol *et al.*, 2014). As fontes, os maiores níveis de carboidratos e as menores concentrações de proteína das rações reduziram estes metabólitos. De acordo com Hasegawa *et al.*, (2002) relataram que a albumina é uma lipoproteína de alta densidade, e sua síntese é influenciada pela nutrição, balanço hormonal, estado geral do fígado e estresse. Já a proteína total plasmática é alterada principalmente por mudanças no volume plasmático, que pode ter aumento causado por mudança de fluido do plasma para o compartimento intracelular e uma diminuição pode ser causada por hidratação do plasma (Melo *et al.*, 2009). É provável que a redução destes metabólitos nos tratamentos onde havia mais carboidrato e menos proteína na ração tenham disponibilizados menores quantidades de nutrientes para as células. Portanto, elas estão

relacionadas para a manutenção dos processos normais de manutenção, crescimento e sobrevivência (Melo *et al.*, 2006; Tan *et al.* (2009); Souza *et al.* (2014).

A mudança do perfil dos aminoácidos livres plasmáticos denotou mobilização para uso nos processos energéticos (Fig. 4a). Esta variação nas concentrações de aminoácidos já foi descrita por Figueiredo-Silva *et al.* (2013), que avaliaram as respostas metabólicas de truta arco-íris e tilápia do Nilo alimentadas com rações com diferentes proporções de proteína. Os aminoácidos podem ser utilizados para síntese de energia, Hormônios, neurotransmissores e proteínas tissulares (Beitz, 1996; Bombardelli *et al.* 2003).

Outra resposta que denotou a utilização de aminoácidos como fonte energia pelos tecidos é a atividade enzimática da AST e GDH. Neste estudo o aumento da AST se deu nas rações com maiores quantidades de carboidrato e menores de proteína (Fig. 4b) e da GDH ocorreu tanto nas maiores quanto menores concentrações de carboidratos e proteínas de ambas as fontes testadas (Fig. 4c). Em estudo realizado por Tu *et al.* (2015) verificaram o aumento da atividade da enzima AST no fígado de carpa gibel (*Carrassius auratus gibelio*) em dietas com maiores níveis de proteína. A função desta enzima é coletar os grupamentos amino dos aminoácidos e encaminha-los para utilização nas vias biossintéticas (Nelson *et al.*, 1998). Em estudo realizado com jundiá Melo *et al.* (2006) propõe que o aumento da atividade da AST está relacionado com o catabolismo dos aminoácidos para regular os níveis da glicemia e as reservas hepáticas. Figueiredo-Silva *et al.* (2013) verificaram redução da atividade da enzima GDH em truta arco-íris e em tilápia do Nilo alimentadas com dietas de menores níveis proteicos. Viegas *et al.* (2015) relataram aumento da atividade da enzima GDH em *Dicentrarchus labrax L.* em dieta suplementada com carboidratos especulando que estes animais estavam com nível energético (mitocondrial) abaixo do normal. Desta forma, parece que as fontes testadas e as concentrações de nutrientes neste estudo produzem repostas diferentes no desempenho tambaqui, e também estimulam as vias de utilização de energia para manutenção e crescimento através das atividades enzimáticas da AST e GDH.

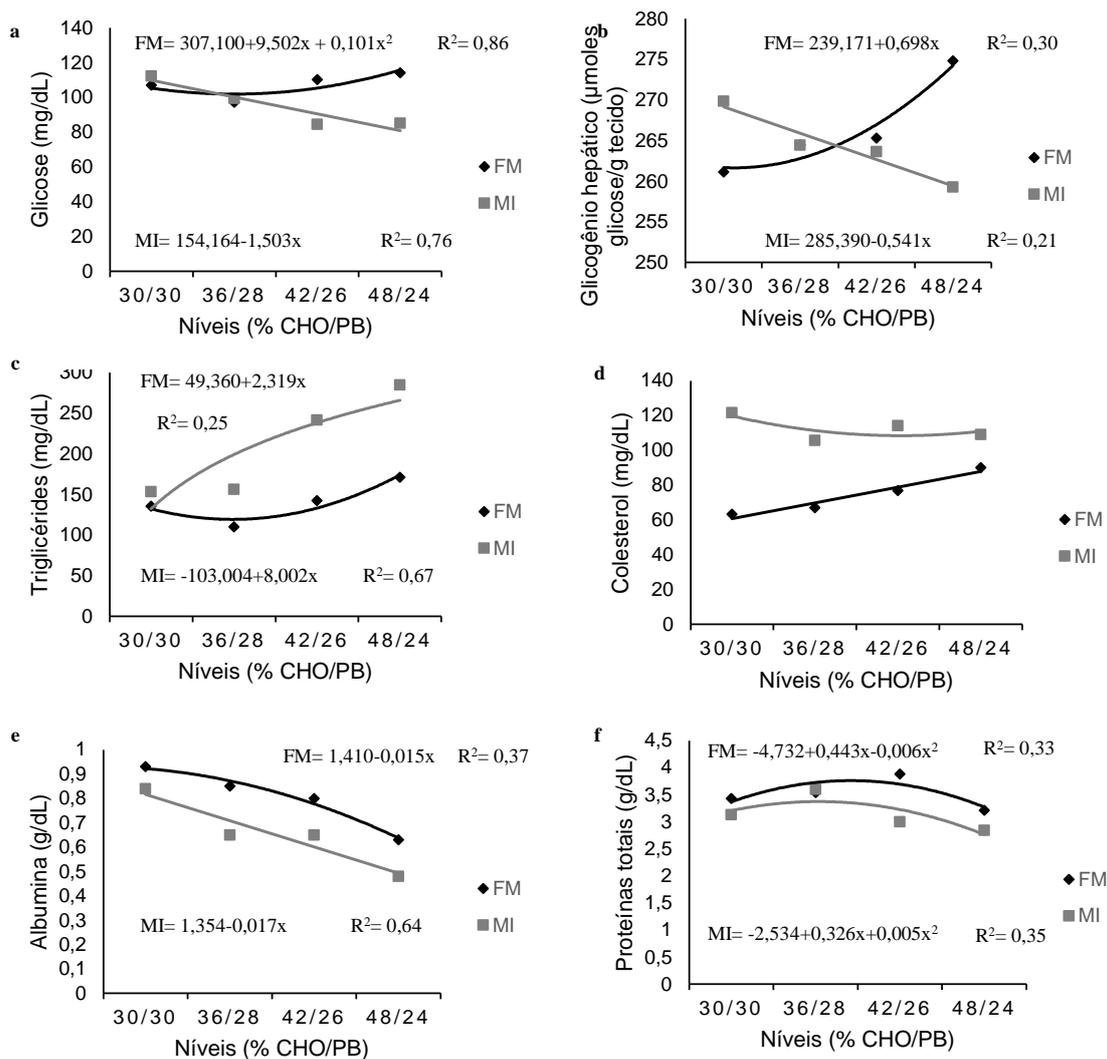


Figura 3. Metabólitos intermediários de juvenis de tambaqui alimentados com variações de carboidratos e concentrações de proteína (a – Glicose plasmática; b – Glicogênio hepático; c – Triglicérides plasmática; d – Colesterol plasmática; e – Albumina plasmática; f – Proteínas totais plasmática).

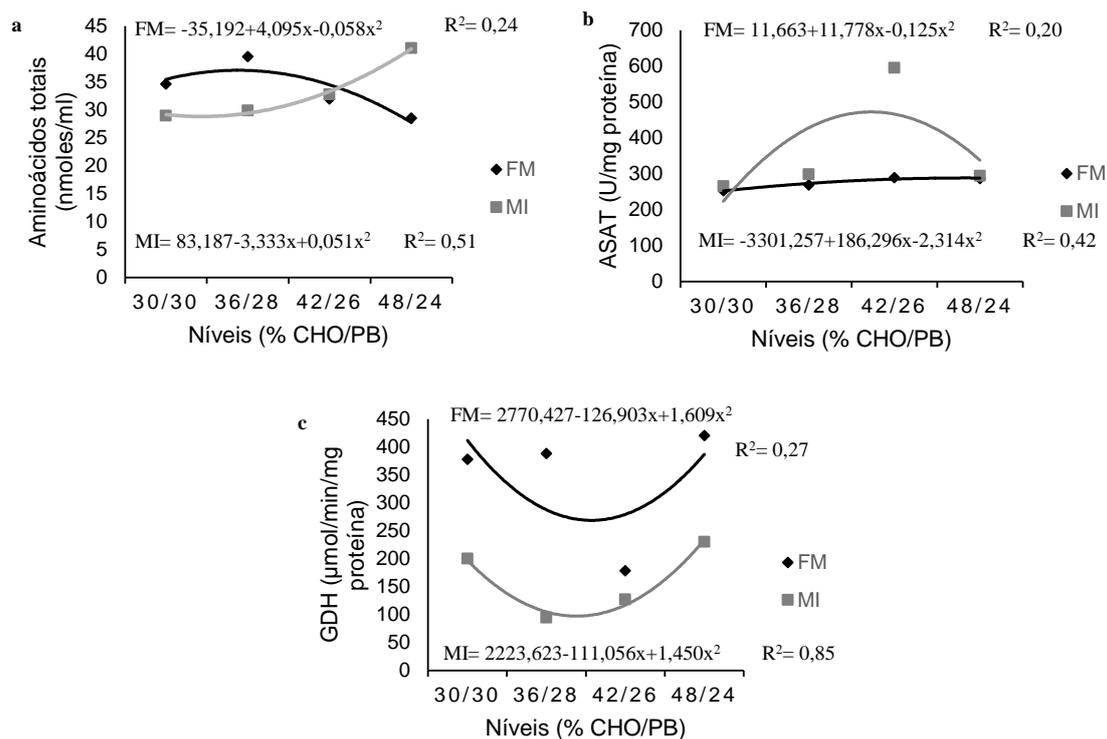


Figura 4. Aminoácidos totais plasmáticos (a); Aspartato aminotransferase hepática (b) e Glutamato desidrogenase (c).

A composição da dieta influenciou na atividade das enzimas digestivas (figura. 5abc). Alguns autores têm descrito alterações da atividade das enzimas digestivas em função da composição da dieta utilizada na alimentação de peixes (Lundsted *et al.*, 2004); Perez-Jiménez *et al.* (2009); Couto *et al.* (2016). Neste estudo a redução na atividade da protease alcalina inespecífica pode estar relacionada a redução dos níveis de proteína da ração. Resultados semelhantes foram descritos por Couto *et al.* (2016) em estudo com *Argyrosomus regius* alimentados com rações com diferentes níveis de inclusão de farelo da gema da semente de carob. A atividade das enzimas digestivas amilase e lipase podem estar relacionadas a composição nutricional da dieta ou ainda a presença de fatores antinutricionais. Os resultados da atividade da enzima amilase é semelhante aos descritos por Gómez-Requeni *et al.* (2012) em estudo com pejerrey (*Odontesthes bonarienses*) onde o resultado da atividade da amilase foi menor quando os animais foram alimentados com dietas contendo menores níveis de carboidrato. Zhou *et al.* (2016) verificou redução na atividade da enzima lipase em *Larmichthys crocea* quando alimentados com dietas com menores níveis de lipídios. Em estudo com três espécies de carpas indianas (Mandal & Ghosh, 2010) verificaram que os taninos afetam

a atividade das enzimas amilase e lipase. O resultado do presente estudo reforça que a composição da dieta influencia diretamente na atividade das enzimas digestivas dos peixes. As repostas enzimáticas do sistema digestivo do tambaqui apresentadas parecem ter adaptação as dietas testadas, no entanto, não apresentam uma relação clara com o desempenho.

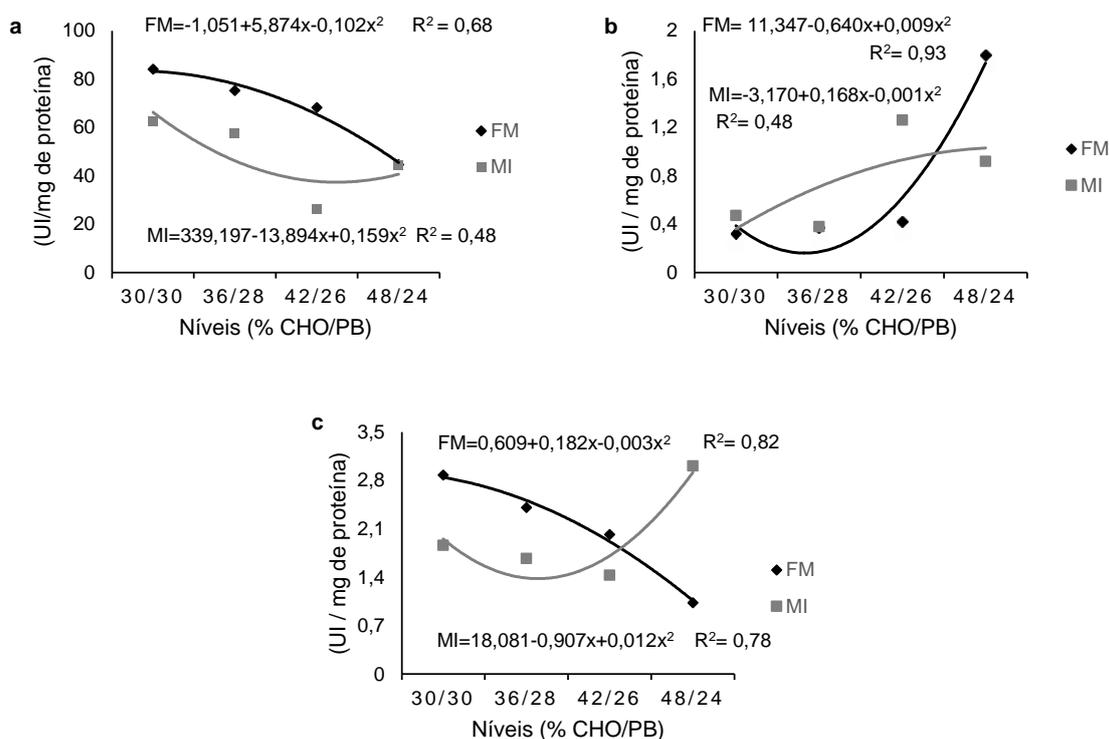


Figura 5. Atividade das enzimas digestivas no intestino de tambaqui alimentados com variações de fontes de carboidratos e concentrações de proteína (a- protease alcalina inespecífica, b - amilase, c - lipase).

Em conclusão as dietas com fubá de milho apresentaram melhores resultados de desempenho. O aumento desta fonte carboidrato na ração proporcionou melhor desempenho até a inclusão de 42 %. As dietas testadas com manga *in natura* como fonte de carboidratos apresentaram prejuízos no desempenho e alterações nos parâmetros hematológicos e metabólicos.

REFERÊNCIAS

- Abdel-Tawwab, M., K.M. Sharafeldin, M.N.M. Mosaad & N.E.M. Ismaiel, 2015. Coffee bean in common carp, *Cyprinus carpio L.* diets: Effect on growth performance, biochemical status, and resistance to waterborne zinc toxicity. *Aquaculture*, 448: 207-213.
- Apun-Molina, J.P., A. Santamaria-Miranda, A. Luna-González, J.C. Ibarra-Gómez, V. Medina-Alcantar & I. Racotta. Growth and metabolic responses of whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* and Nile tilapia *Oreochromis niloticus* in polyculture fed with potential probiotic microorganisms on different schedules. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 43: 435-445.
- Araújo-lima, C & M. GouldingM. 1998. Os frutos do tambaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia. Tefé, AM: Sociedade Civil de Mamirauá, Brasília: CNPq. 186p.
- Baldisserotto, B. 2009. Respiração e circulação. In: Baldisserotto, B. *Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura*. 2ª ed. Santa Maria: Editora UFSM. p. 53-75.
- Beitz, D.C. Metabolismo de proteínas e aminoácidos In: Swenson, M.J & W.O. Reece Dukes – *Fisiologia dos animais domésticos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1996. p.430-446.
- Bernardes-Silva, A.P.F., F.M. Lajolo & B.R Cordenunsi. 2003. Evolução dos teores de amido e açúcares solúveis durante o desenvolvimento e amadurecimento de diferentes cultivares de manga. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 23: 11-120.
- Bezerra, S.K., R.C. Souza, J.F.B. Melo & D.F.B. Campeche. 2014. Crescimento de tambaqui alimentado com diferentes níveis de farinha de manga e proteína na ração. *Arch. Zootec.*, 63: 587-598.
- Bidinotto, P.M., R.H.S. Souza & G. Moraes. 1997. Hepatic glicogen in eight tropical freshwater teleost fish: A procedure for field determinations of microsamples. *Bol. Tec. CEPTA.*, 10: 53-60.

Bombardelli, R.A., F. Meurer & M.A. Syperreck. 2003. Metabolismo proteico em peixes. *Arq. Ciênc. Vet. Zool.*, 7: 69-79.

Butolo, J. E. 2010. Qualidade de ingredientes na alimentação animal. Mundo Agro Editora, Campinas, São Paulo, 430pp.

Castro, C., G. Corraze, A. Perez-Jimenes, L. Larroquet, M. Cluzeaud, S. Panserat & A. Oliva-Teles. 2015. Dietary carbohydrate and lipid source affect cholesterol metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *British. J. Nutr.*, 114: 1143-1156.

Copley, N.G. Alloxan and ninhydrin test. 1941. *Analyst.*, 66: 492-493.

Costa, E.L. 2014. Exigência de lisina e estimativa dos aminoácidos essenciais para tambaqui, *colossoma macropomum* (cuvier, 1818). Dissertação (Mestrado em Biologia de Água Doce e Pesca Interior) - Instituto de Nacional de Pesquisa da Amazônia, Manaus, 60f.

Couto, A., C. Barroso, I. Guerreiro, P. Pousão-Ferreira, E. Matos, H. Peres, A. Oliva-Teles & P. Enes. 2016. Carob seed germmeal in diets for meagre (*Argyrosomus regius*) juveniles: Growth, digestive enzymes, intermediary metabolism, liver and gut histology. *Aquaculture*. 451: 396-404.

Dallagnol, J.M., L.H. Higuchi, M.L.F. Maluf, A. Feiden & W.R. Boscolo. 2014. Avaliação sérica de pacus submetidos a dietas com diferentes níveis de proteína e energia cultivados em tanques-rede. *Acta. Iguá.*, 3: 97-108.

De Almeida, L.C., I.M. Avilez, C.A. Honorato, T.S.F. Hori & G. Moraes. 2011. Growth and metabolic responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed different levels of protein and lipid. *Aquacult. Nutr.*, 17: 253-262.

Deng, J.M., Y. Wang, L.Q. Chen, K.S. Mai, Z. Wang & X. Zhang. 2015. Effects of replacing plant protein with rubber seed meal on growth, nutrient utilization and blood

biochemical parameters of tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*). *Aquacult. Nutr.*, 21: 1-10.

Drabkin, D.L. 1948. The standardization of hemoglobina measurement. *Am. J. Med. Sci.* 215: 210-211.

Farhat & Khan, M.A. 2014. Response of fingerling stinging catfish, *Heteroppneustes fossilis* (Bloch) to varyng levels of dietary L-leucine in relation to growth, feed conversion, protein utilization, leucine retencion and blood parameters. *Aquacult. Nutr.*, 20: 291-302.

Figueiredo-Silva, A.C., S. Saravanan, J.W. Schrama, S. Panserat, S. Kaushik & I. Geurden. 2013. A comparative study of the metabolic response in rainbow trout and Nile tilapia to changes in dietary macronutrient composition. *British. J. Nutr.* 109: 816-826.

Gawlicka, A., B. Parent, H.M. Horn, N. Ross, I. Opstad & J. Torrissen. 2000. Activity of digestive enzymes in yolk-sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossu hippoglossus*): indication of readiness for first feeding. *Aquaculture*, 184: 303-314.

Goldenfarb, P.B., F.P. Bowyer, E. Hall & E. Brosious. 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determinations. *Am. J. Clin. Pathol.*, 56: 35-39.

Gómez-Requeni, P., M.N. Kraemer, L.F. Canosa. 2012. Regulation of somatic growth and gene expression of the GH-IGF system and PRP-PACAP by dietary lipid level in early juveniles of a teleost fish, the pejerrey (*Odontesthes bonariensis*). *J. Comp. Physiol.*, 182 B: 517-530.

Guimarães, I.G., E.C. Miranda & J.G. Araújo. 2014. Coefficients of total tract apparent digestibility of some feedstuffs for tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Anim. Feed. Sci. Technol.*, 188: 150-155.

Hardy, R.W. & F.T. Barrows. 2002. Diet formulation and manufacture. In: J. E. Halver & R.W. Hardy, (ed). Fish nutrition. Academic Press, San Diego, pp 505-600.

Hasegawa, M.Y., J.H. Fontequé, A. Kohayagawa, L.P. Boretti. 2002. Avaliação do perfil eletroforético das proteínas séricas em matrizes pesadas (*Gallus Gallus domesticus*) da linhagem Avian Farm. Rev. Bras. Cienc. Avic., 4: 203-207.

Hidalgo, M.C., E. Urea & A. Sanz. 1999. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities. Aquaculture, 170: 267-283.

Hochaschka, P.W., H.E. Guppy, K.B. Storey & W.C. Hulbert. 1978. Metabolic biochemistry of water vs air-breathing fishes: muscle enzymes and ultra structures. Can. J. Zool., 56: 736-750.

Krogdahl, Å., G.I. Hemre & T.P. Mommsen. 2005. Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. Aquacult. Nutr. 11: 103-122.

Lazzari, R., J. Uczay, R.B. Rodrigues, D. Pianesso, T.D. Adorian, & P.I. Mombach. 2015. Uso do resíduo de frutas em dietas para Piava. Bol. Inst. Pesca., 42: 227-237.

Li, X., X. Zhu, D. Han, Y. Yang, J. Jin, & S. Xie. 2016. Carbohydrate utilization by herbivorous and omnivorous freshwater fish species: a comparative study on gibel carp (*Carassius auratus gibelio*. var CAS III) and grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). Aquacult. Res. 47: 128-139.

Lima, M.R., M.C.M.M. Ludke, F.F.P. Neto, B.W.C. Pinto, T.R. Torres & E.J.O. Souza. 2011. Farelo de resíduo de manga para tilápia do Nilo. Acta. Scient. Anim. Scien. 33: 65-71.

Lundstedt, L.M., J.F.B. Melo & G. Moraes. 2004. Digestive enzymes and metabolic profile of *Pseudoplatystoma corruscans* (Teleostei: Siluriformes) in response to diet composition. Comp. Biochem. Physiol., B 137: 331-339.

Mandal, S & K. Ghosh. 2010. Inhibitory effect of Pistia tannin on digestive enzymes of Indian major carps: an in vitro study. *Fish Physiol. Biochem.*, 36: 1171-1180.

Marques, A., G. Chicaybam, M.T. Araujo, L.R.T. Manhães & A.U.O. Sabaa-srur. 2010. Composição centesimal e de minerais de casca e polpa de manga (*Mangifera indica L.*) Cv. Tommy Atkins. *Rev. Bras. Fruticult.* 32: 1206-1210.

Melo, D.C., D.A.A. Oliveira, M.M. Melo, D.V. Junior, E.A. Teixeira, S.R. Guimarães. 2009. Perfil proteico de tilápia nilótica chitralada (*Oreochromis niloticus*), submetida ao estresse crônico por hipóxia. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 61: 1183-1190.

Melo, J.F.B., M. Tavares-Dias, L.M. Lundestedt & G. Moraes. 2006. Efeito do conteúdo de proteína na dieta sobre os parâmetros hematológicos e metabólicos do bagre sul americano *Rhamdia quelen*. *Ciêñ Agroambiental*, 1: 43-51.

National Research Council (NRC). 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. National Academies Press, Washington D.C., 376 pp.

Natt, M.P & C.A. Herrick. 1952. A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. *Poultry Sci.*, 31: 735-738.

Nelson, D.L., A.L. Lehninger, M.M. Cox. Princípios da bioquímica. São Paulo: Sarvier Editora de Livros Médicos LTDA, 1998.

Nunes, E.S.S., B.A.S. Cavero, M. Pereira-filho & R. Roubach. 2006. Enzimas digestivas exógenas na alimentação de tambaqui. *Pesq. Agropec. Bras.*, 41: 139-143.

Oba-Yoshioka, E.T., R.S. Almeida, S.R.F. Gemaque, A.R.P. Brasiliense, R.S. Silva & R.G.B. Marinho. 2015. Substituição parcial da ração comercial por soja e milho cozidos e sua influência sobre o cultivo de híbrido de tambatinga. *Bio. Amaz.*, 5: 61-67.

Park, J. T & M.J. Johnson. 1949. Submicro determination of glucose. *J. Biol. Chem.*, 249: 149-151.

Pereira-Junior, G., E.M.O. Pereira, M. Pereira-Filho, P.S. Barbosa, E.M. Brasil & E. Shimoda. 2013. Parâmetros hematológicos de juvenis de tambaqui alimentados com rações contendo farinha de crueira de mandioca. *Acta. Biomed. Bras.*, 4: 1-11.

Pereira-Junior, G., M. Pereira-Filho, E.M. Brasil & P.S. Barbosa. 2014. Farinha de folha de leucena (*Leucaena eucocephala* Lam. de wit) como fonte de proteína para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* CURVIER, 1818). *Acta. Amaz.*, 43: 227-234.

Pérez-Jiménez, A., G. Cardenete, A.E. Morales, A. García-Alcázar, E. Abellán, M.C. Hidalgo. 2009. Digestive enzymatic profile of *Dentex dentex* and response to different dietary formulations. *Comp. Biochem. Physiol.*, 154 A: 157-164.

Polakof, S., S. Panserat, & J.L. Soengas. 2012. Glucose metabolism in fish: a review. *J Comp Physiol B.*, 182:1015–1045.

Pretto, A., L.P. Silva, F.R. Goulart, E.K. Battisti, B.B. Loureiro, D.P. Eggers & D. Pianesso. 2014. Farelo de tungue in natura ou detoxificado na alimentação de carpa húngara (*Cyprinus carpio*). *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 66: 1891-1900.

Ranzani-Paiva, M.J. & A.T. Silva-Souza. 2004. Hematologia de peixes brasileiros. In: M.J. Ranzani-Paiva, R.M. Takemoto & M.A.P. Lizama (eds.). *Sanidade de organismos aquáticos*. Editora Varela, São Paulo, pp. 89-120.

Ren, M., H.M. Habte-Tsion, J. Xie, B. Liu, Q. Zhou, X. Ge, L. Pan & R. Chen. 2015. Effects of dietary carbohydrate source on growth performance, diet digestibility and liver glucose enzyme activity in blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala*. *Aquaculture*, 438: 75-81.

Ribeiro, P.A.P., L.S. Costa, R.T. Pereira, L.D.S. Murgas & P.V. Rosa. 2013. Parâmetros metabólicos de pacus alimentados com diferentes fontes de óleo. *Pesq. Agropec. Bras.*, 48: 1035-1042.

Santos, E.L., M.C.M. Ludke, J.M. Barbosa, C.B.V. Rabello, J.V. Ludke. 2009. Digestibilidade aparente do farelo de coco e resíduo de goiaba pela tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*). Caatinga, 22: 175-180.

SAS Institute. SAS/STAT: guide for personal computer; version 9.1. Cary, p.235, 2003.

Soltanzadeh, S., A.E. Fereidouni, H. Ouraji & K.J. Khalili. 2016. Growth performance, body composition, hematological, and serum biochemical responses of beluga (*Huso huso*) juveniles to different dietary inclusion levels of faba bean (*Vicia faba*) meal. Aquacult. Int., 24: 395-413.

Souza, S.A., R.C. Souza, D.F.B. Campeche, R.M.L. Campos & J.F.B. Melo. 2014. Relação proteína:carboidrato no desempenho e no metabolismo de híbridos de *Pseudoplatystoma fasciatum* (fêmea) X *Leiarius marmoratus* (macho). Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., 66: 879-886.

Souza, R.C., J.F.B. Melo, R.M. Nogueira Filho, D.F.B. Campeche & R.A.C.R. Figueiredo. 2013. Influência da farinha de manga no crescimento e composição corporal da tilápia do nilo. Arch. Zootec. 62: 217-225.

Tan, Q., F. Wang, S. Xie, X. Zhu, W. Lei & J. Shen. 2009. Effect of high dietary starch levels on the growth performance, blood chemistry and body composition of gibel carp (*Carassius auratus var. gibelio*). Aquacult. Res., 40: 1011-1018.

Tian, L.X., Y.J. Liu, H.J. Yang, G.Y. Liang & J. Niu. 2012. Effects of different dietary wheat starch levels on growth, feed efficiency and digestibility in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). Aquac. Int., 20: 283-293.

Tu, Y., S. Xie, D. Han, Y. Yang, J. Jin, H. Liu & X. Zhu. 2015. Growth performance, digestive enzyme, transaminase and GH-IGF-I axis gene responsiveness to different dietary protein levels in broodstock allogynetic gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) CAS III. Aquaculture, 446: 290-297.

Urbinati, E.C & F.D. Gonçalves. 2005. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). In: Baldisseroto, B.; 545 Gomes, L.C. (Ed.). Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria. pp. 225-256.

Viegas, I., J. Rito, I. Jarak, S. Leston, A. Caballero-Solares, I. Metón, M.A. Pardal, I.V. Baanantes & J.G. Jones. 2015. Contribution of dietary starch to hepatic and systemic carbohydrate fluxes in European seabass (*Dicentrarchus labrax L.*). *British J. Nutr.*, 113: 1345-1354.

Xavier, T.O., M. Michelato, L.V.O. Vidal, V.R.B. Furuya & W.M. Furuya, W.M. 2014. Apparent protein and energy digestibility and amino acid availability of commercial meat and bone meal for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *J. World Aquacult. Soc.*, 45: 439-446.

Walter, H.E. 1984. Proteinases: Methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrates. In Bergmeyer, H.U.(Ed.). *Methods of enzymatic Analysis*, Verlag Chemie, Weinheim., 5: 270- 277.

Wintrobe, M.M. 1934. Variations on the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. *Folia Haematol.*, 51: 32-49.

Yuji-sado, R., A.J.A. Bicudo & J.E.P. Cyrino. 2014. Hematology of juvenile pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) fed graded levels of mannan oligosaccharides (MOS). *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 42: 30-39.

Zhou, P., M. Wang, F. Xie, D.F. Deng & K. Zhou. 2016. Effects of dietary carbohydrate to lipid ratios on growth performance, digestive enzyme and hepatic carbohydrate metabolic enzyme activities of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*). *Aquaculture*, 452: 45-51.