

**INFLUÊNCIA DO AMIDO DE MILHO NO
METABOLISMO ENERGÉTICO DE SURUBIM**

Pseudoplatystoma spp

DANIEL OKAMURA

2009

DANIEL OKAMURA

**INFLUÊNCIA DO AMIDO DE MILHO NO METABOLISMO
ENERGÉTICO DE SURUBIM *Pseudoplatystoma spp***

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Monogástrico, para a obtenção do título de Doutor.

Orientadora
Profa. Dra. Priscila Vieira e Rosa

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2009

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Okamura, Daniel.

Influência do amido de milho no metabolismo energético de surubim *Pseudoplatystoma spp* / Daniel Okamura. – Lavras : UFLA, 2009.

83 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.

Orientador: Priscila Vieira e Rosa.

Bibliografia.

1. Carboidrato. 2. Híbrido. 3. Desempenho. 4. Carnívoro. 5. Peixe. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 639.3752

DANIEL OKAMURA

**INFLUÊNCIA DO AMIDO DE MILHO NO METABOLISMO
ENERGÉTICO DE SURUBIM *Pseudoplatystoma spp***

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Monogástrico, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 21 de outubro de 2009

Prof. Dr. Luis David Solis Murgas	UFLA
Profª. Dra. Paula Adriane Perez Ribeiro	UNIFENAS
Prof. Dr. Rilke Tadeu Fonseca de Freitas	UFLA
Prof. Dra. Maria Emília de Sousa Gomes Pimenta	UFLA

Profª. Dra. Priscila Vieira e Rosa
UFLA
(Orientadora)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

“A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará ao seu tamanho original”

(Albert Einstein)

*A minha família: Márcia, Yutaka, Patrícia e
Ana Rosa, pelo apoio e compreensão,
DEDICO.*

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Zootecnia, pelo suporte e pela oportunidade concedida.

À professora Priscila Viera e Rosa, pela amizade, orientação e confiança, minha mais profunda gratidão.

Aos meus coorientadores, professores, Luis David Solis Murgas e Rilke Tadeu Fonseca de Freitas, pela amizade e incentivo.

Aos funcionários Eleci Pereira e José Roberto dos Santos, pelo companheirismo.

Aos pesquisadores do Núcleo de Estudo em Aquacultura (NAQUA), em especial ao colega Felipe Guedes de Araújo pela valiosa ajuda durante o projeto, nos momentos de maior dificuldade e pela amizade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pelo suporte financeiro.

Agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a minha formação e para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	I
LISTA DE TABELAS.....	III
LISTA DE ABREVIATURAS.....	IV
RESUMO.....	V
ABSTRACT	VI
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVO	3
2.1 Objetivo Geral.....	3
2.2 Objetivos Específicos	3
3 REFERENCIAL TEÓRICO	4
3.1 Surubim (<i>Pseudoplatystoma spp</i>)	4
3.2 Carboidrato	7
3.3 Digestão e Absorção de Carboidratos em Peixes	12
3.4 Metabolismo Energético em Peixes.....	18
4 MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1 Delineamento Experimental	26
4.2 Local.....	26
4.3 Material Biológico	27
4.4 Rações Experimentais.....	28
4.5 Protocolo Alimentar.....	30
4.6 Coletas Experimentais	30
4.7 Variáveis Analisadas.....	31
4.8 Metodologia Analítica	32
4.8.1 Desempenho.....	32
4.8.2 Glicose, Proteína Totais E Triglicérides	32
4.8.3 Atividade Específica Das Enzimas	34

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
6 CONCLUSÃO	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
ANEXOS	65

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Ilustração do <i>Pseudoplatystoma corruscans</i> (A), <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> (B) e do híbrido ♂ <i>Pseudoplatystoma corruscans</i> x ♀ <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i> (C).....	6
FIGURA 2	Ilustração do grupo carbonila e dos centros assimétricos da L e D-glicose e da L e D-frutose.....	7
FIGURA 3	Relações estereoquímicas das D-aldoses com três a seis átomos de carbono.....	8
FIGURA 4	Relações estereoquímicas das D-cetoses com três a seis átomos de carbono.....	9
FIGURA 5	Ciclização da D-Glicose com formação de duas estruturas cíclicas de glicopiranosose.....	10
FIGURA 6	Ilustração dos diferentes tipos de dissacarídeos.....	11
FIGURA 7	Representação da atividade e dos produtos das diferentes dissacaridases, envolvidas na digestão do amido.....	13
FIGURA 8	Ilustração da síntese de ácido graxo e triglicerídeos, a partir da proteína e da glicose.....	20
FIGURA 9	Ilustração das caixas de fibra de vidro (A), do filtro ultravioleta (B), do controlador de temperatura (C) e do filtro de areia (D).....	27
FIGURA 10	Ilustração do juvenil híbrido de surubim (♂ <i>Pseudoplatystoma corruscans</i> x ♀ <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>) utilizado no experimento.....	28
FIGURA 11	Ilustração do manejo de anestesia e pulsão cardíaca dos juvenis de surubim.....	31

FIGURA 12	Comprimento total (cm) dos híbridos de surubim (♂ <i>Pseudoplatystoma corruscans</i> x ♀ <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>) após 15, 30, 45 e 60 dias de alimentação com dietas contendo 5, 10, 15 e 20% de amido de milho (n = 6 e CV = 3,6; 3,9; 4,8 e 2,6 para 15, 30, 45 e 60 dias, respectivamente).....	35
FIGURA 13	eso total (g.) dos híbridos de surubim ((♂ <i>Pseudoplatystoma corruscans</i> x ♀ <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>) após 15, 30, 45 e 60 dias de alimentação com dietas contendo 5, 10, 15 e 20% de amido de milho (n = 6 e CV = 8,8; 11,2; 16,7 e 7,9 para 15, 30, 45 e 60 dias, respectivamente).....	36
FIGURA 14	Índice hepatossomático (100 x peso do fígado/peso total) dos híbridos de surubim (♂ <i>Pseudoplatystoma corruscans</i> x ♀ <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>) após 15, 30, 45 e 60 dias de alimentação com dietas contendo 5, 10, 15 e 20% de amido de milho (n = 6 e CV = 13,7; 14,2; 27,1 e 15,8 para 15, 30, 45 e 60 dias, respectivamente).....	44
FIGURA 15	Atividade da glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) e da enzima málica analisadas no tecido hepático, valores expressos em U.g ⁻¹ de proteína.....	45

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Distribuição das α -amilases no fígado, bile e no intestino de peixes.....	13
TABELA 2	Percentual triglicérides (TAG), ácido graxo livre (AGL), diacilglicerol (DAG) e dos fosfolipídios (PL), no músculo branco e nas vísceras.....	19
TABELA 3	Teste de tolerância à glicose, realizado em diferentes espécies de peixes. Incorporação da glicose no animal: O – oral; IP – intraperitoneal e IV – intravenoso. Tempo mínimo da hiperglicemia: reflete o período em horas que o peixe necessitou para restabelecer a glicemia.....	22
TABELA 4	Composição das rações experimentais.....	29
TABELA 5	Conversão alimentar (CA), eficiência protéica (EP), eficiência energética (EE), retenção protéica muscular (RPM), ganho de peso (GP), a taxa de crescimento total (TCT), ganho de peso específico (GPE) e taxa de crescimento específico (TCE) dos híbridos de surubim (σ <i>Pseudoplatystoma corruscans</i> x ϕ <i>Pseudoplatystoma fasciatum</i>) após 60 dias de alimentação com dietas contendo 5, 10, 15 e 20% de amido de milho.....	37
TABELA 6	Concentração de glicose, triglicéridios e proteína analisados no músculo, plasma e fígado de híbridos de surubim, alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de amido de milho.....	40

LISTA DE ABREVIATURAS

IHS	Índice hepatossomático
CA	Conversão alimentar
EP	Eficiência protéica
EE	Eficiência energética
RPM	Retenção protéica muscular
GP	Ganho de peso
GPE	Ganho de peso específico
TCT	Taxa de crescimento total
TCE	Taxa de crescimento específico
HK	Hexoquinase
EM	Enzima málica
G6PD	Glicose-6-fosfato desidrogenase

RESUMO

OKAMURA, Daniel. **Influência do amido de milho no metabolismo energético de surubim *Pseudoplatystoma spp.*** 2009. 83p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG¹.

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar o efeito do amido de milho no desempenho e no metabolismo energético de juvenis híbridos de surubim (♂ *Pseudoplatystoma corruscans* x ♀ *Pseudoplatystoma fasciatum*). Foi utilizado um delineamento experimental em blocos casualizados, onde foram testadas quatro diferentes concentrações de amido de milho (5; 10; 15 e 20%), em seis repetições. Os juvenis com $25,1 \pm 2,64$ cm de comprimento total e $104,9 \pm 16,45$ g de peso inicial foram alimentados durante 60 dias com as diferentes dietas. Os parâmetros de conversão alimentar (CA), eficiência protéica (EP), eficiência energética (EE), retenção protéica muscular (RPM), ganho de peso (GP), taxa de crescimento total (TCT) ganho de peso específico (GPE) e taxa de crescimento específico (TCE) foram utilizados para avaliar o desempenho. Para caracterizar o metabolismo energético dos juvenis foram determinadas as concentrações de proteína, glicose e triglicerídios no plasma, músculo e fígado, assim como a atividade hepática da enzima málica (EM) e da glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD). O índice hepatossomático (IHS) também foi mensurado. Não foi observada diferença significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos em nenhum dos parâmetros de desempenho avaliados (CA, EP, EE, RPM, GP, TCT, GPE e TCE). Também não foi observada diferença significativa ($P > 0,05$) para os parâmetros avaliados no músculo, assim como para a EM e o IHS. Entretanto, o triglicerídio hepático foi elevado ($P < 0,05$) no tratamento contendo 5% de amido de milho, assim como a glicemia, no tratamento contendo 20% de amido de milho e a glicose hepática, nos tratamentos contendo 15 e 20% de amido de milho. Em geral, foi possível concluir que as concentrações de até 20% de amido de milho na dieta não influenciaram os parâmetros de desempenho avaliados no presente trabalho. Porém, a concentração de 20% de amido de milho proporcionou uma hiperglicemia persistente nos juvenis, o que não foi observado nos animais alimentados com a dieta contendo 15% de amido de milho, sendo esta uma provável concentração ideal do ponto de vista metabólico para juvenis híbridos de surubim.

¹ Orientador: Priscila Vieira e Rosa.

ABSTRACT

OKAMURA, Daniel. **Influence of the starch of corn in the energy metabolism of surubim *Pseudoplatystoma spp.*** 2009. 83p. Thesis (Doctor in Animal Science) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG².

Was the general objective of this work to evaluate the effect of the corn starch in the performance and in the energy metabolism of juvenile surubim hybrid (♂ *Pseudoplatystoma corruscans* x ♀ *Pseudoplatystoma fasciatum*). An experimental design was used in blocks casualizados, where four different concentrations of corn starch were tested (5; 10; 15 and 20%), in six repetitions. The juvenile with 25,1 + 2,64 cm of total length and 104,9 + 16,45 g of initial weight were fed for 60 days with the different diets. The parameters of alimentary conversion (AC), protein efficiency (PE), energy efficiency (EE), retention muscular protein (RMP), weight gain (WG), rate of total growth (RTG), specific weight gain (EWG) and rate of specific growth (TSG) they were used to evaluate the performance. The energy metabolism of the juvenile be characterize by evaluation of the protein concentrations, glucose and triglycerides in the plasma, muscle and liver, as well as the hepatic activity of the malic enzyme (ME) and of the glucose-6-phosphate desidrogenase (G6PD). The hepatossomatic index (HSI) it was also measured. Significant difference was not observed ($P > 0,05$) among the treatments in none of the acting parameters evaluated (AC, PE, EE, RMP, WG, RTG, EWG and TSG). significant difference was not Also observed ($P > 0,05$) for the appraised parameters in the muscle, as well as for the ME and HSI. However, the hepatic triglyceride was high ($P < 0,05$) in the treatment containing 5% of corn starch, as well as the glucose, in the treatment containing 20% of corn starch and the hepatic glucose, in the treatments containing 15 and 20% of corn starch. In general, it was possible to end that the concentrations of up to 20% of corn starch in the diet did not influence the acting parameters evaluated in the present work. However, the concentration of 20% of corn starch provided a persistent hyperglycemia in the juvenile, what was not observed in the animals fed with the diet containing 15% of corn starch, being this probable ideal concentration of the metabolic point of view for juvenile surubim hybrid.

² Adviser: Priscila Vieira e Rosa

1 INTRODUÇÃO

A piscicultura nacional vem sofrendo mudanças a cada ano. Entretanto, algumas das espécies de maior produção no Brasil são as exóticas, como, por exemplo, a tilápia-nilótica (*Oreochromis niloticus*). Atualmente, a piscicultura brasileira é deficiente em informações e técnicas referentes ao cultivo intensivo de espécies nativas, o que dificulta o desenvolvimento da produção em larga escala destas espécies. O principal agravante derivado da inabilidade do cultivo destas espécies é a baixa sobrevivência dos peixes em conjunto com o alto custo da produção. Entretanto, novos conceitos estão sendo aplicados à piscicultura nacional, principalmente quanto ao cultivo de espécies de peixes carnívoros.

O surubim é considerado um dos peixes mais nobres entre os teleósteos. O filé e as postas de surubim apresentam alta demanda no mercado nacional e internacional. Esse gênero é representado por oito diferentes espécies, sendo as espécies *Pseudoplatystoma corruscans* e o *Pseudoplatystoma fasciatum* as duas mais procuradas para a produção. São encontrados em quase todo o território brasileiro, sendo também muito apreciados para a pesca esportiva, devido ao seu grande porte.

Atualmente, o híbrido do surubim formado pelo cruzamento entre o macho de *Pseudoplatystoma corruscans* (vulgarmente conhecido como Pintado) com a fêmea do *Pseudoplatystoma fasciatum* (vulgarmente conhecido como Cachara) vem sendo muito divulgado para a produção. Apesar de demonstrar características semelhantes às de seus ancestrais, esse híbrido apresenta melhores índices zootécnicos, como melhor sobrevivência e ganho de peso, tornando sua produção intensiva mais viável economicamente, quando comparada à produção do Pintado e do Cachara.

Embora muito apreciado e provido de melhores índices zootécnicos, a produção do híbrido do surubim ainda é limitada pelo alto custo. A dieta destes

animais pode representar a maior fração do custo da produção. O alto preço das rações é atribuído a dois fatores, o primeiro é a demanda elevada de proteína e energia exigidos pela espécie e o segundo é referente à capacidade limitada desta espécie em aproveitar nutrientes de baixo custo, como os carboidratos.

A substituição da energia proveniente do óleo pela energia proveniente dos carboidratos pode reduzir o preço das rações destes animais. Entretanto, peixes carnívoros como o surubim demonstram certa intolerância à glicose, tendo seu desempenho prejudicado, quando alimentados com dietas contendo altas concentrações de carboidrato. Diversos estudos mais atuais demonstram que o surubim, ao contrário dos outros carnívoros, suporta relativamente bem a incorporação de carboidrato na dieta. Esta característica gera grande expectativa na produção nacional por possibilitar a utilização de um alimento de fácil acesso e baixo custo.

Para viabilizar a utilização desses alimentos, há a necessidade de maior compreensão do metabolismo energético destes peixes, tendo o seu potencial e suas limitações melhor estimados. A utilização de carboidrato na dieta de peixes carnívoros de região tropical pode gerar uma grande economia na produção, proporcionando um estímulo maior no cultivo desta espécie. Portanto, é fundamental a caracterização das mudanças no metabolismo energético destas espécies, quando alimentadas com altos níveis de carboidratos na ração.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência no metabolismo energético de diferentes níveis de amido de milho incorporados à dieta de juvenis híbridos de surubim (σ *Pseudoplatystoma corruscans* x ♀ *Pseudoplatystoma fasciatum*), pela determinação do desempenho e pelas concentrações plasmáticas, musculares e hepáticas de proteína, glicose e triglicerídeos e da atividade hepática da enzima málica e da glicose-6-fosfato desidrogenase.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a influência do amido de milho no índice hepatossomático, na conversão alimentar, na eficiência protéica, na eficiência energética, na retenção protéica muscular, no ganho de peso, no ganho de peso específico, na taxa de crescimento total e na taxa de crescimento específico.
- Avaliar a capacidade dos juvenis em metabolizar a glicose proveniente da dieta, pela determinação das concentrações plasmáticas, musculares e hepáticas de proteína, glicose e triglicerídeos.
- Avaliar a alteração na lipogênese hepática dos juvenis alimentados com diferentes proporções de óleos e amido de milho, pela atividade hepática da enzima málica e da glicose-6-fosfato desidrogenase.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Surubim (*Pseudoplatystoma spp*)

O surubim é um peixe da ordem siluriforme e gênero *Pseudoplatystoma spp.*, que apresenta hábito alimentar carnívoro, predominantemente piscívoro, que habita as zonas bênticas dos rios (Cestarolli, 2005; Cal, 2006). As características externas da ordem Siluriforme são a ausência de escamas, pele espessa, sendo popularmente denominados de “peixes de couro”. Geralmente, apresentam um par de barbilhões maxilares e dois pares mentonianos, além de um acúleo forte e pungente no primeiro raio da nadadeira dorsal e das nadadeiras peitorais. O aspecto morfológico geral das espécies do gênero *Pseudoplatystoma spp* é o corpo alongado, com a cabeça deprimida e mandíbula mais curta que a maxila superior e dentes viliformes no palato (Coelho, 2005).

Considerado um dos peixes mais nobres entre os teleósteos brasileiros, o surubim é um Siluriforme carnívoro, da família Pimelodidae, proveniente da América do Sul, podendo atingir mais de 120 Kg (Cestarolli, 2005; Cal, 2006). É também conhecido como bagre neotropical e comumente encontrado nas bacias hidrográficas do Prata e do São Francisco (Britski et al., 1999).

O surubim apresenta grande demanda do mercado consumidor brasileiro devido à excelente qualidade do filé. Este gênero possui um considerável potencial para a aquicultura nacional (Beelen et al., 2004). É muito apreciado para a pesca esportiva devido ao seu grande porte, além de ser muito usado como peixe ornamental. Possui ainda bons índices zootécnicos, o que eleva o seu potencial produtivo (Crepaldi et al., 2006). A soma desses fatores tem contribuído para o decréscimo da população natural (Cal, 2006).

A produção dessa espécie em cativeiro tem sido alcançada mediante custos elevados. Entretanto, o interesse na produção do surubim vem aumentando há alguns anos após melhorias nas técnicas de reprodução e

produção, que ocorreu de forma comercial somente em 1992. Hoje a produção deste gênero em todo território nacional é responsável pela exportação para vários países europeus, para os Estados Unidos e Japão (Theodoro, 2004). Segundo Kubitz e colaboradores (1998), o surubim é, sem dúvida, o gênero de peixes de água doce de maior potencial em todo o Brasil.

No Brasil, há oito espécies do gênero *Pseudoplatystoma spp*, sendo a *P. trigrinum*, *P. corruscans* e a *P. fasciatum* as mais comuns no território nacional (Godinho, 2007). O híbrido de surubim (♂ *Pseudoplatystoma corruscans* x ♀ *Pseudoplatystoma fasciatum*) apresenta características semelhantes às de todos os exemplares do gênero *Pseudoplatystoma spp* e vem ganhando espaço na aquicultura nacional devido a sua melhor taxa de sobrevivência e ganho de peso. A grande semelhança de ambas as espécies -- *P. corruscans* e a *P. Fasciatum* -- são conhecidas por produzirem híbridos férteis (Bignotto et al., 2009).

As maiores dificuldades da produção do surubim são concentradas em duas fases do cultivo: na larvicultura e na fase juvenil, devido ao condicionamento alimentar (Cestarolli, 2005). A larvicultura do surubim é realizada em ambientes escuros, objetivando manter certa semelhança com as regiões mais profundas dos rios, além de favorecer seu hábito noturno. Tal procedimento não está fundamentado em informações técnicas, resultantes de experimentação apropriada, mas em rotinas que não consideram as possíveis implicações da ausência de luz no desenvolvimento posterior dos animais (Cestarolli, 2005). Esse gênero ganha significativamente mais peso em temperaturas próximas a 27 °C. Temperaturas superiores a 30 °C e inferiores a 24 °C parecem causar estresse e altas manifestações de patógenos (Lima, 2003). As características produtivas são muito semelhantes entre as duas espécies, *P. corruscans* e a *P. fasciatum*, e seu híbrido (Figura 1C).

O *P. corruscans*, também chamado de surubim, é um peixe de grande porte que apresenta manchas escuras arredondadas pelo corpo (Figura 1A). O *P.*

fasciatum, também conhecido como cachara, possui grande porte, cor acinzentada brilhante e corpo com listras verticais (freqüentemente 16), que podem estar bordejadas dorsalmente à frente e atrás, além de pequenas listras com as nadadeiras sempre apresentando pontos negros (Faustino et al., 2007) (Figura 1B).



FIGURA 1 Ilustração do *Pseudoplatystoma corruscans* (A), *Pseudoplatystoma fasciatum* (B) e do híbrido ♂ *Pseudoplatystoma corruscans* x ♀ *Pseudoplatystoma fasciatum* (C).

Para o maior desenvolvimento da produção nacional do surubim se tornar viável, a produção deve ser economicamente mais rentável, quando comparada a outras espécies produzidas. Entretanto, informações detalhadas sobre este gênero são extremamente escassas, sendo ainda um desafio o

aprimoramento das técnicas de reprodução, alevinagem, nutrição e manejo, com o objetivo de reduzir os custos de produção (Theodoro, 2004).

3.2 Carboidrato

A unidade mais simples dos carboidratos são os monossacarídeos, estes são constituídos por uma unidade de poliidroxialdeído ou poliidroxicetona, podendo ser formadas por três a nove átomos de carbono. Os monossacarídeos são classificados pelo grupo carbonila e pelo número de carbonos presentes em sua estrutura, enquanto, a nomenclatura é atribuída às variações dos grupos de assimetria (Corrêa et al., 2006). O centro de assimetria mais afastado do grupo carbonila proporciona a configuração L ou D dos monossacarídeos (Figura 2). Estas variações possíveis na estrutura molecular dos carboidratos podem gerar 46 diferentes tipos de monossacarídeos (Motta, 2005).

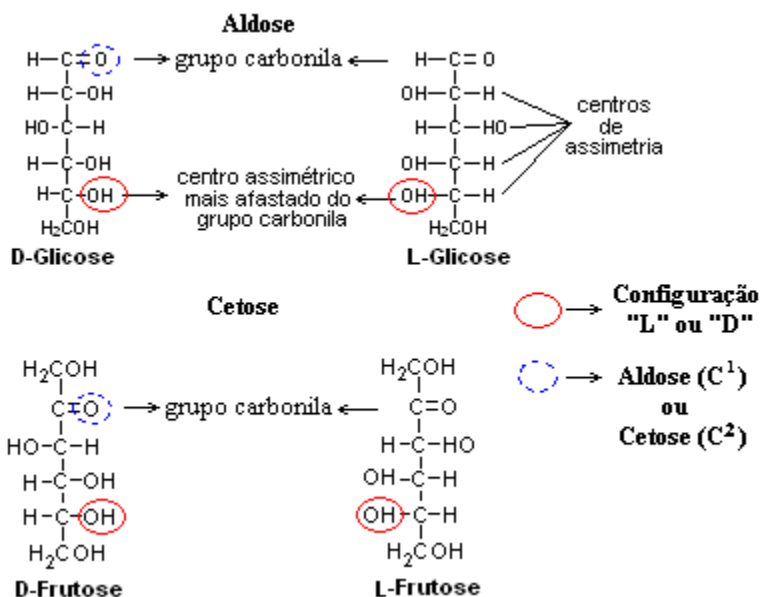


FIGURA 2 Ilustração do grupo carbonila e dos centros assimétricos da L e D-glicose e da L e D-frutose.

Aplicando esse raciocínio, podemos afirmar que as formas estereoisômeras possíveis de um monossacarídeo são iguais a 2^n , onde “n” é o número de centro de assimetria. Dessa forma, as aldoses compostas por seis carbonos apresentam 16 formas estereoisômeras ($2^4=16$), sendo oito da série D e oito da série L (Figura 3).

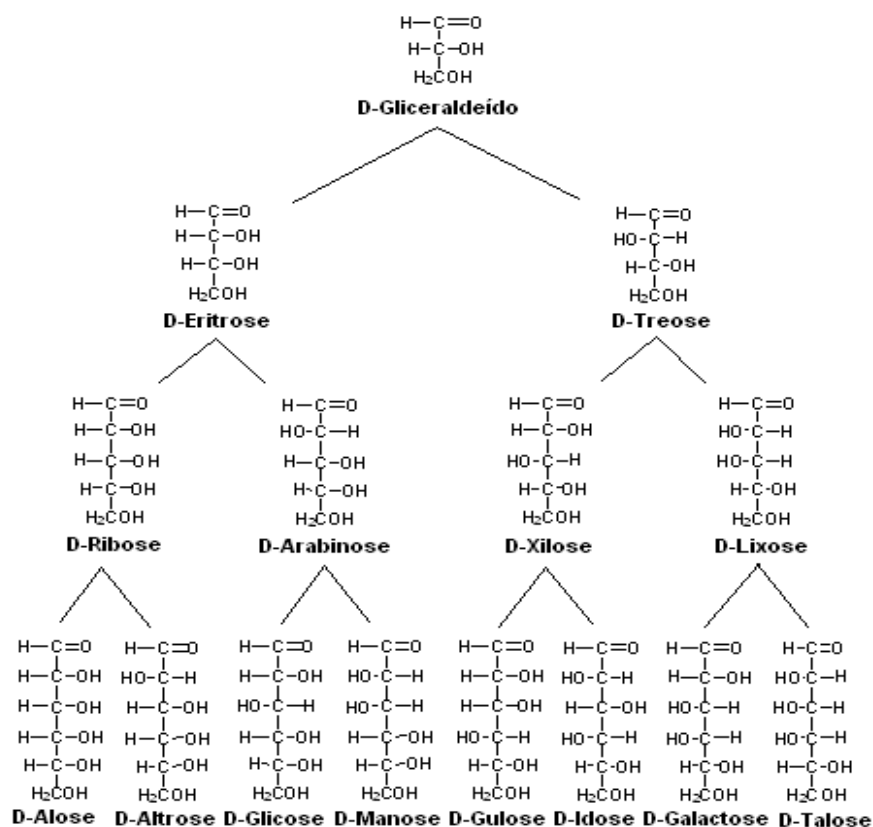


FIGURA 3 Relações estereoquímicas das D-aldoses com três a seis átomos de carbono (Motta, 2005).

As cetoses compostas por seis carbonos apresentam 8 formas estereoisômeras ($2^3=8$), sendo quatro da série D e quatro da série L (Figura 4).

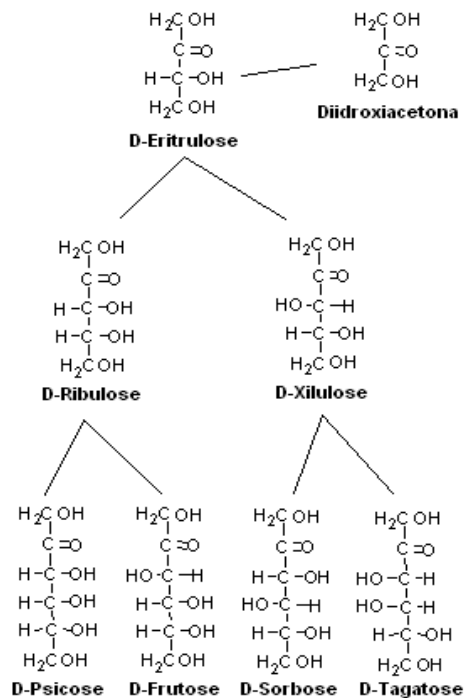


FIGURA 4 Relações estereoquímicas das D-cetoses com três a seis átomos de carbono (Motta, 2005).

A estrutura linear dos monossacarídeos são estruturas muito instáveis, menos de 1% dos monossacarídeos composto por cinco ou seis carbonos são encontrados como estruturas de cadeia aberta. A grande parte dessas moléculas sofre uma ciclização intramolecular, formando anéis pela reação do grupo alcoólico com o grupo carbonila, sendo essa uma forma mais estável (Figura 5).

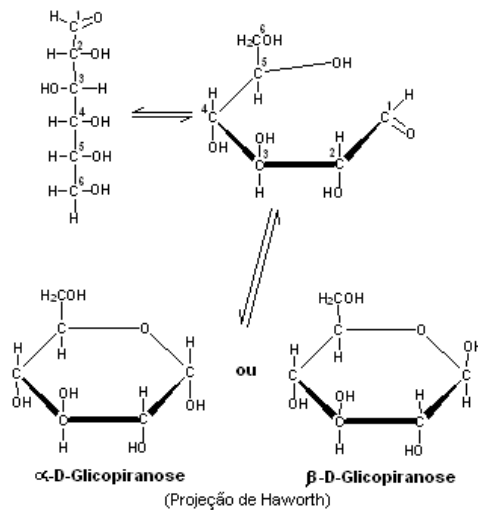


FIGURA 5 Ciclização da D-Glicose com formação de duas estruturas cíclicas de glicopiranoose (Motta, 2005).

Os dissacarídeos são classificados conforme os monossacarídeos que o compõem e pelo tipo de ligação realizada, sendo denominados de maltose, isomaltose, sacarose e lactose. A maltose e isomaltose são constituídas por dois resíduos de glicose ligados por uma ligação glicosídica alfa ($1 \rightarrow 4$) e alfa ($1 \rightarrow 6$), respectivamente. A sacarose é formada pela união de uma α -D-glicose e uma β -D-frutose pela ligação α, β ($1 \rightarrow 2$). A lactose é encontrada apenas no leite, é formada por um resíduo de β -D-galactose e um de D-glicose por uma ligação β ($1 \rightarrow 4$). Os tipos de monossacarídeos e a interação entre os carbonos constituintes de cada um definem a estabilidade e a conformação dos dissacarídeos (figura 6) (Motta, 2005).

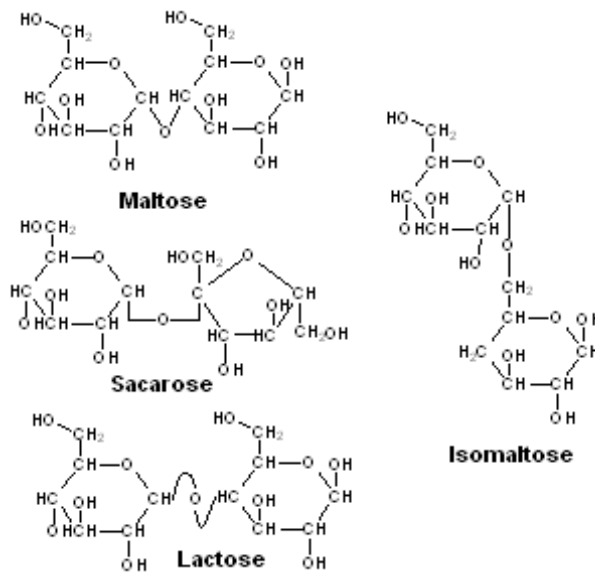


FIGURA 6 Ilustração dos diferentes tipos de dissacarídeos (Motta, 2005).

Os polissacarídeos são formados por diversas moléculas de monossacarídeos, sendo o amido um polissacarídeo mais utilizado na nutrição animal (Rawles & Lochmann, 2003). Esta é a principal forma de reserva energética de plantas, sendo formado por amilose e amilopectina. A amilose é composta por mais de 200 unidades de glicose, unidas por ligação glicosídica do tipo α 1 \rightarrow 4, apresentando uma configuração linear. A amilopectina é composta por grupos de 30 unidades de glicose, unidas por ligação glicosídica do tipo α 1 \rightarrow 6, apresentando uma configuração ramificada (Martins, 2009).

O amido de milho é um dos principais polissacarídeos digestíveis utilizados nas rações comerciais de peixes. Sua composição pode variar entre 20% a 30% de amilose e 70% a 80% de amilopectina (Ramirez, 2005). Possui uma considerável importância como ingrediente da dieta, pois são fontes de energia de baixo custo. Seu aproveitamento pelo animal parece estar relacionado

ao sistema digestório e à capacidade da espécie em metabolizar a glicose (Camilo, 2007).

3.3 Digestão e absorção de carboidratos em peixes

A digestão é o processo de transformação dos constituintes presentes no alimento, em subunidades adequadas aos mecanismos de transporte do trato digestório. A quebra inicial dos carboidratos em peixes ocorre pela ação das carbohidrases (α -amilase), que exercem atuação nos carboidratos de estrutura complexa. Essas são enzimas responsáveis pela formação de estruturas simples de carboidrato. Após a catálise das moléculas complexas de carboidrato, iniciam a ação das oligossacaridasas e dissacaridasas, proporcionando a formação de monossacarídeos possíveis de serem absorvidos pelos enterócitos. Este processo depende da eficiência do complexo enzimático do peixe em hidrolisar moléculas de carboidrato.

Ao contrário da maioria dos animais terrestres, os peixes não utilizam a cavidade bucofaringeana para a pré-digestão enzimática. Conseqüentemente, a atividade da α -amilase não é caracterizada na cavidade bucofaringeana (Rotta, 2003), sendo evidenciada apenas no epitélio mucoso do intestino proximal, diminuindo à medida que avançam no trajeto em direção ao reto (Seixas Filho, 2004). Esta característica retarda a quebra das estruturas complexas de carboidrato, restringindo-se esta apenas à região intestinal.

A α -amilase ($\alpha(1\rightarrow4)$ -D-glicose dlicosehidrolase, E.C.3.2.1.1) presente no intestino, hidrolisa as ligações $\alpha(1\rightarrow4)$ do amido e glicogênio, liberando os oligossacarídeos (Krogdahl et al., 2005). Em peixes, esta enzima está presente no pâncreas e por todo o intestino (Alarcón et al., 2001; Fernandez et al., 2001) e curiosamente no fígado e na bile de algumas espécies, provavelmente devido à anatomia do hepatopâncreas (Tabela 1).

TABELA 1 Distribuição das α -amilases no fígado, bile e no intestino de peixes.

	U mg/proteína		
	Bile	Fígado	Intestino
<i>Cyprinus carpio</i>	4,79	108,0 ± 7,3	72,5 ± 8,5
<i>Carassius auratus</i>	1,61	23,8 ± 4,2	75,5 ± 15,8
<i>Tinca tinca</i>	n.a	13,1 ± 1,3	19,4 ± 2,7
<i>Sparus aurata</i>	0,84	2,7 ± 0,4	1,75 ± 0,28
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	0,0	0,0	1,30 ± 0,07
<i>Anguilla anguilla</i>	0,06	0,76 ± 0,08	0,46 ± 0,05

(Hidalgo et al., 1999)

Os principais oligossacarídeos produtos da ação da α -amilase são a dextrina limite (ligação α (1 \rightarrow 6) e α (1 \rightarrow 4)), isomaltose (ligação α (1 \rightarrow 6)), maltose (ligação α (1 \rightarrow 4)) e sacarose (ligação $\alpha\beta$ (1 \rightarrow 2)) (Zemke-White & Clements, 1999; Yen, 2001). Estes açúcares menores são hidrolisados pelas oligossacaridasas e dissacaridasas específicas como as dextrinase, isomaltase, maltase e sacarase (Motta, 2005), que agem nas ligações α (1 \rightarrow 6), α (1 \rightarrow 6), α (1 \rightarrow 4) e $\alpha\beta$ (1 \rightarrow 2) respectivamente, disponibilizando glicose e frutose livres para serem absorvidas pelo enterócito (Figura 7).

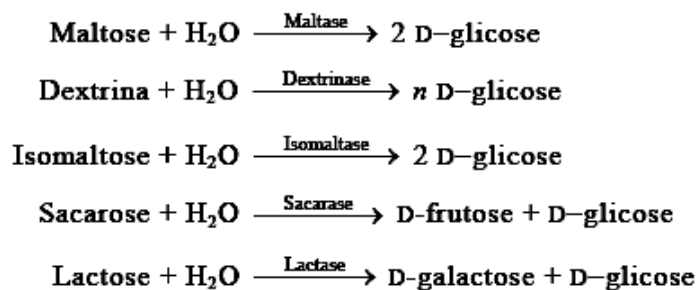


FIGURA 7 Representação da atividade e dos produtos das diferentes dissacaridasas, envolvidas na digestão do amido (Motta, 2005).

As carboidrases mais detectadas no lúmen de peixes é a α -amilase, maltase e sacarase (Fagbenro et al., 2000). Entretanto, peixes carnívoros e peixes de água fria apresentam secreção limitada da amilase no trato intestinal, o que é suficiente apenas para digerir uma pequena quantidade de carboidratos (Hidalgo et al., 1999; Papoutsoglou & Lyndon, 2006). O controle da síntese desta enzima é realizado por fatores de transcrição, identificado por Franco (2002) como peptídeos e proteínas. O estímulo destes fatores de transcrição ainda não é bem conhecido, porém sabe-se que a dieta e o habitat influenciam de forma complexa neste controle (López-Vásquez et al., 2009).

O perfil enzimático presente no trato digestório dos peixes está diretamente correlacionado à biodisponibilidade do amido utilizado na dieta. A alta concentração de carboidrato ramificado, como a amilopectina, eleva rapidamente a glicemia e a formação de altas concentrações de dextrina residual (Rawles & Lochmann, 2003). O parâmetro de glicemia elevada evidencia atividade da α -amilase, maltase e sacarase suficiente para disponibilizar altas concentrações de monossacarídeos para a absorção. Ao mesmo tempo em que a concentração de dextrina residual evidencia uma baixa atividade da dextrinase e isomaltase.

Algumas espécies de peixe apresentam alta adaptação à dieta, proporcionando uma grande variação na síntese e na atividade das carboidrases, conforme o carboidrato ingerido. Em geral, espécies carnívoras de peixe demonstram capacidade de adaptação limitada (Hidalgo et al., 1999; Papoutsoglou & Lyndon, 2006). Entretanto, *Pseudoplatystoma corruscan* -- assim como *Pseudoplatystoma fasciatum* -- parece ser uma exceção, sendo uma espécie carnívora capaz de aumentar a atividade das carboidrases quando alimentados com níveis elevados de carboidrato (Lundstedt et al., 2004). Desta forma, a atividade enzimática presente no trato digestório desta espécie disponibiliza altas concentrações de monossacarídeos susceptíveis a absorção.

Em peixes, os monossacarídeos são absorvidos de forma semelhante aos mamíferos (Ferraris, 2001). Para a completa absorção da glicose, é necessário a passagem por duas membranas da luz intestinal para o citossol e do citossol para a corrente sanguínea. Devido ao seu peso molecular, a glicose não passa pelos poros presentes na membrana celular. Para isto, utiliza transportadores de membrana. A absorção é realizada por três transportadores de membrana no intestino de peixes, o SGLT1 (Ahearn et al., 1992), GLUT5 (Hall et al., 2006; Kikuta et al., 2007; Terova et al., 2009) e GLUT2 (Krasnov et al., 2001). O SGLT1 e GLUT5 realizam o transporte do quimo para o citossol e o GLUT2 do citossol para a corrente sanguínea (Krogdahl et al., 2005).

Além dos três transportadores, a expressão gênica do GLUT4 foi identificada em trutas (*Salmo trutta*), por RT-PCR (Planas et al., 2000). O GLUT4 é um transportador comum em fibras musculares, apesar de ter sido identificado em trutas, não se conhece muito sobre sua atuação no intestino. É um transportador sensível à insulina. No entanto, sua resposta a diferentes estímulos parece não seguir os padrões determinados em mamíferos (Capilla et al., 2004).

O SGLT1 (co-transportador de sódio-glicose) é um transportador localizado nas microvilosidades intestinais. Realiza o transporte da glicose, proveniente do quimo, para o citossol, sendo o mecanismo de transporte dependente de sódio, transportando um monossacarídeo e um sódio para o citossol, o que exige um gradiente eletrolítico favorável (Machado et al., 2006). Para manter o equilíbrio eletrolítico, a célula utiliza a Na^+/K^+ -ATPase e um ATP para a remoção de altas concentrações de sódio presentes no citoplasma (Krogdahl et al., 2005). Desta forma, este sistema de transporte consome um ATP, não sendo caracterizado como transporte passivo.

O GLUT5 é um transportador localizado nas microvilosidades intestinais, conhecido pela sua alta afinidade com a D-frutose (Aouameur et al.,

2007; Yurdagül et al., 2009). Realiza transporte facilitado, Na⁺-independente. Em mamíferos, sua alta atividade é regulada com alto consumo de frutose (Drozdowski & Thomson, 2006).

O GLUT2 (transportador de glicose 2) é um transportador localizado no enterócito, responsável pelo transporte do citossol para a corrente sanguínea (Krogdahl et al., 2005). Apresenta baixa afinidade com monossacarídeos (Krasnov et al., 2001), entretanto, é o único transportador com habilidade de transportar a D-glicose, D-galactose e D-frutose (McGowan et al., 1995; Yurdagül et al., 2009). Realiza transporte facilitado, conseqüentemente depende do gradiente de concentração favorável. Esta característica de transporte atribui a este transportador uma alta sensibilidade com a glicemia e com diversos hormônios (Castaneda et al., 2006).

A eficiência dos transportadores de glicose varia ao longo do trato digestório. A afinidade dos transportadores de algumas espécies de peixe com os monossacarídeos é aumentada, conforme a proximidade da região distal do intestino (Ahearn et al., 1992). Entretanto, a absorção é menor na região distal, quando comparada à proximal (Bakke-McKellep et al., 2000; Nordrum et al., 2000).

A determinação desta eficiência é realizada *in vitro*, pela quantificação da salinidade da solução do ensaio, como descrito em *Oreochromis mossambicus* (Reshkin & Ahearn, 1987a,b). Esta determinação avalia a capacidade dos transportadores Na⁺-dependentes, não considerando o transporte facilitado (Na⁺-independente). Este pode apresentar alta correlação com a glicemia. Ambos os mecanismos de transporte utilizados pelos transportadores podem explicar a capacidade de absorção e a eficiência dos transportadores localizados na região distal e proximal do intestino.

Possivelmente, a quantidade de transportadores e os parâmetros metabólicos exercem alta influência na absorção. A região proximal do intestino

apresenta maiores concentrações de transportadores, quando comparada à região distal, conseqüentemente absorvem maiores concentrações de monossacarídeos. Após a absorção da região proximal, a glicemia é elevada, promovendo, desta forma, um gradiente glicolítico negativo na região distal, sendo necessária uma maior eficiência dos transportadores presentes nesta região para dar continuidade à absorção dos monossacarídeos. A densidade de transportadores e a glicemia podem explicar a maior eficiência dos transportadores na região distal, porém, uma menor absorção de glicose nesta região.

Algumas espécies de peixe podem aumentar a eficiência ou a quantidade dos transportadores presentes na borda em escova, conforme a concentração de carboidratos na dieta. Esta alteração pode ser intermediada por diferentes fatores ainda não bem definidos em peixes, embora diversas hipóteses sejam levantadas por diferentes autores. Os transportadores intestinais em peixes respondem ao estímulo de diversos hormônios, podendo ser ativados pelo glucagon, peptídeos de glucagon, glicocorticóides e 17α -metiltestosterona (Hazzard & Ahearn, 1992; Soengas & Moon, 1998). A presença dos três principais tipos de transportadores indica que o controle pode seguir o mesmo princípio que em humanos, sendo também influenciado pela glicemia e insulina (Roy et al., 2003). Os diferentes hormônios e as variações nos parâmetros metabólicos podem alterar a eficiência ou a quantidade dos transportadores.

Os diferentes hábitos alimentares podem ser relacionados com a capacidade do peixe em aumentar a quantidade dos transportadores, ou variar a cinética da ligação dos mesmos com a glicose, promovendo uma modificação nos transportadores, conforme a concentração de carboidrato ingerida. Peixes carnívoros apresentam capacidade limitada de adaptação (Krogdahl et al., 2005). Em geral, peixes onívoros e herbívoros de região tropical demonstram melhor eficiência na digestão e absorção dos carboidratos, quando comparados às espécies carnívoras ou marinhas de região temperada (Borba, 2008).

3.4 Metabolismo energético em peixes

Para a síntese de energia, o metabolismo utiliza preferencialmente os lipídeos e os carboidratos como fonte energética. Estes nutrientes são convertidos em acetil-CoA, podendo ser completamente oxidados no ciclo de Krebs, produzindo energia e CO₂. Conseqüentemente, o excesso de energia pode inibir a atividade de enzimas relacionadas com a produção de ATP e CO₂ e estimular a atividade de enzimas relacionadas com a formação de moléculas energéticas, possíveis de serem armazenadas pelo metabolismo, como o glicogênio e os triglicérides. Em contra partida, a deficiência de lipídios ou carboidratos leva à utilização de fontes alternativas de energia, como as proteínas.

A relação ideal entre energia/proteína presente na dieta é aquela que minimiza a deposição de gordura e evita a redução da proteína corporal. Esses parâmetros indicam que a energia não excedeu a demanda do animal a ponto de proporcionar a síntese e o acúmulo de triglicérides. Também caracteriza que o fornecimento de energia foi suficiente, evitando a necessidade do metabolismo em utilizar as proteínas para este fim. Portanto, a quantidade e qualidade dos lipídios e carboidratos presentes na dieta de peixes têm grande importância na nutrição destes animais.

Peixes carnívoros são mais eficientes em utilizar os lipídios como fonte de energia devido à capacidade limitada de seu metabolismo em controlar a glicemia (Caseras et al., 2002; Hemre et al., 2002), sendo os triglicérides a principal forma de armazenamento da energia corporal para estas espécies. O acúmulo dos triglicéridos é evidenciado no tecido adiposo, visceral e muscular (Wang et al., 2005; Zhong et al., 2007) e pode representar a forma de gordura mais abundante nestes tecidos (Tabela 2).

TABELA 2 Percentual triglicerídeos (TAG), ácido graxo livre (AGL), diacilglicerol (DAG) e dos fosfolipídios (PL), no músculo branco e nas vísceras.

Lipídios	Músculo	Vísceras
TAG	51,8 ± 6,24	74,1 ± 3,36
AGL	0,89 ± 0,47	-
DAG	2,32 ± 1,44	12,4 ± 1,2
PL	32,9 ± 5,31	13,7 ± 1,84

(Zhong et al., 2007)

O armazenamento de energia ocorre apenas em peixes submetidos a dietas com concentrações excessivas de lipídios, carboidratos ou proteínas. Dentro dos três nutrientes comentados, os carboidratos apresentam o menor custo, influenciando, assim, a viabilidade econômica de uma ração para carnívoros (Papoutsoglou & Lyndon, 2006). A utilização de carboidratos na dieta de peixes carnívoros gera grandes contradições entre os pesquisadores. Os problemas relacionados com a digestão, absorção e metabolização desses nutrientes são dependentes da relação entre o tipo e a concentração do carboidrato com a espécie do carnívoro estudado (Krogdahl et al., 2005; Rawles et al., 2008). Essa relação caracteriza a biodisponibilidade do carboidrato, podendo promover o excesso ou a carência da fração energética na dieta.

Em excesso, a glicose pode ser armazenada como glicogênio ou seguir para o ciclo de Krebs e via das pentoses para a síntese de triglicerídeos (Figura 8), elevando as concentrações da glicose hepática e dos triglicerídios corporal (Sul & Wang, 1998; Rawles et al., 2008).

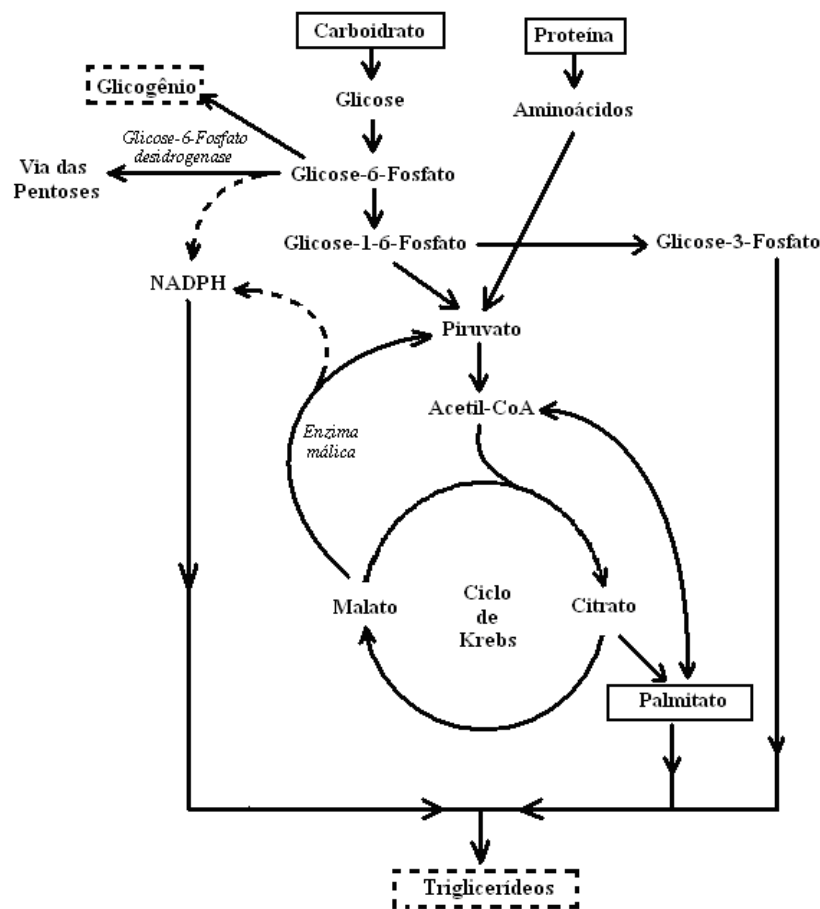


FIGURA 8 Ilustração da síntese de ácido graxo e triglicerídeos, a partir da proteína e da glicose.

Sob altas concentrações de glicose sanguínea, o metabolismo energético animal é regulado pela insulina. A insulina é uma proteína sintetizada no retículo endoplasmático rugoso das células β , presentes no pâncreas. Sua secreção e síntese são estimuladas por diversos substratos energéticos, metabolizados nas células β . Os produtos oriundos da catálise da glicose são os principais secretagogos da insulina (Haber et al., 2001).

Peixes apresentam uma ineficiência em recuperar a homeostasia glicêmica, caracterizando certa intolerância à glicose. Esta limitação é atribuída ao efeito brando que a insulina promove no metabolismo destes animais, quando comparado com mamíferos. Alta concentração de glicose circulante, por um longo período, caracteriza um quadro de hiperglicemia persistente. A intensidade e persistência desta hiperglicemia variam conforme a espécie e condições do animal. Geralmente, o metabolismo de espécies carnívoras-piscívoras necessita de um período maior para recuperar a homeostase (Moon, 2001).

As hipóteses formadas para explicar tal metabolismo muitas vezes são quebradas com comportamentos observados em algumas espécies de peixe. Moon (2001) descreveu que o estímulo da liberação da insulina em peixes com alta glicemia, assim como seu efeito no metabolismo, é dependente da espécie estudada (Tabela 3). Este autor relatou que, em geral, peixes que apresentaram aumento na insulina sérica são mais ineficientes em recuperar a glicemia, quando comparados aos peixes que não demonstraram a insulina estimulada pela hiperglicemia. A carpa (*Cyprinus carpio*) parece seguir o metabolismo padrão dos mamíferos, sendo que a hiperglicemia estimulou a liberação da insulina, elevando sua concentração em até três vezes, sendo mais eficiente em recuperar a glicemia (Moon, 2001).

TABELA 3 Teste de tolerância à glicose, realizado em diferentes espécies de peixes. Incorporação da glicose no animal: O – oral; IP – intraperitoneal e IV – intravenoso. Tempo mínimo da hiperglicemia: reflete o período em horas que o peixe necessitou para restabelecer a glicemia (Moon, 2001).

Espécies	Incorporação	Dose (mg/kg)	Varição da Insulina	Tempo Mínimo da Hiperglicemia
Truta arco-íris	O	1	ND	7 horas
	IP	300	↓	18 horas
Truta marrom	IV	500	↑ 2,5	8 horas
Salmon	O	1670	↑ 2	36 horas
Bagre do canal	O	1670	ND	6 horas
	IV	250	ND	11 horas
Carpa		167	↑ 3	5 horas
Sea bream vermelho	O	1	↑ 2	TS
	O	1	↑ 2	TS
Tilápia	IP	2000	ND	6 horas
Enguia européia	IV	500	ND	9 horas
	O	1	ND	NO

ND: não determinado; NO: não observado; TS: tempo necessário superior ao avaliado.

O aumento da glicose durante a hiperglicemia parece ser comum a todas as espécies, mesmo naquelas que não apresentam elevações da insulina (Geurden et al., 2007), levando-se à consideração da hipótese de que os

transportadores de glicose e as enzimas relacionadas à glicólise podem não ser insulino-dependentes em algumas espécies de peixes (Moon, 2001). Não está clara a relação da insulina com a glicemia, pois peixes de diferentes espécies e diferentes hábitos alimentares respondem de maneiras distintas ao desafio da hiperglicemia e aos estímulos da insulina.

A compreensão do metabolismo em tecidos muscular e adiposo é de grande importância para o controle glicêmico. O músculo pode representar mais de 50% do peso corporal, podendo ser grande consumidor de glicose circulante (Klip et al., 1996; Zierler, 1999). Experimentos com truta marrom demonstraram que a utilização da glicose pelo metabolismo ocorre após a elevação de três ou quatro vezes o valor da homeostase e, nesta concentração glicêmica, ocorre o estímulo da glicólise nas fibras musculares (Blasco et al., 1996).

A glicose é transportada para o interior das células por transportadores de membrana tipo 2 ou 4 (GLUT2 e GLUT4), os quais são regulados pela glicemia (Haber et al., 2001). Peixes apresentam alta taxa de transporte, mesmo sem o estímulo da insulina. Após a entrada da glicose na célula, a principal rota em casos de hiperglicemia é a síntese de glicogênio ou o início da glicólise, sendo esta realizada pela glicoquinase ou hexoquinase (Geurden et al., 2007).

O estímulo dos carboidratos demonstra aumentar a expressão do mRNA da glicoquinase em trutas, carpas e seabream e, como segunda resposta, aumento na atividade das hexoquinases. Entretanto, ao mesmo tempo em que a glicólise é estimulada pela alta atividade da glicoquinase e hexoquinase, a síntese hepática da glicose, realizada pela enzima inversa chamada glicose-6-fosfatase, não é inibida (Moon, 2001; Caseras et al., 2002). Outros pesquisadores observaram comportamento semelhante em peixes carnívoros, os quais mantiveram constante o processo de gliconeogênese após ingestão de altas concentrações de carboidrato e sob altos níveis glicêmicos, ao mesmo tempo em que aumentaram a atividade da glicoquinase e hexoquinase, levando ao estímulo da glicólise

(Deng et al., 2001; Panserat et al., 2001). Conseqüentemente, a atividade destas enzimas pode ser a principal forma de controle da glicemia em peixes (Enes et al., 2006, 2008). A compreensão deste mecanismo e sua interação com a insulina e transportadores de glicose são fundamentais para o entendimento da intolerância à glicose em peixes.

Ao se analisar o tecido muscular de peixes, alguns autores não obtiveram sucesso em identificar o GLUT4 no músculo de tilápia, truta e enguia (Wright et al., 1998). No entanto, estes autores utilizaram sondas para identificação do mRNA-GLUT4 em humanos. Planas et al. (2000) identificaram um homólogo do GLUT4 no tecido muscular de trutas, demonstrando que há transportadores de membranas nas fibras musculares de peixes, semelhantes aos de mamíferos (Menoyo et al., 2006). Porém, uma pequena variação no seu código genético pode conferir respostas diferentes ou menos intensas a determinados estímulos da insulina. Os receptores de insulina também foram identificados no músculo de peixes, em menor número, quando comparado aos mamíferos. Estes apresentaram-se em quantidades menores em peixes carnívoros, quando contrastados com espécies herbívoras (Navarro et al., 1999).

É evidente a presença de transportadores de glicose nas fibras musculares de peixes, sendo eles homólogos aos de mamíferos. Também é caracterizada a presença de receptores de insulina nas células musculares de peixe. No entanto, a perfeita definição da interação entre ambos não é bem clara. A intolerância à glicose pode ser proveniente de uma baixa concentração de transportadores de glicose e receptores de insulina, sendo essa mais uma hipótese referente à intolerância da glicose em peixes (Navarro et al., 1999).

A habilidade da utilização de glicose como fonte energética no metabolismo dos peixes pode ser controlada, em grande parte, pela própria concentração de glicose corporal, não utilizando alguns hormônios e substratos intermediários neste metabolismo (Soengas et al., 2006). Porém, esta habilidade

pode ser investigada utilizando dois princípios. O primeiro se baseia na ineficiência da secreção da insulina ou aos efeitos adversos causados por este hormônio em peixes. O segundo, no fato de que algumas espécies não são dependentes da insulina para realizar controle glicêmico, apenas dependem da atividade de determinadas enzimas, controladas apenas pela presença da glicose. Considerando as duas hipóteses, é fundamental a investigação de metabólitos e enzimas-chave de determinadas rotas metabólicas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Durante todo o período experimental, os parâmetros liminológicos foram monitorados diariamente. A medição do pH foi realizada com um pHmetro digital, portátil, com duas casas decimais de precisão (Bernauer, F-1005). O oxigênio foi medido com um oxímetro digital portátil (Bernauer, F-1550A) e a temperatura foi acompanhada por uma sonda pt 100, ligada a um controlador de temperatura (N540) do próprio sistema de recirculação do laboratório.

4.1 Delineamento experimental

Foi adotado um delineamento experimental em blocos casualizados, com quatro tratamentos (5, 10, 15 e 20% de amido de milho na dieta) e seis repetições, totalizando 24 parcelas. Cada parcela foi constituída por sete juvenis híbridos de surubim.

Os dados obtidos foram analisados com auxílio do software SAEG-SISTEMA PARA ANÁLISE ESTATÍSTICA E GENÉTICA, proposto por Euclides (1997). As médias foram comparadas pelo teste de probabilidade de Student-Newman-Keuls, a 5% de significância. Foi gerada uma equação de regressão para descrever o comportamento da glicose-6-fosfato desidrogenase.

4.2 Local

O experimento foi conduzido na Estação de Piscicultura da Universidade Federal de Lavras, MG, Brasil, com duração de 80 dias, sendo 20 dias de adaptação e 60 dias de fornecimento das diferentes dietas experimentais. Para o ensaio experimental, foi utilizado um laboratório de recirculação de água, provido de 24 caixas de fibra de vidro, com 0,61 x 0,44 x 0,40 m de diâmetro superior, diâmetro da base e altura respectivamente e capacidade total de 100 litros. As caixas foram cobertas com tela escura (sombrite 75%) para não inibir o

consumo e evitar o estresse dos juvenis. O sistema foi composto por filtro de areia (com capacidade de filtrar partículas até 5 μ m de diâmetro), filtro ultravioleta, filtro biológico e sistema de controle da temperatura (N540), com precisão de duas casas decimais (Figura 9). O fluxo de água nas caixas experimentais foi suficiente para três renovações totais de água a cada hora.

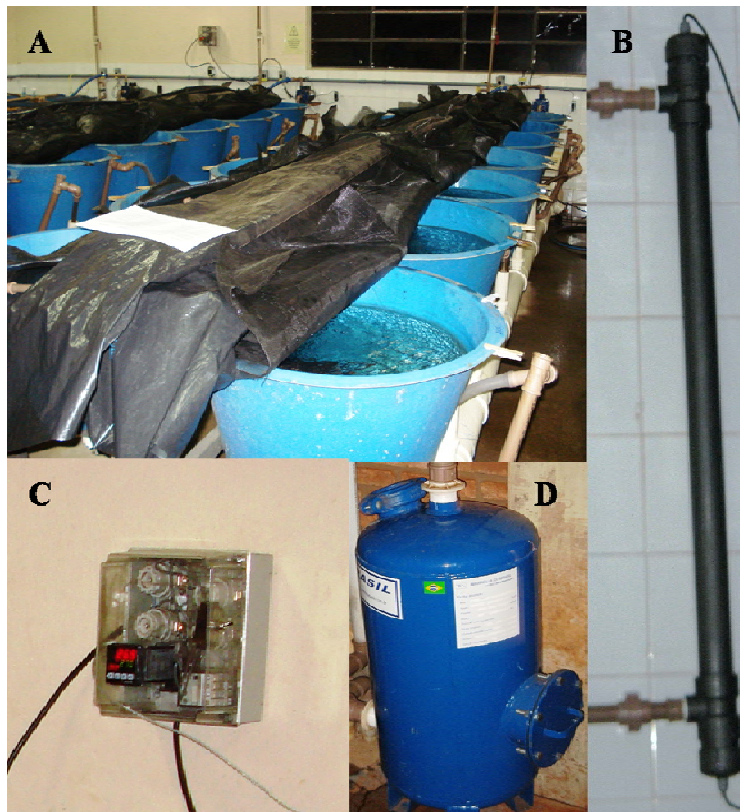


FIGURA 9 Ilustração das caixas de fibra de vidro (A), do filtro ultravioleta (B), do controlador de temperatura (C) e do filtro de areia (D).

4.3 Material biológico

Foram utilizados 168 juvenis híbridos de surubim (σ *Pseudoplatystoma corruscans* x ♀ *Pseudoplatystoma fasciatum*), com $104,9 \pm 16,45$ g de peso

inicial e $25,1 \pm 2,64$ cm de comprimento total (Figura 10). Os juvenis foram distribuídos em 24 caixas experimentais, com volume útil de 60 litros de água. Cada caixa acomodou 7 juvenis, numa densidade inicial aproximada de 1 juvenil por cada 9 litros de água.



FIGURA 10 Ilustração do juvenil híbrido de surubim (σ *Pseudoplatystoma corruscans* x ♀ *Pseudoplatystoma fasciatum*) utilizado no experimento.

4.4 Rações experimentais

Os tratamentos foram compostos por quatro dietas, contendo níveis diferentes de amido de milho (5; 10; 15 e 20 %) (Tabela 4). As rações experimentais foram elaboradas no Laboratório de Nutrição do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras. Os ingredientes foram pesados em balança analítica e homogeneizados com 40% de água. A mistura final foi submetida a um moedor de carne sem hélice, assumindo a forma de “macarrão”. Após estes processos, as rações foram secas a uma temperatura de 35°C, sob ventilação constante. As rações eram preparadas mensalmente e armazenadas por este período a uma temperatura de 10°C.

TABELA 4 Composição das rações experimentais.

Ingredientes	Níveis de Amido de Milho			
	5%	10%	15%	20%
Farinha de peixe ¹	57,17	52,17	48,00	44,00
Gelatina	5,00	5,00	6,00	7,00
Albumina	7,00	7,00	8,00	8,00
Caseína	3,00	6,00	7,00	8,50
Óleo de Canola	11,00	10,00	9,00	7,00
Amido de Milho	5,00	10,00	15,00	20,00
FB	1,50	1,50	1,50	1,50
Suplemento mineral e vitamínico ²	0,30	0,30	0,30	0,30
Antioxidante	0,03	0,03	0,03	0,03
Celulose	5,00	4,00	3,17	2,60
Caulim	5,00	4,00	2,00	1,00
Total	100	100	100	100
Composição aproximada de proteína e energia bruta				
PB* (%)	46,7	46,3	46,3	46,2
EB* (kcal.kg ⁻¹)	3525	3548	3595	3550

*PB: proteína bruta e EB: energia bruta.

¹Farinha de resíduo da indústria de filetagem de salmão.

²Composição por quilo do suplemento vitamínico e mineral: Vitamina A, 1500UI; Vitamina B1, 20mg; Vitamina B2, 15mg; Vitamina B3, 1000UI; Vitamina B12, 10mcg; Vitamina E, 25mg.; Vitamina PP, 120mg; Colina, 2000mg; Pantotenato de Cálcio, 80mg; Ácido fólico, 2mg; Manganês, 80mg; Ferro, 24mg; Zinco, 50mg; Cobre, 8mg; Iodo, 3mg; Selênio, 0,10mg; BHT, 170mg.

4.5 Protocolo alimentar

Nos 20 primeiros dias referentes à adaptação experimental, os juvenis receberam a dieta com 5% de amido de milho. Após a adaptação, os juvenis foram alimentados por 60 dias com as quatro diferentes dietas experimentais, duas vezes ao dia, às 8:00 e às 18:00 horas. A quantidade fornecida foi padronizada diariamente, conforme a saciedade dos juvenis. O consumo aparente foi quantificado pela quantidade de ração fornecida para cada caixa experimental dividido pela população de peixes presente na caixa.

4.6 Coletas experimentais

As coletas foram realizadas em cinco diferentes períodos: coleta inicial, três coletas intermediárias e coleta final. As amostragens foram realizadas com intervalos de 15 dias (a cada 15 dias). Para a coleta inicial e para as três intermediárias, amostrou-se um peixe de cada caixa e para a coleta final foram amostrados 3 juvenis de cada caixa. Em todas as coletas, os peixes foram mantidos em jejum por 24 hs e após o jejum foram sedados com 2-fenoxietanol na concentração de 0,8 ml.L⁻¹ (Figura 11).

O fígado foi retirado de todos os juvenis amostrados nas cinco coletas experimentais. Na coleta final, foi também retirado 1ml de sangue por punção cardíaca e 3g de músculo branco de cada juvenil amostrado aproximadamente. O plasma foi separado por centrifugação a 3000 g por 10 minutos em temperatura ambiente. O plasma, músculo e fígado foram imediatamente armazenados a -20 °C para posteriores análises.



FIGURA 11 Ilustração do manejo de anestesia e pulsão cardíaca dos juvenis de surubim.

4.7 Variáveis analisadas

Os peixes das cinco coletas foram pesados, medidos e tiveram o índice hepatossomático calculado. Os peixes da coleta final tiveram as variáveis de ganho de peso total, ganho de peso específico, conversão alimentar, eficiência protéica, eficiência energética, retenção de proteína muscular, taxa de crescimento total e taxa de crescimento específico calculadas. Neste período, foi analisada a concentração de proteína total, triglicerídeos e glicose no músculo, fígado e no plasma. Foi também determinada a atividade específica da enzima málica (E.C.1.1.1.40) e da glicose-6-fosfato desidrogenase (E.C.1.1.1.49) no tecido hepático.

4.8 Metodologia analítica

4.8.1 Desempenho

As variáveis de desempenho: índice hepatossomático (IHS), conversão alimentar (CA), eficiência protéica (EP), eficiência energética (EE), retenção protéica muscular (RPM), ganho de peso (GP), ganho de peso específico (GPE), taxa de crescimento total (TCT) e taxa de crescimento específico (CE), foram dimensionadas seguindo os seguintes cálculos:

$$\text{IHS} = (\text{Peso do fígado/peso do peixe}) \times 100;$$

$$\text{CA} = \text{Ganho de peso/ração ingerida};$$

$$\text{EP} = \text{ganho de peso/proteína bruta ingerida};$$

$$\text{EE} = \text{ganho de peso/energia bruta ingerida};$$

$$\text{RPM} = \text{proteína no file/proteína bruta consumida};$$

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

$$\text{GPE} = \text{ganho de peso}/60 \text{ dias};$$

$$\text{TCT} = \text{comprimento total final} - \text{comprimento total inicial};$$

$$\text{TCE} = \text{taxa de crescimento total}/60 \text{ dias}.$$

4.8.2 Glicose, proteína totais e triglicerídeos

A extração e análise da glicose, proteína total e triglicerídeos realizadas no fígado, músculo e plasma, seguiram a metodologia adaptada de Camilo (2007).

As amostras de músculo branco e fígado foram diluídas em água MilliQ na proporção de 1:2 e 1:3 (peso/volume), respectivamente. O músculo branco foi macerado com o auxílio de um pistilo sob banho de gelo. Após a maceração, a amostra foi submetida por 10 minutos ao banho ultrassônico e foi centrifugada a 13.400 g por cinco minutos a 4 °C. O sobrenadante foi separado e o processo foi

repetido por mais duas vezes. O homogenato dos sobrenadantes foi utilizado para a quantificação da glicose, proteína total e triglicerídeos.

A quantificação de glicose foi realizada com o Kit Labtest de Glicose (GLICOSE HK Linqiform, Cat. 85), cujo princípio é a fosforilação da glicose em uma reação catalizada pela hexoquinase (HK). A determinação do produto resultante colorido é feita por fotometria ultravioleta de ponto final. Este método consiste na mistura de 10µl de plasma ou de extrato neutro hepático ou muscular previamente diluído em água (plasma 1:10, fígado 1:10 e músculo branco 1:1), com 1 ml do reativo do Kit Labtest para Glicose. A leitura foi feita por um leitor de microplacas com um filtro de 340nm, após ter sido incubada à 37°C por 5 minutos. A absorbância resultante é comparada ao padrão de glicose do Kit e é diretamente proporcional à concentração de glicose na amostra.

A análise de triglicerídeos foi realizada utilizando o Kit Labtest para Triglicerídeos (TRIGLICÉRIDES Liquiform, Cat. 87), cujo princípio é a hidrólise dos triglicerídeos e a formação de quinoneimina. A determinação do produto resultante colorido é feita por fotometria ultravioleta de ponto final. Este método consiste na mistura de 10µl de plasma ou de extrato neutro hepático ou muscular previamente diluído em água (plasma 1:10, fígado 1:10 e músculo branco 1:10), com 1 ml do reativo do Kit Labtest para Triglicerídeos. A leitura foi feita por um leitor de microplacas com um filtro de 505nm, após ter sido incubada a 37°C por 10 minutos. A intensidade da cor vermelha formada é comparada ao padrão de triglicerídeos do Kit e é diretamente proporcional à concentração de triglicerídeos da amostra.

As concentrações de proteínas totais foram determinadas pelo método de Bradford (1976). Este método consiste na mistura de 10µl de plasma ou extrato neutro muscular ou hepático, com 1ml do reativo de Bradford. O reagente de Bradford utilizado foi composto de 100mg de Comassie blue G250 em 50ml de etanol 95%. A essa solução são adicionados 100ml de ácido fosfórico 85% e o

volume completado para 1 litro com água destilada. A leitura foi feita por um leitor de microplacas com um filtro de 595nm, após ter sido incubada a 25°C por 5 minutos. A concentração de proteína foi estimada através de uma equação gerada pela leitura de soluções contendo diferentes concentrações de albumina sérica bovina (ASB).

4.8.3 Atividade específica das enzimas

As atividades específicas da enzima málica (EM, E.C.1.1.1.40) e da glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD, E.C.1.1.1.49) seguiram metodologia proposta por Ribeiro (2007).

Cada amostra de fígado foi diluída em tampão HEPES-KOH 25mM e pH 7,2, na proporção de 1:4 (peso/volume). O tecido hepático foi macerado com o auxílio de um pistilo sob banho de gelo. Após a maceração, a amostra foi submetida por 10 minutos no banho ultrassônico e foi centrifugada a 10.000 g por 30 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi separado e o processo foi repetido por mais duas vezes. O homogenato dos sobrenadantes foi utilizado para a determinação da atividade específica da G6PD e EM (ANEXO C).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante os 60 dias experimentais, não se observou diferença no consumo das dietas pelos peixes submetidos aos diferentes tratamentos. As médias de temperatura da água (28 °C), oxigênio dissolvido (5,6 mg.L⁻¹), amônia (0,009 mg.L⁻¹) e potencial hidrogeniônico (7,3) foram mantidas dentro dos limites ideais para a espécie.

Os níveis de carboidratos adicionados às dietas experimentais não proporcionaram diferença no desempenho dos juvenis de surubins. O aumento do nível de amido de milho até 20% na dieta não influenciou ($P>0,05$) o comprimento e o peso total (Figura 12 e 13) em nenhum dos períodos avaliados.

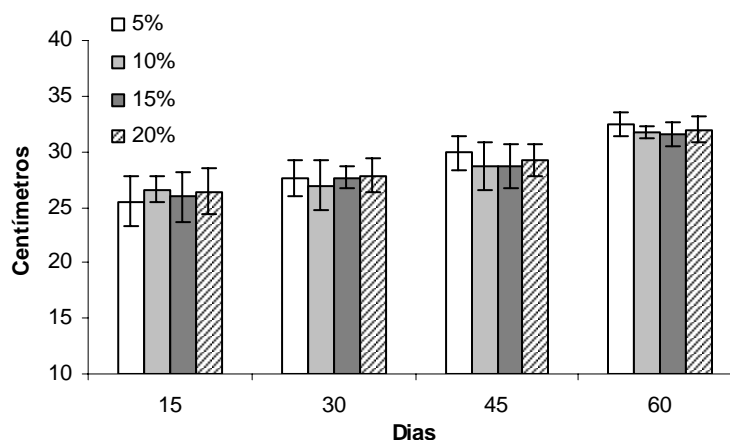


FIGURA 12 Comprimento total (cm) dos híbridos de surubim (♂ *Pseudoplatystoma corruscans* x ♀ *Pseudoplatystoma fasciatum*) após 15, 30, 45 e 60 dias de alimentação com dietas contendo 5, 10, 15 e 20% de amido de milho ($n = 6$ e $CV = 3,6; 3,9; 4,8$ e $2,6$ para 15, 30, 45 e 60 dias, respectivamente).

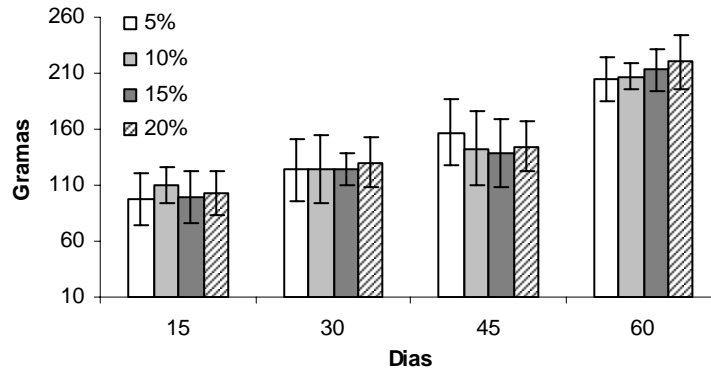


FIGURA 13 Peso total (g.) dos híbridos de surubim ((♂ *Pseudoplatystoma corruscans* x ♀ *Pseudoplatystoma fasciatum*) após 15, 30, 45 e 60 dias de alimentação com dietas contendo 5, 10, 15 e 20% de amido de milho (n = 6 e CV = 8,8; 11,2; 16,7 e 7,9 para 15, 30, 45 e 60 dias, respectivamente).

Os resultados obtidos com os juvenis híbridos de surubim ((♂ *Pseudoplatystoma corruscans* x ♀ *Pseudoplatystoma fasciatum*) demonstraram uma boa capacidade em aproveitar altos níveis de amido de milho, comportamento contrário ao da maioria das espécies de peixes carnívoros (Krogdahl et al., 2005).

O comprimento e peso total dos juvenis estão de acordo com o determinado por Romagosa et al. (2003). O comprimento total dessa espécie apresenta uma alta correlação com o comprimento padrão, sendo utilizados com alta precisão para caracterizar o desempenho (Fujimoto & Carneiro, 2001; Romagosa et al., 2003). Ambos os dados, peso e comprimento, podem estimar o estado nutricional e o desempenho dos juvenis (Arjona et al., 2009). Entretanto, os diferentes níveis de amido de milho não proporcionaram diferença significativa entre os peixes alimentados com as dietas experimentais, mantendo-se dentro dos limites normais de peso e comprimento total da espécie.

A conversão alimentar, a eficiência protéica, a eficiência energética, a retenção de proteína muscular, o ganho de peso, a taxa de crescimento total, o ganho de peso específico e a taxa de crescimento específico avaliados após 60 dias de alimentação (Tabela 5) também não demonstraram diferença significativa ($P>0,05$).

TABELA 5 Conversão alimentar (CA), eficiência protéica (EP), eficiência energética (EE), retenção protéica muscular (RPM), ganho de peso (GP), a taxa de crescimento total (TCT), ganho de peso específico (GPE) e taxa de crescimento específico (TCE) dos híbridos de surubim (♂ *Pseudoplatystoma corruscans* x ♀ *Pseudoplatystoma fasciatum*) após 60 dias de alimentação com dietas contendo 5, 10, 15 e 20% de amido de milho.

CV	Concentração de amido de milho na dieta				
	5%	10%	15%	20%	
CA ¹	14,63	1,11 ± 0,27	1,08 ± 0,22	1,01 ± 0,16	0,96 ± 0,15
EP ²	13,46	2,02 ± 0,47	2,06 ± 0,43	2,18 ± 0,36	2,32 ± 0,40
EE ³	13,48	0,26 ± 0,06	0,27 ± 0,05	0,28 ± 0,04	0,30 ± 0,05
RPM ⁴	15,93	0,52 ± 0,08	0,43 ± 0,09	0,46 ± 0,06	0,46 ± 0,07
GP ⁵	13,47	117,42 ± 22,81	119,43 ± 16,15	125,44 ± 23,14	132,97 ± 14,18
TCS ⁶	10,55	8,41 ± 1,43	7,66 ± 0,68	7,57 ± 1,61	7,96 ± 1,08
GPE ⁷	13,47	1,95 ± 0,45	1,99 ± 0,41	2,09 ± 0,35	2,21 ± 0,38
TCE ⁸	10,55	0,14 ± 0,03	0,12 ± 0,04	0,13 ± 0,02	0,14 ± 0,02

Média (n=18) ± Desvio Padrão

¹Ganho de peso/ração ingerida (g); ²ganho de peso/proteína bruta ingerida (g); ³ganho de peso/energia bruta ingerida (g); ⁴proteína no file/proteína bruta consumida (mg/g); ⁵peso final – peso inicial (g); ⁶comprimento final – comprimento inicial (cm); ⁷ganho de peso/60 dias (g) e ⁸taxa de crescimento total/60 dias (cm).

Martino et al. (2005), concluíram que a substituição da energia do óleo de soja da dieta pela farinha de milho não influenciou o ganho de peso

específico, a taxa de conversão alimentar, a retenção protéica e o consumo total dos surubins (*P. corruscan*) durante 64 dias experimentais. Esses autores avaliaram a adição de 10% de farinha de milho, o que condiz com a incorporação média de apenas 7% de amido na dieta (Jorge et al., 2002; Gonçalves et al., 2003).

O mesmo efeito -- não significativo para essas mesmas variáveis -- foi observado no atual trabalho para níveis de até 20% de amido de milho, caracterizando essa espécie como uma espécie que suporta altas concentrações de carboidrato na dieta sem alterar esses parâmetros de desempenho.

Ao pesquisarem a concentração de energia na dieta de surubim, Martino et al. (2002) fixaram o valor de 46% de proteína bruta e variaram a energia bruta na dieta de 4800 para 5100 Kcal.Kg⁻¹, testando uma relação de energia/proteína igual a 10,43 e 11,08. Estes autores determinaram que a adição de 4% de óleo na dieta de surubins (de 8% para 12% de óleo) promove um aumento na eficiência protéica de 1,5g para 2,9g e que o ganho de peso e a taxa de crescimento total dos alevinos alimentados com dieta contendo 12% de óleo é 2,3 e 1,5 vezes maior, respectivamente, quando comparados aos peixes alimentados com uma dieta contendo 8% de óleo.

Essa variação no nível de óleo é a mesma utilizada no presente trabalho, entre a dieta contendo 20% (7% de óleo) e 5% (11% de óleo) de amido de milho (Tabela 4). Entretanto, esse aumento na concentração de óleo não proporcionou um aumento significativo ($P>0,05$) na eficiência protéica, sendo observados os valores de 2,02g para 2,32g, respectivamente (Tabela 5). Esses resultados demonstram que o amido de milho foi eficiente em repor a energia proveniente dos 4% de óleo.

A proteína e energia bruta utilizadas no presente trabalho foram fixadas em 46% e 3500 Kcal.Kg⁻¹, respectivamente. Estes valores demonstram que a energia de 3500 Kcal.Kg⁻¹ não ultrapassou o limite de resposta do desempenho

da espécie e a relação entre a energia/proteína (7,6) foi baixa quando comparada com a utilizada por Martino et al. (2002). A dieta com menor inserção de amido de milho (5%) apresentou cerca de 130 Kcal.Kg⁻¹ de energia, proveniente dos carboidratos e a de maior inserção de amido de milho (20%) apresentou mais de 540 Kcal.Kg⁻¹. Desta forma, a diferença não significativa no ganho de peso e na taxa de crescimento total dos juvenis alimentados com níveis de 5% e 20% de amido de milho caracteriza a capacidade dessa espécie em utilizar a energia proveniente do amido de milho.

Esse aproveitamento da energia fica mais evidente quando se observa a diferença não significativa obtida com os resultados da retenção protéica. A deficiência de lipídios ou carboidratos leva à utilização de fontes alternativas de energia, como as proteínas. Dietas com deficiência energética reduzem a capacidade de o peixe reter proteína proveniente da dieta, além de aumentar a excreção nitrogenada (Martino et al., 2002).

Como a eficiência energética e eficiência protéica são calculadas pelos valores brutos de energia e proteína presentes na dieta, essas variáveis podem comparar a eficiência do peixe em aproveitar a energia presente nos diferentes tratamentos. A não diferença entre as médias pode caracterizar que não houve deficiência energética, preservando a proteína dietária, mantendo iguais as taxas de crescimento específico e o ganho de peso específico entre os tratamentos (Fujimoto & Carneiro, 2001; Tan et al., 2006; Hansen et al., 2007; Metwally & El-Gellal, 2009).

Efeito não significativo ($P>0,05$) também foi observado nas concentrações de proteína, glicose e triglicerídios analisados no músculo branco dos juvenis (Tabela 6). Entretanto, o amido de milho influenciou ($P<0,05$) na glicemia e nas concentrações de glicose e triglicerídios hepáticos.

TABELA 6 Concentração de glicose, triglicerídios e proteína analisados no músculo, plasma e fígado de híbridos de surubim, alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de amido de milho.

	CV	Concentração de amido de milho na dieta			
		5%	10%	15%	20%
Músculo Branco (mg.g⁻¹)					
Glicose	20,40	0,95 ± 0,08	1,12 ± 0,11	1,15 ± 0,09	1,24 ± 0,08
Triglicerídeos	28,19	1,20 ± 0,13	1,13 ± 0,19	1,10 ± 0,14	1,07 ± 0,12
Proteína	15,99	30,06 ± 2,53	24,80 ± 2,46	27,06 ± 1,88	26,66 ± 2,04
Plasma (mg.ml⁻¹)					
Glicose*	20,82	0,57 ^B ± 0,08	0,71 ^B ± 0,03	0,77 ^B ± 0,07	1,13 ^A ± 0,12
Triglicerídeos	31,19	1,77 ± 0,30	1,65 ± 0,24	1,62 ± 0,21	1,30 ± 0,10
Proteína	12,2	3,83 ± 0,16	4,10 ± 0,27	3,82 ± 0,18	4,04 ± 0,29
Fígado (mg.g⁻¹)					
Glicose*	14,19	19,14 ^B ± 1,00	19,10 ^B ± 2,08	22,03 ^A ± 1,36	23,59 ^A ± 1,33
Triglicerídeos*	20,33	26,31 ^A ± 2,20	18,15 ^B ± 2,71	21,68 ^B ± 1,64	19,66 ^B ± 1,47
Proteína	14,83	90,25 ± 2,86	77,45 ± 5,94	80,15 ± 9,83	82,60 ± 2,43

* Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas na linha, dentro do mesmo tecido, diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott (P<0,05).

A energia da dieta exerce um efeito poupador de proteína, estimulando a utilização do carboidrato ou lipídio como fonte energética e da proteína como precursora de substâncias relacionadas ao desenvolvimento animal. Ao testar a relação carboidrato:óleo na dieta de piracanjuba (*Brycon orbignyianus*), Borba (2008) observou que quanto mais alta esta relação, pior é a conversão alimentar e menor é a eficiência protéica. Este autor atribuiu esse efeito à ineficiência da piracanjuba em utilizar carboidrato como fonte de energia, catabolizando parte da proteína dietária para a síntese energética.

Os juvenis de surubim não apresentaram redução significativa nas concentrações de proteína, avaliadas no fígado, músculo e plasma.

Provavelmente, a utilização, por estes animais, da energia proveniente do amido de milho foi eficiente em poupar a proteína dietária. Desta forma, não foi possível caracterizar uma deficiência energética, a ponto de o animal utilizar a proteína dietária para este fim.

Em outro estudo com surubim, ao fornecer dietas isoenergéticas e isoprotéicas pôde-se concluir que a substituição do óleo por carboidrato, além de não influenciar o desempenho, reduziu a deposição de gordura visceral (Martino et al., 2005). A utilização de lipídios como fonte de energia proporciona não só em carnívoros, como surubim, mas em muitas outras espécies de peixes, o aumento da concentração de lipídios corporal (Martino et al., 2002).

Os juvenis alimentados com a dieta contendo 5% de carboidrato apresentaram concentrações maiores de triglicerídios no fígado, quando comparados com os peixes que receberam os demais tratamentos. Provavelmente, este efeito foi proporcionado pela maior concentração de lipídios (11%) combinada com as menores concentrações de carboidrato (5%) na ração deste tratamento (Tabela 4). Entretanto, esta diferença na relação carboidrato:lipídios não foi suficiente para proporcionar variações significativas de triglicerídios plasmáticos e na deposição de triglicerídios no músculo.

As concentrações de carboidrato na dieta também influenciaram as concentrações de glicose analisada. A glicemia dos peixes alimentados com 20% de amido de milho foram maiores quando comparada à dos peixes alimentados com as demais concentrações. Já a glicose hepática foi maior nos peixes alimentados com as dietas contendo 15 e 20% de amido de milho, quando comparada à dos peixes alimentados com as dietas contendo 5 e 10%. Lundstedt et al. (2004) encontraram resultados semelhantes estudando a relação proteína:energia em dietas para surubins, observando que a incorporação de 59% de farinha de milho na dieta eleva, significativamente, a glicemia e a glicose hepática.

O fígado é um órgão central no controle da glicemia por apresentar enzimas que exercem os principais catabolismos e síntese de substratos energéticos (Fu & Xie, 2004). Este órgão, juntamente com o plasma, são os primeiros a apresentarem variações em sua composição, conforme as dietas estudadas.

Em carnívoros, a energia proveniente dos lipídios é mais prontamente disponível para o metabolismo, quando comparada com a energia proveniente dos carboidratos (Borba, 2008). De acordo com a necessidade hepática, o metabolismo animal pode requisitar ou depositar nutrientes em diferentes tecidos. Em diversas espécies de peixes carnívoros, Hutchins et al. (1998) e Cyrino et al. (2000), mencionam que o acúmulo de lipídios proveniente de processos da lipogênese hepática ocorre nas fibras musculares e vísceras. Este comportamento é observado na maioria das espécies migratórias que utilizam grande parte da energia depositada durante a migração e para os processos reprodutivos (Suárez et al., 1995).

Os níveis de até 20% de amido de milho e o período de 60 dias experimentais, avaliados nesse trabalho, não foram suficientes para promover variações na concentração de triglicerídeos, glicose e proteína muscular. Entretanto, proporcionou variações na composição do fígado e plasma. O fígado foi o órgão mais sensível à dieta, apresentando maiores concentrações de triglicerídeos nos peixes alimentados com 5% de carboidrato e maiores concentrações de glicose nos peixes alimentados com 15 e 20% de amido de milho.

Apesar de os peixes alimentados com 15% de amido de milho apresentarem altos valores de glicose hepática, esta concentração não influenciou a glicemia. Provavelmente, o fígado dos peixes alimentados com esta dieta foi capaz de metabolizar a glicose circulante após as 24 horas de jejum, o que não foi observado no tratamento contendo 20% de amido de milho,

caracterizando um provável limite na capacidade do fígado em recuperar a homeostase glicêmica.

Devido à alta importância do fígado no metabolismo energético animal, este pode sofrer variações no índice hepatossomático (IHS). As mais comuns são devido à deposição de altas concentrações de lipídio ou glicose hepática. O lipídio, mais comum em carnívoros, pode ser decorrente do excedente da alimentação, ou proveniente da lipogênese associada a altas concentrações de carboidrato na dieta. A glicose, mais comum em herbívoros e onívoros, pode ser proveniente da adição de carboidrato na dieta, acarretando altas concentrações de glicose e deposição de glicogênio hepático (Hemre et al., 2002; Borba, 2008).

Apesar de o carboidrato influenciar nas concentrações de triglicerídios e glicose hepática, os diferentes tratamentos não proporcionaram diferença significativa ($P>0,05$) no índice hepatossomático (Figura 14).

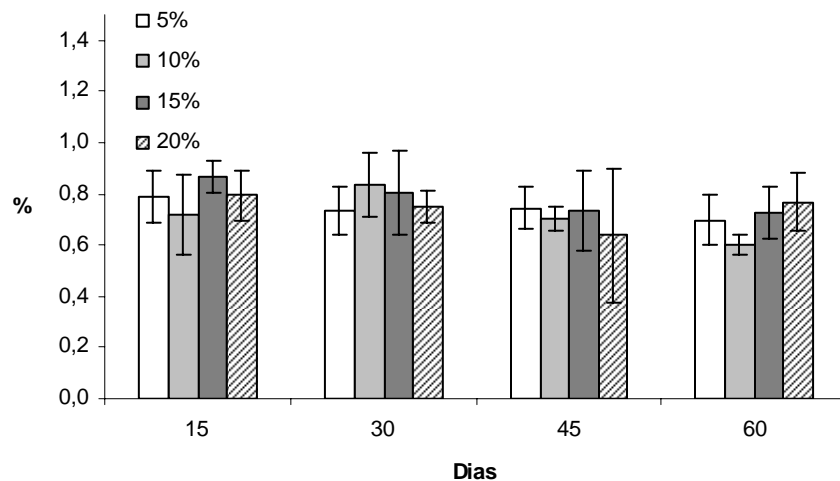


FIGURA 14 Índice hepatossomático (100 x peso do fígado/peso total) dos híbridos de surubim (♂ *Pseudoplatystoma corruscans* x ♀ *Pseudoplatystoma fasciatum*) após 15, 30, 45 e 60 dias de alimentação com dietas contendo 5, 10, 15 e 20% de amido de milho (n = 6 e CV = 13,7; 14,2; 27,1 e 15,8 para 15, 30, 45 e 60 dias, respectivamente).

Martino et al. (2005) concluíram que a substituição da energia do óleo de soja da dieta pela farinha de milho não influenciou o índice hepatossomático de surubins (*P. corruscans*). Outras espécies também parecem apresentar uma grande resistência em variar o IHS. Borba (2008) também não identificou variações no IHS em piracanjuba (*Brycon orbignyanus*), alimentada com dietas contendo diferentes concentrações de carboidrato.

Assim como Martino et al. (2005) e Borba (2008), não foi observada diferença significativa entre as médias do IHS durante todo o período experimental, demonstrando que as variações nas concentrações de glicose e triglicerídios no fígado não foram suficientes para variar significativamente a

densidade deste órgão. As diferentes dietas experimentais provavelmente não excederam a capacidade dos juvenis em metabolizar a glicose. Porém, influenciaram, de maneira sutil, o metabolismo energético.

A atividade específica da G6PD avaliada no tecido hepático dos juvenis demonstrou um aumento linear ($P < 0,05$), conforme as concentrações de amido de milho presentes na dieta, caracterizando um provável aumento na lipogênese hepática, embora não tenha sido observada diferença significativa ($P > 0,05$) na atividade específica da EM avaliada neste mesmo tecido (figura 15). Em surubim, a EM parece ser menos sensível ao perfil da dieta, quando comparada à G6PD.

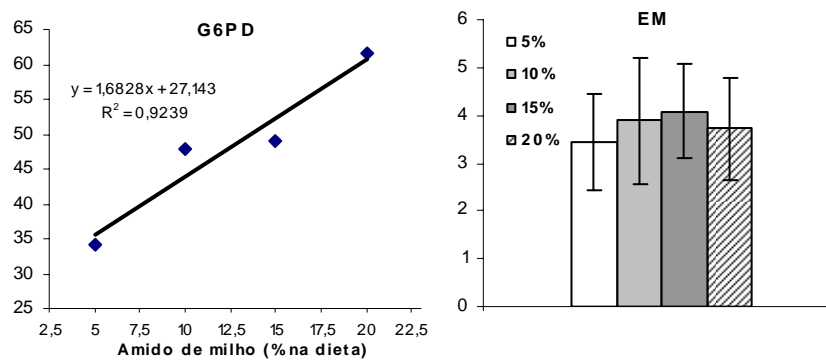


FIGURA 15 Atividade da glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) e da enzima málica analisadas no tecido hepático, valores expressos em $U.g^{-1}$ de proteína.

Um dos motivos de grande divergência entre os pesquisadores deve-se ao fato de a maioria dos peixes utilizarem lipídios e proteínas como fonte principal de energia metabólica (Hemre et al., 2002). Conseqüentemente, em altas concentrações de energia incorporada na forma de glicose, o metabolismo dos

peixes inicia o processo de lipogênese para a síntese de ácidos graxos e triglicerídeos.

Suárez et al. (1995), Dias et al. (1998) e Alvarez et al. (1999, 2000), comprovaram o aumento da lipogênese associado ao aumento nas concentrações de carboidrato na dieta em diversas espécies de peixes. O fígado apresenta uma acentuada atividade lipogênica, caracterizando uma grande facilidade dos peixes em sintetizar lipídios (Shiau & Lan, 1996; Nankervis et al., 2000). As FAZ (ácido graxo sintetase), ME (enzima málica) e a G6PD (glicose-6-fosfato desidrogenase) são as principais enzimas atuantes nesta síntese (Dias et al., 2005).

A G6PD é a principal enzima responsável pelo fornecimento de NADPH para a biossíntese de ácidos graxos (Alvarez et al., 1999). Esta enzima também é necessária para sustentar a síntese de nucleotídeos envolvidos na produção de DNA durante a fase de alto crescimento celular, por ser uma enzima chave na via das pentoses (Winzer et al., 2002). Já a contribuição do NADPH proveniente do ciclo do piruvato/malato realizado pela EM apresenta grande variação conforme a espécie estudada (Dias et al., 1998).

Borba (2008) definiu que a atividade da EM representa 50% da atividade da G6PD em piracanjubas (*Brycon orbignyanus*). Esta enzima é bastante avaliada para relacionar a capacidade de adaptação do animal a dietas com altas concentrações de carboidrato. Desta forma, o estímulo desta enzima ocorre com variações no perfil lipídico, alta disponibilidade de carboidrato ou deficiência de energia na dieta (Winzer et al., 2002; Fernández et al., 2007; Figueiredo-Silva et al., 2009).

A maior atividade da G6PD observada no fígado dos peixes alimentados com 20% de carboidrato -- juntamente com as altas concentrações de glicose hepática e aumento da glicemia nestes animais -- sugerem uma necessidade de o metabolismo recuperar suas taxas glicêmicas. Este mesmo comportamento foi

observado em sea bream (*Sparus aurata*) por Metón et al. (1999) e em catfish (*Leiocassis longirostris*) por Tan et al. (2006).

Corrêa et al. (2007) observaram que dietas com alta concentração de carboidrato promoveram aumento na glicose hepática, triglicerídios e aminoácidos no músculo de tambaqui (*Colossoma macropomum*), ao mesmo tempo em que observaram a redução nas concentrações de aminoácido hepático. Estes autores concluíram que essa espécie apresenta uma excelente adaptação a concentrações de 40% de amido de milho, sendo eficientes em reduzir o catabolismo hepático das proteínas e aumentar as concentrações de substratos energéticos, como triglicerídios e glicose no fígado, recuperando as concentrações glicêmicas. Este estudo demonstrou que mesmo peixes adaptados a altas concentrações de carboidrato utilizam, preferencialmente, os triglicerídios como fonte energética e para o transporte sanguíneo, mantendo a glicemia em níveis normais.

Uma das principais características que expressa uma boa habilidade da espécie em utilizar o carboidrato é a capacidade de manter constante sua homeostase glicêmica, como observado por Corrêa et al. (2007), em tambaqui (*Colossoma macropomum*).

Caseras et al. (2002) definiram que altas concentrações de carboidratos não inibiram a atividade de enzimas responsáveis pela síntese de glicose, como a glicose-6-fosfatase. Porém, estas mesmas concentrações aumentaram a concentração de RNAm de enzimas relacionadas à glicólise, como a glicoquinase.

Peixes carnívoros mantêm constante o processo de gliconeogênese após ingestão de altas concentrações de carboidrato e sob altos níveis glicêmicos (Deng et al., 2001), ao mesmo tempo em que aumentam a atividade da glicoquinase e hexoquinase, levando ao aumento da glicólise (Panserat et al., 2001). Conseqüentemente, a atividade destas enzimas pode ser a principal forma

de controle da glicemia em peixes (Enes et al., 2006, 2008), por apresentar grande importância na formação de substratos para a via das pentoses, síntese de ácido graxo e formação de triglicerídeos.

A G6PD inicia a via das pentoses sintetizando a 6-fosfogluconolactona, a partir da glicose-6-fosfato que, por sua vez, pode ser proveniente da glicose ou da frutose-6-fosfato. O aumento da glicemia e da glicose hepática caracteriza altas concentrações da glicose corporal, provavelmente sendo este o principal estímulo da G6PD. Peixes carnívoros apresentam maior eficiência no uso da proteína e lipídios comparativamente em relação ao carboidrato. Portanto, altas concentrações de carboidrato e baixas concentrações de proteína ou lipídios estimulam a atividade das enzimas relacionadas à glicólise e à via das pentoses (Metón et al., 1999).

A alteração nas variáveis analisadas demonstrou que o amido de milho foi digerido, absorvido e metabolizado. Para a digestão do amido é necessário a atividade das amilases presentes no pâncreas e por todo o trato digestório (Alarcón et al., 2001; Fernández et al., 2001; Krogdahl et al., 2005). Em geral, espécies carnívoras demonstram limitada atividade das amilases (Hidalgo et al., 1999; Papoutsoglou & Lyndon, 2006) e, conseqüentemente, apresentam uma intolerância a altas concentrações de amido na dieta.

Entretanto, tanto *Pseudoplatystoma corruscans* como *Pseudoplatystoma fasciatum* parecem ser uma exceção, sendo espécies carnívoras susceptíveis a altas concentrações de carboidratos. Lundstedt et al. (2004) ao adicionar 54% de milho na dieta de surubim observaram uma grande adaptação dessa espécie em apenas 28 dias experimentais. Esses autores observaram que a atividade das α -amilases presentes no trato digestório dessa espécie é altamente sensível as concentrações de carboidratos presentes na dieta. Apresentando uma correlação positiva entre a atividade das amilases e altos níveis de carboidrato.

O controle da síntese dessa enzima é realizado por fatores de transcrição, identificado por Franco (2002) como peptídeos e proteínas. O estímulo para esses fatores de transcrição em peixe ainda não é bem conhecido, porém, sabe-se que a dieta e o habitat influenciam de forma complexa nesse controle (López-Vásquez et al., 2009).

Outro fator limitante na utilização do carboidrato como fonte de energia em carnívoros é devido à absorção ser altamente dependente da glicemia. Peixes carnívoros possuem uma capacidade limitada do metabolismo em reduzir a glicemia (Caseras et al., 2002; Hemre et al., 2002), levando a uma baixa absorção do carboidrato e uma ineficiência do metabolismo em aproveitar a energia proveniente da glicose.

A utilização de carboidratos na dieta de peixes carnívoros gera grandes contradições entre os pesquisadores. Os problemas relacionados com a digestão, absorção e metabolização desses nutrientes, são dependentes da relação entre a estrutura do carboidrato, o nível na dieta e a espécie do carnívoro estudado (Krogdahl et al., 2005; Rawles et al., 2008).

O surubim é uma espécie que apresenta maior capacidade em aproveitar a energia dos nutrientes de origem vegetal, quando comparado com outras espécies carnívoras (Gonçalves & Carneiro, 2003), sendo grande parte dessa energia, proveniente do amido (Alvim et al., 2002).

Em situações onde o fornecimento de carboidrato excede a demanda de energia do animal, o principal produto da glicólise, combinada com a via das pentoses é o ácido graxo, para deposição na forma de triglicerídeos. Assim, o fígado dos peixes metaboliza a glicose reduzindo a glicemia. A alta atividade da G6PD combinada à alta concentração de glicose no fígado e hiperglicemia, após 24 horas de jejum, caracteriza a ineficiência do metabolismo animal em recuperar a homeostase. Apesar da concentração de 20% de amido de milho não demonstrar diferença significativa no desempenho dos juvenis avaliados,

provavelmente, esta pode ser uma concentração não benéfica para o animal, podendo, a longo prazo, gerar disfunções metabólicas. Hiperglicemia não foi identificada nos juvenis alimentados com a dieta contendo 15% de amido de milho, sendo esta uma provável concentração ideal, do ponto de vista metabólico para juvenis híbridos de surubim.

6 CONCLUSÃO

Pôde-se concluir que os níveis de até 20% de amido de milho na dieta de juvenis híbrido de surubim (♂ *Pseudoplatystoma corruscans* x ♀ *Pseudoplatystoma fasciatum*) não foram suficientes para interferir negativamente nas variáveis de desempenho avaliado no presente trabalho.

Entretanto, níveis de 15% e 20% de amido de milho influenciaram no aumento da glicose hepática e níveis de 20% proporcionam, também, uma elevação na glicemia dos juvenis, após 60 dias de alimentação.

O processo de lipogênese foi caracterizado pela atividade da G6PD, as quais apresentaram atividades crescentes, conforme a incorporação de amido de milho na dieta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHEARN, G. A.; BEHNKE, R. D.; ZONNO, V.; STORELLI, C. Kinetic heterogeneity of Na-D-glucose cotransport in teleost gastrointestinal tract. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 263, n. 5, p. 1018-1023, Nov. 1992.

ALARCÓN, F. J.; MARTÍNEZ, T. F.; DÍAZ, M.; MOYANO, F. J. Characterization of digestive carbohydrase activity in the gilthead seabream (*Sparus aurata*). **Hydrobiologia**, The Hague, v. 445, n. 1/3, p. 199-204, Feb. 2001.

ALVAREZ, M. J.; DÓÑEZ, A.; LOÁPEZ-BOTE, C.; GALLEGO, M.; BAUTISTA, J. M. Short-term modulation of lipogenesis by macronutrients in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 84, n. 5, p. 619-628, Nov. 2000.

ALVAREZ, M. J.; LOPEZ-BOTE, C. J.; DIEZ, A.; CORRAZE, G.; ARZEL, J.; DIAS, J.; KAUSHIK, S. J.; BAUTISTA, J. M. The partial substitution of digestible protein with gelatinized starch as an energy source reduces susceptibility to lipid oxidation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) muscle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 77, n. 12, p. 3322-3329, Dec. 1999.

ALVIM, I. D.; SGARBIERI, V. C.; CHANG, Y. K. Desenvolvimento de farinhas mistas extrusadas à base de farinha de milho, derivados de levedura e caseína. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 2, p. 170-176, maio/ago. 2002.

AOUAMEUR, R.; CAL, S.; BISSONNETTE, P.; COADY, M. J.; LAPOINTE, J. Y. SMIT2 mediates all myo-inositol uptake in apical membranes of rat small intestine. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 293, n. 6, p. 1300-1307, Dec. 2007.

ARJONA, F. J.; VARGAS-CHACOFF, L.; RUIZ-JARABO, I.; GONÇALVES, O.; PÁSCOA, I.; MARTÍN DEL RÍO, M. P.; MANCERA, J. M. Tertiary stress responses in Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) to osmotic challenge: implications for osmoregulation, energy metabolism and growth. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 287, n. 3/4, p. 419-426, Feb. 2009.

- BAKKE-MCKELLEN, A. M.; NORDRUM, S.; KROGDAHL, A.; BUDDINGTON, R. K. Absorption of glucose, amino acids, and dipeptides by the intestines of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Fish Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 22, n. 1, p. 33-44, Jan. 2000.
- BEELEN, R.; PAVANELLI, G. C.; BOYD, B.; GARAVELLO, J. C.; GUIMARÃES-BEELEN, P. M.; AINSWORTH, A. J. Production and characterization of a putative T-cell marker in hybrid surubim catfish *Pseudoplatystoma corruscans* (Agassiz) x *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linnaeus). **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, Maringá, v. 26, n. 2, p. 201-207, abr. 2004.
- BIGNOTTO, T. S.; PRIOLI, A. J.; PRIOLI, S. M. A. P.; MANIGLIA, T. C.; BONI, T. A.; LUCIO, L. C.; GOMES, V. N.; PRIOLI, R. A.; OLIVEIRA, A. V.; JÚLIO-JUNIOR, H. F.; PRIOLI, L. M. Genetic divergence between *Pseudoplatystoma corruscans* and *Pseudoplatystoma reticulatum* (Siluriformes: Pimelodidae) in the Paraná River Basin. **Brazilian Journal of Biology**, São Paulo, v. 69, n. 2, p. 681-689, June 2009.
- BLASCO, J.; FERNÁNDEZ-BORRÀS, J.; MARIMON, I.; REQUENA, A. Plasma glucose kinetics and tissue uptake in brown trout in vivo: effect of an intravascular glucose load. **Journal of Comparative Physiology**, Berlin, v. 165, n. 7, p. 534-541, Jan. 1996.
- BORBA, M. R. **Exigência energética e relação carboidrato x lipídio para alevinos de piracanjuba (*Brycon orbignyanus*)**. 2008. 60 p. Tese (Doutorado em Aquicultura em Águas Continentais) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, n. 1/2, p. 248-254, May 1976.
- BRITSKI, H. A.; SILIMON, S.; KEVE, S. **Peixes do pantanal**: manual de identificação. Brasília: EMBRAPA, 1999. 184 p.
- CAL, J. A. **Histologia do trato digestório de surubim-pintado (*Pseudoplatystoma coruscans* - agassiz - 1829)**. 2006. 88 p. Dissertação (Mestrado em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

CAMILO, R. Y. **Efeitos da adição de aminoácidos essenciais livres à dieta e da ausência de nutrientes na atividade de enzimas digestivas e no metabolismo intermediário de juvenis de matrinxã (*Brycon amazonicus*)**. 2007. 82 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Evolução) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

CAPILLA, E.; DÍAZ, M.; ALBALAT, A.; NAVARRO, I.; PESSIN, J. E.; KELLER, K.; PLANAS, J. V. Functional characterization of an insulin-responsive glucose transporter (GLUT4) from fish adipose tissue. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 287, n. 2, p. 348-357, Aug. 2004.

CASERAS, A.; METÓN, I.; VIVES, C.; EGEA, M.; FERNÁNDEZ, F.; BAANANTE, I. V. Nutritional regulation of glucose-6-phosphatase gene expression in liver of the gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 88, n. 6, p. 607-614, Dec. 2002.

CASTANEDA, F.; LAYNE, J. E.; CASTANEDA, C. Skeletal muscle sodium glucose co-transporters in older adults with type 2 diabetes undergoing resistance training. **International Journal of Medical Sciences**, Baltimore, v. 3, n. 3, p. 84-91, May 2006.

CESTAROLLI, M. A. **Larvicultura do pintado *Pseudoplatystoma coruscans* (Agassiz, 1829): aspectos da alimentação inicial e do desenvolvimento de estruturas sensoriais**. 2005. 137 p. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

COELHO, S. R. C. **Produção intensiva de surubins híbridos em gaiolas: estudos de caso**. 2005. 84 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagem) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

CORRÊA, C. F.; AGUIAR, L. H.; LUNDSTEDT, L. M.; MORAES, G. Responses of digestive enzymes of tambaqui (*Colossoma macropomum*) to dietary cornstarch changes and metabolic inferences. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, New York, v. 147, n. 4, p. 857-862, Aug. 2007.

CORRÊA, F. F.; SPERIDIÃO, P. G. L.; FERREIRA NETO, U. Estrutura e função dos carboidratos. **The Electronic Journal of Pediatric Gastroenterology**, Philadelphia, v. 10, n. 2, p. 1-6, June 2006. Disponível em: <<http://www.e-gastroped.com.br/mar08/carboidratos.htm>>. Acesso em: 4 out. 2009.

CREPALDI, D. V.; FARIA, P. M. C.; TEIXEIRA, E. A.; RIBEIRO, L. P.; COSTA, Â. A. P.; MELO, D. C.; CINTRA, A. P. R.; PRADO, S. A.; COSTA, F. A. A.; DRUMOND, M. L.; LOPES, V. E.; MORAES, V. E. Biologia reprodutiva do surubim (*Pseudoplatystoma coruscans*). **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 30, n. 3/4, p. 159-167, set. 2006.

CYRINO, J. E. P.; PORTZ, L.; MARTINO, R. C. Retenção de proteína e energia em juvenis de “Black Bass” *Micropterus salmoides*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 4, p. 609-616, dez. 2000.

DENG, D. F.; REFSTIE, S.; HUNG, S. S. O. Glycemic and glycosuric responses in white sturgeon *Acipenser transmontanus* after oral administration of simple and complex carbohydrates. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 199, n. 1/2, p. 107-117, July 2001.

DIAS, J.; ALVAREZ, M. J.; ARZEL, J.; CORRAZE, G.; DIEZ, A.; BAUTISTA, J. M.; KAUSHIK, S. J. Dietary protein source affects lipid metabolism in the European seabass (*Dicentrarchus labrax*). **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, New York, v. 142, n. 1, p. 19-31, Sept. 2005.

DIAS, J.; ALVAREZ, M. J.; DIEZ, A.; ARZEL, J.; CORRAZE, G.; BAUTISTA, J. M.; KAUSHIK, S. J. Regulation of hepatic lipogenesis by dietary proteinenergy in juvenile European seabass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 161, n. 1/4, p. 169-186, Feb. 1998.

DROZDOWSKI, L.; THOMSON, A. B. R. Intestinal mucosal adaptation. **World Journal Gastroenterology**, Philadelphia, v. 12, n. 29, p. 4614-4627, Aug. 2006.

ENES, P.; PANSEERAT, S.; KAUSHIK, S.; OLIVA-TELES, A. Effect of normal and waxy maize starch on growth, food utilization and hepatic glucose metabolism in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, New York, v. 143, n. 1, p. 89-96, Jan. 2006.

ENES, P.; PANSEERAT, S.; KAUSHIK, S.; OLIVA-TELES, A. Hepatic glucokinase and glucose-6-phosphatase responses to dietary glucose and starch in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles reared at two temperatures. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, New York, v. 149, n. 1, p. 80-86, Jan. 2008.

EUCLYDES, R. F. **Manual de utilização do programa SAEG - Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas**. Viçosa, MG: UFV, 1997. 150 p.

FAGBENRO, O.; ADEDIRE, C. O.; AYOTUNDE, E. O.; FAMINU, E. O. Haematological profile, food composition and digestive enzyme assay in the gut of the African bonytongue fish, *Heterotis (Clupisudis) niloticus* (Cuvier 1829) (Osteoglossidae). **Tropical Zoology**, Firenze, v. 13, n. 1, p. 1-9, Oct. 2000.

FAUSTINO, F.; NAKAGHI, L. S. O.; MARQUES, C.; MAKINO, L. C.; SENHORINI, J. A. Fertilização e desenvolvimento embrionário: morfometria e análise estereomicroscópica dos ovos dos híbridos de surubins (pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* x cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum*). **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, Maringá, v. 29, n. 1, p. 49-55, mar. 2007.

FERNÁNDEZ, F.; MIQUEL, A. G.; CÓRDOBA, M.; VARAS, M.; METÓN, I.; CASERAS, A.; BAANANTE, I. V. Effects of diets with distinct protein-to-carbohydrate ratios on nutrient digestibility, growth performance, body composition and liver intermediary enzyme activities in gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) fingerlings. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, Amsterdam, v. 343, n. 1, p. 1-10, Oct. 2007.

FERNÁNDEZ, I.; MOYANO, F. J.; DÍAZ, M.; MARTÍNEZ, T. Characterization of a-amylase activity in five species of Mediterranean sparid fishes (*Sparidae*, *Teleostei*). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, Amsterdam, v. 262, n. 1, p. 1-12, July 2001.

FERRARIS, R. P. Dietary and developmental regulation of intestinal sugar transport. **Biochemical Society**, London, v. 360, n. 1, p. 265-276, Dec. 2001.

FIGUEIREDO-SILVA, A. C.; CORRAZE, G.; REMA, P.; SANCHEZ-GURMACHES, J.; GUTIÉRREZ, J.; VALENTE, L. M. P. Blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*) lipogenic and glycolytic pathways appear to be more related to dietary protein level than dietary starch type. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 291, n. 1/2, p. 101-110, June 2009.

FRANCO, O. L. Plant a-amylase inhibitors and their interaction with insect a-amylases structure, function and potential for crop protection. **European Journal of Biochemistry**, Berlin, v. 269, n. 2, p. 397-412, Jan. 2002.

FU, S. J.; XIE, X. J. Nutritional homeostasis in carnivorous southern catfish (*Silurus meridionalis*): is there a mechanism for increased energy expenditure during carbohydrate overfeeding? **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, New York, v. 139, n. 3, p. 359-363, Nov. 2004.

FUJIMOTO, R. Y.; CARNEIRO, D. J. Adição de ascorbil polifosfato, como fonte de vitamina C, em dietas para alevinos de pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* (Agassiz, 1829). **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, Maringá, v. 23, n. 4, p. 855-861, jul. 2001.

GEURDEN, I.; ARAMENDI, M.; ZAMBONINO-INFANTE, J.; PANSERAT, S. Early feeding of carnivorous rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with a hyperglucidic diet during a short period: effect on dietary glucose utilization in juveniles. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 292, n. 6, p. 2275-2283, June 2007.

GODINHO, H. P. Estratégias reprodutivas de peixes aplicadas à aquicultura: bases para o desenvolvimento de tecnologias de produção. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 31, n. 3, p. 351-360, jun. 2007.

GONÇALVES, E. G.; CARNEIRO, D. J. Coeficientes de digestibilidade aparente da proteína e energia de alguns ingredientes utilizados em dietas para o pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 32, n. 4, p. 779-786, dez. 2003.

GONÇALVES, R. A.; SANTOS, J. P.; TOMÉ, P. H. F.; PEREIRA, R. G. F. A.; ASCHERI, J. L. R.; ABREU, C. M. P. Rendimento e composição química de cultivares de milho em moagem a seco e produção de *GRITS*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 3, p. 643-650, maio 2003.

HABER, E. P.; CURI, R.; CARVALHO, C. R. O.; CARPINELLI, A. R. Secreção da insulina: efeito autócrino da insulina e modulação por ácidos graxos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v. 45, n. 3, p. 219-227, jun. 2001.

HALL, J. R.; SHORT, C. E.; DRIEDZIC, W. R. Sequence of Atlantic cod (*Gadus morhua*) GLUT4, GLUT2 and GPDH: developmental stage expression, tissue expression and relationship to starvation-induced changes in blood glucose. **Journal of Experimental Biology**, Cambridge, v. 209, n. 22, p. 4490-4502, Sept. 2006. Disponível em: <<http://intl-jeb.biologists.org/content/vol209/issue22/>>. Acesso em: 5 out. 2009.

HANSEN, A. C.; ROSENLUND, G.; KARLSEN, O.; KOPPE, W.; HEMRE, G. I. Total replacement of fish meal with plant proteins in diets for Atlantic cod (*Gadus morhua* L.): I., effects on growth and protein retention. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 272, n. 1/4, p. 599-611, Nov. 2007.

HAZZARD, C. E.; AHEARN, G. A. Rapid stimulation of intestinal D-glucose transport in teleosts by 17 alpha-methyltestosterone. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 262, n. 3, p. 412-418, Mar. 1992.

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

HIDALGO, M. C.; UREA, E.; SANZ, A. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 170, n. 3/4, p. 267-283, Jan. 1999.

HUTCHINS, C. G.; RAWLES, S. D.; GATLIN, D. M. Effects of dietary carbohydrate kind and level on growth, body composition and glycemic response of juvenile sunshine bass (*Morone chrysops* = *M. saxatilis*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 161, n. 1/4, p. 187-199, Feb. 1998.

JORGE, J. R. V.; ZEOULA, L. M.; PRADO, I. N.; GERON, L. J. V. Substituição do milho pela farinha de varredura (*Manihot esculenta*, Crantz) na ração de bezerros holandeses. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 31, n. 1, p. 205-212, jan./fev. 2002.

KIKUTA, H.; LAPLANTE, M.; NAVRATILOVA, P.; KOMISARCZUK, A. Z.; ENGSTRÖM, P. G.; FREDMAN, D.; AKALIN, A.; CACCAMO, M.; SEALY, I.; HOWE, K.; GHISLAIN, J.; PEZERON, G.; MOURRAIN, P.; ELLINGSEN, S.; OATES, A. C.; THISSE, C.; THISSE, B.; FOUCHER, I.; ADOLF, B.; GELING, A.; LENHARD, B.; BECKER, T. S. Genomic regulatory blocks encompass multiple neighboring genes and maintain conserved synteny in vertebrates. **Genome Research**, Cold Spring Harbor, v. 17, n. 5, p. 545-555, May 2007.

KLIP, A.; VOLCHUK, A.; HE, L. J.; TSAKIRIDIS, T. The glucose transporters of skeletal muscle. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, London, v. 7, n. 2, p. 229-237, Apr. 1996.

- KRASNOV, A.; TEERIJOKI, H.; MOLSA, H. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatic glucose transporter. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1520, n. 2, p. 174-178, Aug. 2001.
- KROGDAHL, A.; HEMRE, G. I.; MOMMSEN, T. P. Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 11, n. 2, p. 103-122, Apr. 2005.
- KUBITZA, F.; CAMPOS, J. L.; BRUM, J. A. Produção intensiva de surubins no projeto Pacu Ltda. e Agroepeixe Ltda. In: AQUICULTURA BRASIL, 1., 1998, Recife. **Anais...** Recife: UFPE, 1998. p. 393-407.
- LIMA, L. C. **Estresse e crescimento de surubim *Pseudoplatystoma* spp.** 2003. 33 p. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- LÓPEZ-VÁSQUEZ, K.; CASTRO-PÉREZ, C. A.; VAL, A. L. Digestive enzymes of eight Amazonian teleosts with different feeding habits. **Journal of Fish Biology**, London, v. 74, n. 7, p. 1620-1628, May 2009.
- 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 and Physiology, Part B**, New York, v. 137, n. 3, p. 331-339, Mar. 2004.
- MACHADO, U. F.; SCHAAN, B. D.; SERAPHIM, P. M. Transportadores de glicose na síndrome metabólica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v. 50, n. 2, p. 177-189, abr. 2006.
- MARTINO, R. C.; CYRINO, J. E. P.; PORTZ, L.; TRUGO, L. C. Effect of dietary lipid level on nutritional performance of the surubim, *Pseudoplatystoma corruscans*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 209, n. 1/4, p. 209-218, June 2002.
- MARTINO, R. C.; CYRINO, J. E. P.; PORTZ, L.; TRUGO, L. C. Performance, carcass composition and nutrient utilization of surubim *Pseudoplatystoma corruscans* (Agassiz) fed diets with varying carbohydrate and lipid levels. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 11, n. 2, p. 131-137, Apr. 2005.
- MARTINS, C. A. S. **Efeito da utilização de dreches de cerveja na digestibilidade, atividade fermentativa e morfologia intestinal do leitão ao desmame.** 2009. 80 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Zootécnica - Produção Animal) - Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.

MCGOWAN, K. M.; LONG, S. D.; PEKALA, P. H. Glucose transporter gene expression: regulation of transcription and mRNA stability. **Pharmacology and Therapeutics**, Saint Louis, v. 66, n. 3, p. 465-505, 1995.

MENOYO, D.; DIEZ, A.; LOPEZ-BOTE, C. J.; CASADO, S.; OBACH, A.; BAUTISTA, J. M. Dietary fat type affects lipid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and differentially regulates glucose transporter GLUT4 expression in muscle. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 261, n. 1, p. 294-304, Nov. 2006.

METÓN, I.; MEDIAVILLA, D.; CASERAS, A.; CANTÓ, E.; FERNÁNDEZ, F.; BAANANTE, I. V. Effect of diet composition and ration size on key enzyme activities of glycolysis-gluconeogenesis, the pentose phosphate pathway and amino acid metabolism in liver of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 82, n. 3, p. 223-232, Sept. 1999.

METWALLY, I. M. A. A.; EL-GELLAL, A. M. Used of some plant wastes for fish feeding with reference on its impact on growth performance and body composition. **World Applied Sciences Journal**, Oxford, v. 6, n. 10, p. 1309-1313, Oct. 2009.

MOON, T. W. Glucose intolerance in teleost fish: fact or fiction? **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, New York, v. 129, n. 2/3, p. 243-249, June 2001.

MOTTA, V. T. **Bioquímica**. Caxias do Sul: EDUCS, 2005. 332 p.

NANKERVIS, L.; MATTHEWS, S. J.; APPLEFORD, P. Effect of dietary non-protein energy source on growth, nutrient retention and circulating insulin-like growth factor I and triiodothyronine levels in juvenile barramundi, *Lates calcarife*. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 191, n. 4, p. 323-335, Dec. 2000.

NAVARRO, I.; LEIBUSH, B.; MOON, T. W.; PLISETSKAYA, E. M.; BAÑOS, N.; MÉNDEZ, E.; PLANAS, J. V.; GUTIÉRREZ, J. Insulin, insulin-like growth factor-I (IGF-I) and glucagon: the evolution of their receptors. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, New York, v. 122, n. 2, p. 137-168, Feb. 1999.

- NORDRUM, S.; BAKKE-MCKELLEP, A. M.; KROGDAHL, A.; BUDDINGTON, R. K. Effects of soybean meal and salinity on intestinal transport of nutrients in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, New York, v. 125, n. 3, p. 317-335, Mar. 2000.
- PANSERAT, S.; CAPILLAB, E.; GUTIERREZB, J.; FRAPPARTA, P. O.; VACHOTA, C.; PLAGNES-JUANA, E.; AGUIRREA, P.; BRÉQUEA, J.; KAUSHIKA, S. Glucokinase is highly induced and glucose-6-phosphatase poorly repressed in liver of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*/ by a single meal with glucose. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, New York, v. 128, n. 2, p. 275-283, Feb. 2001.
- PAPOUTSOGLOU, E. S.; LYNDON, A. R. Digestive enzymes along the alimentary tract of the parrotfish *Sparisoma cretense*. **Journal of Fish Biology**, London, v. 69, n. 1, p. 130-140, June 2006.
- PLANAS, J. V.; CAPILLA, E.; GUTIERREZ, J. Molecular identification of a glucose transporter from fish muscle. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 481, n. 3, p. 266-270, Sept. 2000.
- RAMÍREZ, A. P. M. **Utilização de carboidratos digestíveis em dietas para pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887)**. 2005. 138 p. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- RAWLES, S.; LOCHMANN, R. Effects of amylopectin/amylase starch ratio on growth, body composition and glycemic response of sunshine bass *Morone chrysops* x *M. saxatilis*). **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 34, n. 3, p. 278-288, Sept. 2003.
- RAWLES, S. D.; SMITH, S. B.; GATLIN, D. M. Hepatic glucose utilization and lipogenesis of hybrid striped bass (*Morone chrysops* · *Morone saxatilis*) in response to dietary carbohydrate level and complexity. **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 14, n. 1, p. 40-50, Feb. 2008.
- RESHKIN, S. J.; AHEARN, G. A. Basolateral glucose transport by intestine of teleost, *Oreochromis mossambicus*. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 252, n. 3, p. 579-586, 1987a.
- RESHKIN, S. J.; AHEARN, G. A. Intestinal glucose transport and salinity adaptation in a euryhaline teleost. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 252, n. 3, p. 567-578, 1987b.

RIBEIRO, P. A. P. **Efeito de fontes de ácidos graxos na dieta e da redução da temperatura sobre o metabolismo lipídico de tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*) e trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*)**. 2007. 162 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

ROMAGOSA, E.; PAIVA, P.; GODINHO, H. M.; ANDRADE-TALMELLI, E. F. Características morfométricas e crescimento do cachara, *Pseudoplatystoma fasciatum* em cativeiro. **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, Maringá, v. 2, n. 7, p. 277-283, set. 2003.

ROTTA, M. A. **Situação da piscicultura sul-matogrossense e suas perspectivas no Pantanal**. Corumbá: EMBRAPA Pantanal, 2003. 43 p. (Documentos, 46).

ROY, S. S.; MUKHERJEE, M.; BHATTACHARYA, S.; MANDAL, C. N.; RAVI KUMAR, L.; DASGUPTA, S.; BANDYOPADHYAY, I.; WAKABAYASHI, K. A new cell secreting insulin. **Endocrinology**, Baltimore, v. 144, n. 4, p. 1585-1593, Apr. 2003.

SEIXAS FILHO, J. T. Uma revisão sobre o papel do carboidrato e da proteína no metabolismo de peixes com hábitos alimentar carnívoro e onívoro. **Centro Universitário Augusto Motta**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 18, p. 1-72, jun. 2004.

SHIAU, S. Y.; LAN, C. W. Optimum dietary protein level and protein to energy ratio for growth of grouper (*E'inephelus malabaricus*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 145, n. 1/4, p. 259-266, Oct. 1996.

SOENGAS, J. L.; MOON, T. W. Transport and metabolism of glucose in isolated enterocytes of the black bullhead *ictalurus melas*: effects of diet and hormones. **Journal of Experimental Biology**, Cambridge, v. 201, n. 23, p. 3263-3273, Dec. 1998.

SOENGAS, J. L.; POLAKOF, S.; CHEN, X.; SANGIAO-ALVARELLOS, S.; MOON, T. W. Glucokinase and hexokinase expression and activities in rainbow trout tissues: changes with food deprivation and refeeding. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 291, n. 3, p. 810-821, Sept. 2006.

SUÁREZ, M. D.; HIDALGO, M. C.; GALLEGO, M. G.; SANZ, A.; HIGUERA, M. Influence of the relative proportions of energy yielding nutrients on liver intermediary metabolism of the European eel. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, New York, v. 111, n. 3, p. 421-428, July 1995.

SUL, H. S.; WANG, D. Nutritional and hormonal regulation of enzymes in fat synthesis: studies of fatty acid synthase and mitochondrial glycerol-3-phosphate acyltransferase gene transcription. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v. 18, n. 1, p. 331-351, Jan. 1998.

TAN, Q.; ZHU, S.; XIE, X.; LEI, W.; YANG, Y. Effect of dietary carbohydrate sources on growth performance and utilization for gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) and Chinese longsnout catfish (*Leiocassis longirostris* Günther). **Aquaculture Nutrition**, Oxford, v. 12, n. 1, p. 61-70, Feb. 2006.

TEROVA, G.; RIMOLDI, S.; BRAMBILLA, F.; GORNATI, R.; BERNARDINI, G.; SAROGLIA, M. In vivo regulation of GLUT2 mRNA in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in response to acute and chronic hypoxia. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, New York, v. 152, n. 4, p. 306-316, Apr. 2009.

THEODORO, A. C. M. **Efeito de peso e de sexo sobre as características de processamento de surubins (*Pseudoplatystoma* sp.) cultivados**. 2004. 88 p. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande.

WANG, J. T.; LIU, Y. J.; TIAN, L. X.; MAI, K. S.; DU, Z. Y.; WANG, Y.; YANG, H. J. Effect of dietary lipid level on growth performance, lipid deposition, hepatic lipogenesis in juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 249, n. 1/4, p. 439-447, Sept. 2005.

WINZER, K.; NOORDEN, C. J. F. V.; KOHLER, A. Glucose-6-phosphate dehydrogenase: the key to sex-related xenobiotic toxicity in hepatocytes of European flounder (*Platichthys flesus* L.)? **Aquatic Toxicology**, Amsterdam, v. 56, n. 4, p. 275-288, Mar. 2002.

WRIGHT, J. R.; O'HALI, W.; YANG, H.; HAN, X. X.; BONEN, A. Glut-4 deficiency and severe peripheral resistance to insulin in the teleost fish tilapia. **General and comparative Endocrinology**, San Diego, v. 111, n. 1, p. 20-27, July 1998.

YEN, J. T. Anatomy of the digestive system and nutritional physiology. **Swine nutrition**. 2. ed. New York: A.J. Lewis, 2001. p. 32-58.

YURDAGÜL, Z.; HANNS-WOLF, B.; SILBERMANN, A.; ECKHART, G. H.; MARTIN, R. The differential diagnosis of food intolerance. **Deutsches Ärzteblatt International**, Munchen, v. 106, n. 21, p. 359-370, 2009.

ZEMKE-WHITE, W. L.; CLEMENTS, K. D.; HARRIS, P. J. Acid lysis of macroalgae by marine herbivorous fishes: myth or digestive mechanism. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, Amsterdam, v. 233, n. 1, p. 95-113, Jan. 1999.

ZHONG, Y.; MADHUJITH, T.; MAHFOUZ, N.; SHAHIDI, F. Compositional characteristics of muscle and visceral oil from steelhead trout and their oxidative stability. **Food Chemistry**, London, v. 104, n. 2, p. 602-608, Dec. 2007.

ZIERLER, K. Whole body glucose metabolism. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 276, n. 3, p. 409-426, Mar. 1999.

ANEXOS

ANEXO A

TABELA 1A	Análise de variância do comprimento total após 15 dias de alimentação.....	68
TABELA 2A	Análise de variância do peso total após 15 dias de alimentação.....	68
TABELA 3A	Análise de variância do comprimento total após 30 dias de alimentação.....	68
TABELA 4A	Análise de variância do peso total após 30 dias de alimentação.....	69
TABELA 5A	Análise de variância do comprimento total após 45 dias de alimentação.....	69
TABELA 6A	Análise de variância do peso total após 45 dias de alimentação.....	69
TABELA 7A	Análise de variância do comprimento total após 60 dias de alimentação.....	70
TABELA 8A	Análise de variância do peso total após 60 dias de alimentação.....	70
TABELA 9A	Análise de variância da conversão alimentar após 60 dias de alimentação.....	70
TABELA 10A	Análise de variância da eficiência protéica após 60 dias de alimentação.....	71
TABELA 11A	Análise de variância da eficiência energética após 60 dias de alimentação.....	71
TABELA 12A	Análise de variância do crescimento específico após 60 dias de alimentação.....	71

TABELA 13A	Análise de variância do ganho de peso específico após 60 dias de alimentação.....	72
TABELA 14A	Análise de variância da retenção de proteína no músculo após 60 dias de alimentação.....	72
TABELA 15A	Análise de variância do ganho de peso.....	72
TABELA 16A	Análise de variância do crescimento.....	73
TABELA 17A	Análise de variância da concentração de glicose no muscular.....	73
TABELA 18A	Análise de variância da concentração de glicose no plasma.....	73
TABELA 19A	Análise de variância da concentração de glicose no fígado.....	74
TABELA 20A	Análise de variância da concentração de proteína no músculo.....	74
TABELA 21A	Análise de variância da concentração de proteína no plasma.....	74
TABELA 22A	Análise de variância da concentração de proteína no fígado.....	75
TABELA 23A	Análise de variância da concentração de triglicerídios no músculo.....	75
TABELA 24A	Análise de variância da concentração de triglicerídios no plasma.....	75
TABELA 25A	Análise de variância da concentração de triglicerídios no fígado.....	76
TABELA 26A	Análise de variância da atividade específica da glicose-6-fosfato desidrogenase.....	76
TABELA 27A	Análise de variância da atividade específica da glicose-6-fosfato desidrogenase.....	76

TABELA 28A	Análise de variância da atividade específica da enzima málica.....	77
TABELA 29A	Análise de variância do índice hepatossomático após 15 dias de alimentação.....	77
TABELA 30A	Análise de variância do índice hepatossomático após 30 dias de alimentação.....	77
TABELA 31A	Análise de variância do índice hepatossomático após 45 dias de alimentação.....	78
TABELA 32A	Análise de variância do índice hepatossomático após 60 dias de alimentação.....	78

ANEXO B

TABELA 1B	Teste de regressão para a atividade específica da glicose-6-fosfato desidrogenase.....	79
TABELA 2B	Pontos da reta analítica da atividade específica da glicose-6-fosfato desidrogenase.....	79
TABELA 3B	Análise da equação da regressão linear.....	79

ANEXO C

PROTOCOLO 1C	Ensaio cinético para determinação da atividade de enzima málica (E.C. 1.1.1.40).....	80
PROTOCOLO 2C	Ensaio cinético para determinação da atividade de glicose-6-P desidrogenase (E.C. 1.1.1.49).....	82

ANEXO A

TABELA 1A Análise de variância do comprimento total após 15 dias de alimentação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	4.364583	1.454861	1.593	0.23274
Bloco	5	78.42708	15.68542	17.176	0.0000
Erro	15	13.69792	0.9131944		
CV* (%) =		3.661			

*Coeficiente de variação.

TABELA 2A Análise de variância do peso total após 15 dias de alimentação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	496.5946	165.5315	2.029	0.15310
Bloco	5	9056.082	1811.216	22.198	0.00000
Erro	15	1223.913	81.59419		
CV* (%) =		8.815			

*Coeficiente de variação.

TABELA 3A Análise de variância do comprimento total após 30 dias de alimentação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	2.984583	0.9948611	0.847	*****
Bloco	5	47.50208	9.500417	8.086	0.00071
Erro	15	17.62292	1.174861		
CV* (%) =		3.941			

*Coeficiente de variação.

TABELA 4A Análise de variância do peso total após 30 dias de alimentação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	172.6100	57.53667	0.259	*****
Bloco	5	11417.25	2283.450	10.284	0.00020
Erro	15	3330.740	222.0493		
CV* (%) =		11.878			

*Coeficiente de variação.

TABELA 5A Análise de variância do comprimento total após 45 dias de alimentação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	6.281250	2.093750	1.077	0.38857
Bloco	5	48.05208	9.610417	4.944	0.00714
Erro	15	29.15625	1.943750		
CV* (%) =		4.790			

*Coeficiente de variação.

TABELA 6A Análise de variância do peso total após 45 dias de alimentação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	1129.200	376.4000	0.630	****
Bloco	5	11705.51	2341.103	3.919	0.01794
Erro	15	8960.485	597.3657		
CV* (%) =		16.786			

*Coeficiente de variação.

TABELA 7A Análise de variância do comprimento total após 60 dias de alimentação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	2.559028	0.8530093	1.228	0.33411
Bloco	5	12.39931	2.479861	3.570	0.02516
Erro	15	10.42014	0.6946759		
CV* (%) =		2.610			

*Coeficiente de variação.

TABELA 8A Análise de variância do peso total após 60 dias de alimentação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	879.4465	293.1488	1.053	0.39811
Bloco	5	4849.181	969.8361	3.484	0.02741
Erro	15	4175.875	278.3917		
CV* (%) =		7.904			

*Coeficiente de variação.

TABELA 9A Análise de variância da conversão alimentar após 60 dias de alimentação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	0.0905416	0.0301805	1.292	0.31333
Bloco	5	0.7037922	0.1407584	6.027	0.00299
Erro	15	0.3503267	0.0233551		
CV* (%) =		14.634			

*Coeficiente de variação.

TABELA 10A Análise de variância da eficiência protéica após 60 dias de alimentação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	0.3123928	0.1041309	1.245	0.32861
Bloco	5	2.938673	0.5877345	7.024	0.00145
Erro	15	1.255062	0.0836707		
CV* (%) =		13.465			

*Coeficiente de variação.

TABELA 11A Análise de variância da eficiência energética após 60 dias de alimentação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	0.0042164	0.0014054	0.981	*****
Bloco	5	0.0504161	0.0100832	7.039	0.00143
Erro	15	0.0214868	0.0014324		
CV* (%) =		13.486			

*Coeficiente de variação.

TABELA 12A Análise de variância do crescimento específico após 60 dias de alimentação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	0.0007108	0.0002369	1.228	0.33411
Bloco	5	0.0162643	0.0032528	16.857	0.00001
Erro	15	0.0028944	0.0001929		
CV* (%) =		10.550			

*Coeficiente de variação.

TABELA 13A Análise de variância do ganho de peso específico após 60 dias de alimentação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	0.2442907	0.0814302	1.053	0.39811
Bloco	5	2.717090	0.5434180	7.027	0.00144
Erro	15	1.159965	0.0773310		
CV* (%) =		13.476			

*Coeficiente de variação.

TABELA 14A Análise de variância da retenção de proteína no músculo após 60 dias de alimentação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	0.0243683	0.0081227	1.444	0.26957
Bloco	5	0.0604244	0.0120848	2.148	0.11540
Erro	15	0.0843900	0.0056260		
CV* (%) =		15.931			

*Coeficiente de variação.

TABELA 15A Análise de variância do ganho de peso.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	879.4465	293.1488	1.053	0.39811
Bloco	5	9781.525	1956.305	7.027	0.00144
Erro	15	4175.875	278.3917		
CV* (%) =		13.476			

*Coeficiente de variação.

TABELA 16A Análise de variância do crescimento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	2.559028	0.8530093	1.228	0.33411
Bloco	5	58.55157	11.71031	16.857	0.00001
Erro	15	10.42014	0.6946759		
CV* (%) =		10.550			

*Coeficiente de variação

TABELA 17A Análise de variância da concentração de glicose no muscular.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	0.26560	0.08853	1.702	0.20929
Bloco	5	0.03854	0.00770	0.148	*****
Erro	15	0.78022	0.05201		
CV* (%) =		20.408			

*Coeficiente de variação.

TABELA 18A Análise de variância da concentração de glicose no plasma.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	1.00278	0.33426	12.068	0.0002
Bloco	5	0.21728	0.04345	1.569	0.2284
Erro	15	0.41547	0.02769		
CV* (%) =		20.822			

*Coeficiente de variação.

TABELA 19A Análise de variância da concentração de glicose no fígado.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	88.82046	29.60682	3.341	0.04781
Bloco	5	81.49961	16.29992	1.839	0.16551
Erro	15	132.9237	8.861580		
CV* (%) =		14.196			

*Coeficiente de variação.

TABELA 20A Análise de variância da concentração de proteína no músculo.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	85.50258	28.50086	1.511	0.25221
Bloco	5	201.8234	40.36467	2.140	0.11643
Erro	15	282.8801	18.85867		
CV* (%) =		15.997			

*Coeficiente de variação.

TABELA 21A Análise de variância da concentração de proteína no plasma.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	0.381406	0.1271354	0.547	****
Bloco	5	1.76692	0.353385	1.519	0.24244
Erro	15	3.48875	0.2325833		
CV* (%) =		12.203			

*Coeficiente de variação.

TABELA 22A Análise de variância da concentração de proteína no fígado.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	546.281	182.0938	1.212	0.33941
Bloco	5	1252.069	250.4137	1.667	0.20315
Erro	15	2253.326	150.2217		
CV* (%) =		14.836			

*Coeficiente de variação.

TABELA 23A Análise de variância da concentração de triglicerídios no músculo.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	0.05638	0.01879	0.185	*****
Bloco	5	0.61265	0.12253	1.208	0.3523
Erro	15	1.52128	0.10141		
CV* (%) =		28.197			

*Coeficiente de variação.

TABELA 24A Análise de variância da concentração de triglicerídios no plasma.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	0.7246493	0.2415498	0.980	****
Bloco	5	1.079584	0.2159168	0.876	****
Erro	15	3.697100	0.2464734		
CV* (%) =		31.190			

*Coeficiente de variação.

TABELA 25A Análise de variância da concentração de triglicerídios no fígado.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	226.5007	75.50024	3.965	0.02892
Bloco	5	124.4800	24.89599	1.307	0.31281
Erro	15	285.6351	19.04234		
CV* (%) =		20.339			

*Coeficiente de variação.

TABELA 26A Análise de variância da atividade específica da glicose-6-fosfato desidrogenase.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	2298.897	766.2991	3.704	0.03556
Bloco	5	1763.733	352.7465	1.705	0.19414
Erro	15	3103.337	206.8891		
CV* (%) =		29.855			

*Coeficiente de variação.

TABELA 27A Análise de variância da atividade específica da glicose-6-fosfato desidrogenase.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	2298.897	766.2991	3.704	0.03556
Bloco	5	1763.733	352.7465	1.705	0.19414
Erro	15	3103.337	206.8891		
CV* (%) =		29.855			

*Coeficiente de variação.

TABELA 28A Análise de variância da atividade específica da enzima málica.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	1.275378	0.4251261	0.109	****
Bloco	5	59.64648	11.92930	3.070	0.0418
Erro	15	58.28417	3.885612		
CV* (%) =		52.083			

*Coeficiente de variação.

TABELA 29A Análise de variância do índice hepatossomático após 15 dias de alimentação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	0.066914	0.0223049	1.924	0.1690
Bloco	5	0.1206553	0.0241310	2.082	0.1246
Erro	15	0.1738802	0.0115920		
CV* (%) =		13.577			

*Coeficiente de variação.

TABELA 30A Análise de variância do índice hepatossomático após 30 dias de alimentação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	0.0367563	0.0122521	0.996	****
Bloco	5	0.1472117	0.0294423	2.394	0.08718
Erro	15	0.1844638	0.122975		
CV* (%) =		14.209			

*Coeficiente de variação.

TABELA 31A Análise de variância do índice hepatossomático após 45 dias de alimentação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	0.0417452	0.0139150	0.381	*****
Bloco	5	0.0654290	0.0130858	0.358	*****
Erro	15	0.5483709	0.0365580		
CV* (%) =		27.119			

*Coeficiente de variação.

TABELA 32A Análise de variância do índice hepatossomático após 60 dias de alimentação.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	3	0.0911451	0.0303817	2.471	0.10173
Bloco	5	0.0263901	0.0052780	0.429	*****
Erro	15	0.1844411	0.0122960		
CV* (%) =		15.866			

*Coeficiente de variação.

ANEXO B

TABELA 1B Teste de regressão para a atividade específica da glicose-6-fosfato desidrogenase.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	Fc	Prob.<F
Linea	1	2123,878708	2123,878708	10,266	0,006
Quadrática	1	2,343750	2,343750	0,011	0,917
Desvio	1	172,617648	172,617648	0,834	0,375
Resíduo	15	3103,272965	206,884864		
R2 92,39% (linear)					

TABELA 2B Pontos da reta analítica da atividade específica da glicose-6-fosfato desidrogenase.

Gramas de amido de milho em 100 gramas de ração	Atividades observadas	Atividades estimadas
5	34,045333	35,557200
10	47,881833	43,971233
15	49,099667	52,385267
20	61,686167	60,799300

TABELA 3B Análise da equação da regressão linear.

Parâmetro	S.Q.	Q.M.	Fc	Prob.<F
Constante	27,143167	7,19174639	3,774	0,0018
Valor de B	1,682807	0,52521090	3,204	0,0059
R2 92,39% (linear)				

ANEXO C

PROTÓCOLO 1C. Ensaio cinético para determinação da atividade de enzima málica (E.C. 1.1.1.40)

Conditions: T = 25°C, pH = 7,4, A 340nm, Light path = 1 cm
Method: Continuous Spectrophotometric Rate Determination

Reagents:

- A. 100 mM Triethanolamine HCl Buffer, pH 7.4 at 25°C (Prepare 100 ml in deionized water using Triethanolamine, Hydrochloride, Adjust to pH 7.4 at 25°C with 1 M NaOH);
- B. 100 mM L-Malic Acid Solution (Malic Acid) (Prepare 5 ml in deionized water using L (-) Malic Acid, Free Acid);
- C. 20 mM b-Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate, Oxidized Form, Solution (NADP) (Prepare 2 ml in deionized water using b-Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate, Sodium Salt or b-Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate, Sodium Salt);
- D. 20 mM Manganese Chloride Solution (MnCl₂); (Prepare 25 ml in deionized water using Manganese Chloride, Tetrahydrate)
- E. Malic Enzyme Solution (Immediately before use, prepare a solution containing 0.25 - 0.50 unit/ml of Malic Enzyme in cold deionized water).

Enzymatic Assay:

Pipette (in %) the following reagents into suitable cuvettes:

	Test	Blank
Reagent A (Buffer)	66,66	66,66
Reagent B (Malic Acid)	3,34	3,34
Reagent C (NADP)	1,66	1,66
Reagent D (MnCl ₂)	25,00	25,00
Mix by inversion and equilibrate to 25°C. Monitor the A _{340nm} until constant, using a suitably thermostatted spectrophotometer. Then add:		
	Test	Blank
Reagent E (Enzyme Solution)	3,34	-----
Deionized Water	-----	3,34

Immediately mix by inversion and monitor the increase in A_{340nm} for approximately 10 minutes.

Obtain the DA_{340nm}/minute using the maximum linear rate for both the Test and Blank.

Calculations:

$$\text{Units/ml enzyme} = [(\Delta A_{340\text{nm/min Test}} - \Delta A_{340\text{nm/min Blank}}) (0,3)(df)] / (6,22)(0,01)$$

0,3 = total volume (in milliliters) of assay

df = Dilution factor

6.22 = Millimolar extinction coefficient of b-NADPH at 340 nm

0,01 = Volume (in milliliter) of enzyme used

Units/mg solid = [units/ml enzyme]/mg solid/ml enzyme

Units/mg protein = [units/ml enzyme]/mg protein/ml enzyme

Referência: SPINA, J.; BRIGHT, H.J.; ROSENBLOOM, J. Purification and properties of L-malic enzyme from *Escherichia coli*. **Biochemistry**, v.9, p.29-39, 1966. Citado por RIBEIRO, Paula Adriane Perez. **Efeito de fontes de ácidos graxos na dieta e da redução da temperatura sobre o metabolismo lipídico de tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*) e trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*).** 2007. 162p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG

PROTÓCOLO 2C. Ensaio cinético para determinação da atividade de glicose-6-P desidrogenase (E.C. 1.1.1.49)

Conditions: T = 25°C, pH = 7.4, A340nm, Light path = 1 cm

Method: Continuous Spectrophotometric Rate Determination

Reagents:

- A. 250 mM Glycylglycine Buffer pH 7,4 (Prepare 100 ml in deionized water using Glycylglycine, Free Base, adjust pH with 1 M NaOH);
- B. 60 mM D-Glucose 6-Phosphate Solution (G 6-P) (Prepare 2 ml in deionized water using D-Glucose-6-Phosphate, Monosodium Salt);
- C. 20 mM β -Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Solution (β -NADP) (Prepare 2 ml in deionized water using β -Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate, Sodium Salt);
- D. 300 mM Magnesium Chloride Solution (MgCl₂) (Prepare 2 ml in deionized water using Magnesium Chloride Hexahydrate);
- E. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Enzyme Solution (Immediately before use, prepare a solution containing 0.3-0.6 unit/ml of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase in cold Reagent A).

Enzymatic Assay:

Prepare a reaction cocktail by pipetting (in %) the following reagents into a suitable container:

	Test	Blank
Deionized Water	70,00	70,00
Reagent A(Buffer)	16,68	16,68
Reagent B (G-6-P)	3,33	3,33
Reagent C (NADP)	3,33	3,33
Reagent D (MgCl ₂)	3,33	3,33
Mix by inversion and equilibrate to 25°C. Monitor the A340nm until constant, using a suitably thermostatted spectrophotometer. Then add:		
	Test	Blank
Reagent A (Buffer)	-----	3,33
Reagent E (enzyme solution)	3,33	-----

Immediately mix by inversion and monitor the increase in A340nm for approximately 5-10 minutes.

Obtain the DA340nm/minute using the maximum linear rate for both the Test and Blank.

Calculations:

$$\text{Units/ml enzyme} = [(\Delta A_{340\text{nm/min Test}} - \Delta A_{340\text{nm/min Blank}})(0,3)(df)] / (6,22)(0,01)$$

0,3 = total volume (in milliliters) of assay

df = Dilution factor

6,22 = Millimolar extinction coefficient of b-NADPH at 340 nm

0,01 = Volume (in milliliter) of enzyme used

Units/mg solid = [units/ml enzyme]/mg solid/ml enzyme

Units/mg protein = [units/ml enzyme]/mg protein/ml enzyme

Referência: GRAEVE, K. Purification, characterization and cDNA sequence of glucose-6-phosphate dehydrogenase from potato (*Solanum tuberosum* L.). **Plant Journal**, v.5, n.3, p.353-361, 1994. Citado por RIBEIRO, Paula Adriane Perez. **Efeito de fontes de ácidos graxos na dieta e da redução da temperatura sobre o metabolismo lipídico de tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*) e trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*)**. 2007. 162p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG