



**RENAN ROSA PAULINO**

**INCLUSÃO DE LIPÍDIOS E CARBOIDRATOS  
EM DIETAS DE CACHADIA (*Pseudoplatystoma  
reticulatum x Leiarius marmoratus*)**

**LAVRAS-MG**

**2013**

**RENAN ROSA PAULINO**

**INCLUSÃO DE LIPÍDIOS E CARBOIDRATOS  
EM DIETAS DE CACHADIA (*Pseudoplatystoma  
reticulatum x Leiarius marmoratus*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração Produção e nutrição de não ruminantes, para obtenção do título de Mestre.

**ORIENTADOR:**

Profª. Dra. Priscila Vieira e Rosa – DZO/UFLA

**CO-ORIENTADORES:**

Prof. Dr. Márcio Gilberto Zangeronimo – DMV/UFLA.

Profª. Dra. Silvia Eda Arranz – UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO/ARGENTINA

**LAVRAS-MG**

**2013**

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Divisão de Processos  
Técnicos da Biblioteca da UFLA**

Paulino, Renan Rosa.

Inclusão de lipídios e carboidratos em dietas de cachadã  
(*Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus*) / Renan  
Rosa Paulino. – Lavras : UFLA, 2013.

78 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2013.

Orientador: Priscila Vieira e Rosa.

Bibliografia.

1. Alanina aminotransferase. 2. Aspartato aminotransferase. 3.  
Enzima málica. 4. Glicose-6 fosfato desidrogenase. 5. Ácidos  
graxos. 6. Peixes. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 639.37

**RENAN ROSA PAULINO**

**INCLUSÃO DE LIPÍDIOS E CARBOIDRATOS  
EM DIETAS DE CACHADIA (*Pseudoplatystoma  
reticulatum x Leiarius marmoratus*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração Produção e nutrição de não ruminantes, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 18 de fevereiro de 2013.

Dr. Raimundo Vicente de Sousa

Dr. Márcio Gilberto Zangeronimo

Dra. Flávia Maria de Oliveira Borges Saad

Dr. Daniel Okamura

Dra. Priscila Vieira e Rosa  
Orientadora

**LAVRAS-MG**

**2013**

À Deus por mais esta vitória, à minha noiva  
Mayara, aos meus pais Gilmar e Rosana e a toda  
minha família e amigos pelo apoio em todos os  
momentos.

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a DEUS, por iluminar e estar sempre comigo durante todos os dias de minha vida.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade concedida para a realização deste curso.

À minha orientadora Prof<sup>ª</sup>. Dra. Priscila Vieira e Rosa, pela orientação e grande amizade, a minha profunda gratidão.

Ao CNPq (Centro Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pelas oportunidades concedidas e pelo apoio financeiro.

À Prof<sup>ª</sup>. Dra. Silvia Eda Arranz pela co-orientação e acompanhamento durante o treinamento realizado no Instituto de Biologia Celular de Rosário (IBR) na Argentina.

À Prof<sup>ª</sup> Martha Guevara pelo longo tempo de trabalho conjunto na execução do projeto.

Ao Doutor Daniel Okamura, pelo auxílio e grande ajuda no experimento e análises dos dados.

Aos colegas do Núcleo de Estudos em Aqüicultura, em especial aos amigos Leandro Santos Costa, Natália Murad, Edgar Rodrigues, Aline Vilela e Angélica Alves, Rodrigo Santana, Diego Vicente e Felipe Guedes pela colaboração.

Aos pesquisadores da Universidad de Rosario, Argentina, em especial ao pesquisador Dr. Enrique Morales e aos doutores e doutorandos Juan Diaz, Ignacio Simó, Emma O'Brian e Cecília Di Prinzio pelo acolhimento e apoio durante o período de estágio.

Aos funcionários da Estação de Piscicultura da UFLA, Eleci Pereira e José Roberto pela contribuição, amizade e momentos de descontração no setor.

Aos todos os alunos e pesquisadores do Laboratório de Fisiologia do Parasitismo da UFLA, em especial ao Profº Dr. Mário Lúcio Resende, por possibilitar a leitura das análises. Aos pesquisadores Pedro Ribeiro e Deila Magna dos Santos, pela prontidão e disposição de todas as horas.

Aos colegas de pós-graduação pelo companheirismo durante esses anos.

À minha irmã Renata Rosa e seu esposo Elias Andrade pelo carinho. Aos meus afilhados Gabriel, Maria Eduarda e Maria Alice pelos momentos de alegria.

À todos os meus familiares e amigos por acreditarem em mim.

Aos demais professores do Departamento de Zootecnia e a todos que diretamente ou indiretamente contribuíram para realização deste trabalho.

**Muito obrigado a todos!**

## RESUMO

O presente estudo tem como objetivo avaliar a influência da adição de diferentes níveis de carboidratos em dietas com diferentes fontes de lipídios sobre o metabolismo energético e o desenvolvimento inicial de Cachadia (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus*). O experimento foi realizado no laboratório de nutrição de peixes da Universidade Federal de Lavras (UFLA), com duração de 60 dias, entre os meses de julho a setembro de 2011. Avaliou-se o desempenho e a atividade hepática de enzimas envolvidas na lipogênese (glicose-6-fosfato desidrogenase, G6PD, e enzima málica, EM) e no metabolismo de aminoácidos (alanina aminotransferase, ALT, e aspartato aminotransferase, AST). Foram utilizados 520 juvenis de cachadia, com peso de  $82,87 \pm 25,36$ g, mantidos em caixas de 100L, em sistema de recirculação, a uma temperatura média de  $27,8 \pm 0,3$ °C. Os tratamentos aplicados foram um fatorial 2x4 (dois níveis de amido de milho 5 e 25% e quatro fontes de óleo linhaça, oliva, milho e peixe). Cada tratamento foi fornecido a 5 caixas, totalizando 40 parcelas. Realizou-se a duas coletas experimentais: a coleta 1, aos 30 dias, e a coleta 2, nos 60 dias de experimento. Não houve interação entre os parâmetros de desempenho e os níveis de carboidrato ( $P > 0,05$ ). Todavia, os peixes alimentados com as dietas contendo os óleos de linhaça e peixe apresentaram desempenhos superiores que aqueles que receberam os óleos de milho e oliva ( $P < 0,05$ ). As atividades das enzimas ALT e AST diminuíram com o aumento dos níveis de carboidrato, contudo, não foram influenciadas pelas diferentes fontes de óleo. As enzimas lipogênicas foram dependentes da fonte de óleo, do nível de carboidrato e da interação entre as fontes de óleo e os níveis de carboidrato. Aos 30 dias a atividade da enzima G6PD aumentou com o acréscimo dos níveis de carboidrato. Observou-se também aos 30 dias que os óleos de oliva e peixe proporcionaram as maiores atividade das enzimas málica e glicose-6-fosfato desidrogenase, nas dietas com 25% de carboidrato. Já aos 60 dias, os óleos de oliva e peixe induziram a menor atividade da G6PD. Os resultados sugerem que as atividades das enzimas lipogênicas sejam reguladas através da fonte de óleo fornecida na dieta, e que, portanto, influenciam a utilização de carboidrato pelo cachadia.

Palavras-chave: Ácidos graxos. Alanina aminotransferase. Aspartato aminotransferase. Enzima málica. Glicose-6-fosfato desidrogenase. Peixes.

#### **ABSTRACT**

The present study aims to evaluate the influence of adding different levels of carbohydrates in diets with different fat sources on energy metabolism and initial development of Cachadia (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus*). Experiment was conducted in the laboratory of fish nutrition Federal University of Lavras (UFLA), lasting 60 days, between the months of July to September 2011. We evaluated the performance and activity of enzymes involved in hepatic lipogenesis (glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD, and malic enzyme, ME) and amino acid metabolism (alanine aminotransferase, ALT, and aspartate aminotransferase, AST). Total of 520 juveniles cachadia, weighing  $82.87 \pm 25.36$  g, kept in boxes 100L in recirculation system, at an average temperature of  $27.8 \pm 0.3$  ° C. The treatments applied were a 2x4 factorial (two levels of corn starch - 5 and 25% - and four sources of oil - linseed, olive, corn, and fish). Each treatment was fed to 5 boxes, totaling 40 plots. We carried out two experimental collections: a collection 1, at 30 days, and collection 2, within 60 days of the experiment. There was no interaction between the performance parameters and the levels of carbohydrate ( $P > 0.05$ ). However, the fish fed diets containing the oils of linseed oil and fish showed superior performances than those who received the olive oil and corn ( $P < 0.05$ ). The activities of the enzymes ALT and AST decreased with increasing levels of carbohydrate, however, were not influenced by different sources of oil. The lipogenic enzymes were dependent on the oil source, the level of interaction between carbohydrate and oil sources and levels of carbohydrate. At 30 days the activity of the enzyme G6PD increased with increasing levels of carbohydrate. It was also observed that at 30 days olive oils and fish showed the highest activity of malic enzyme and glucose-6-phosphate dehydrogenase, on diets containing 25% carbohydrate. At 60 days, the olive oils and fish induced lower activity of G6PD. The results suggest that the activity of lipogenic enzymes are regulated through the oil source provided in the diet and, therefore influence the utilization of carbohydrate by cachadia.

Keywords: Fatty acids. Alanine amino transferase. Aspartate amino transferase. Malic enzyme. Glucose-6-phosphate dehydrogenase. Fish.

## LISTA DE FIGURAS

### PRIMEIRA PARTE

- Figura 1. Ilustração da formação de NADPH através da enzima málica e da via das pentoses, pela ação da glicose-6-fosfato desidrogenase (Adaptado OKAMURA, 2009).....25
- Figura 2. Ilustração do *Pseudoplatystoma reticulatum* (A), *Leiarius marmoratus* (B) e do híbrido ♀*Pseudoplatystoma reticulatum* x ♂ *Leiarius marmoratus* (C).....28

## LISTA DE TABELAS

### PRIMEIRA PARTE

Tabela 1. Perfil de ácidos graxos de cadeia longa de alguns óleos de interesse (valores em %). .....	22
---------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AG	Ácidos graxos
AGE	Ácidos graxos essenciais
ALT	Alanina aminotransferase
ARA	Ácido araquidônico
AST	Aspartato aminotransferase
CA	Conversão alimentar
CP	Crescimento padrão
CR	Consumo de ração
DHA	Ácido docosahexaenóico
EPA	Ácido eicosapentaenóico
EM	Enzima málica
GLUT	Transportador de glicose sódio/independente
GP	Ganho de peso
G6PD	Glicose 6-fosfato desidrogenase
HUFA	Ácidos graxos altamente insaturados
IHS	Índice hepatossomático
MUFA	Ácidos graxos monoinsaturados
NS	Não significativo
PPAR	Peroxisome proliferator-activated receptors
PUFA	Ácidos graxos poliinsaturados
SAFA	Ácidos graxos saturados
SGLT	Co-transportadores de sódio/glicose
SREBP	Sterol regulatory element binding proteins
TAG	Triacilglicerol
$\omega$	Ômega

## SUMÁRIO

<b>PRIMEIRA PARTE .....</b>	<b>15</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>17</b>
<b>2.1. Funções dos ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) .....</b>	<b>17</b>
<b>2.2. Os ácidos graxos e o metabolismo lipídico em peixes .....</b>	<b>19</b>
<b>2.3. Fontes de ácidos graxos em dietas para peixes.....</b>	<b>21</b>
<b>2.4. Influência de carboidratos no metabolismo de peixes .....</b>	<b>23</b>
<b>2.5. Efeito poupador de proteínas.....</b>	<b>26</b>
<b>2.6. Cachadia (<i>Pseudoplatystoma reticulatum x Leiarius marmoratus</i>) .....</b>	<b>27</b>
<b>3. CONSIDERAÇÕES GERAIS .....</b>	<b>31</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>32</b>
<b>SEGUNDA PARTE – ARTIGO .....</b>	<b>38</b>
<b>ARTIGO 1: Inclusão de lipídios e carboidratos em dietas de cachadia (<i>Pseudoplatystoma reticulatum x Leiarius marmoratus</i>): efeitos no desempenho, lipogênese e efeito poupador de proteína. ....</b>	<b>38</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>42</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>43</b>
<b>3. RESULTADOS .....</b>	<b>49</b>
<b>4. DISCUSSÃO .....</b>	<b>58</b>
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>67</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>68</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>72</b>



## PRIMEIRA PARTE

### 1. INTRODUÇÃO

Os surubins são peixes de couro e sua carne apresenta grande aceitação no mercado interno. Porém, por se tratar de um carnívoro voraz, a larvicultura é o grande limitante para produção destes animais, pois apresenta grande canibalismo nesta etapa. Com o intuito de solucionar de modo rápido este entrave, diversos pesquisadores e produtores têm realizado o cruzamento de surubins puros com peixes de hábito alimentar onívoro, além de explorar o vigor híbrido para o crescimento desse cruzamento.

Sabe-se que as espécies de peixes carnívoras apresentam capacidade limitada para utilizar os carboidratos vindos da dieta. Isso ocorre devido a características fisiológicas e morfológicas destes animais, que são adaptados a receber alimentos de alta biodisponibilidade. Já as espécies onívoras e herbívoras apresentam melhor aproveitamento e aceitação de carboidrato na dieta.

O cachadia é originário do cruzamento entre a cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) e o jundiá do norte (*Leiarius marmoratus*), uma espécie carnívora e onívora, respectivamente. Por se tratar de um novo híbrido entre espécies de hábitos alimentares diferentes, não se sabe de que forma esse híbrido se adapta aos altos níveis de carboidratos na dieta.

O carboidrato, por ser uma fonte de menor custo de energia em dietas de peixes, é utilizado em elevadas quantidades nas indústrias de ração. Isso porque pretende-se obter, através da extrusão, uma ração com maior flutuabilidade. Este fator é considerado, muitas vezes pelos produtores, como um parâmetro de qualidade. No entanto, o elevado nível de carboidratos pode limitar o

desenvolvimento dos animais, principalmente em se tratando de peixes carnívoros.

Os lipídios, diferente do que se imaginava no século passado, apresentam outras funções metabólicas além do fornecimento de energia. Dentro da diversa gama de compostos pertencente a essa classe, destaca-se os ácidos graxos poliinsaturados (PUFA). Eles participam da síntese de eicosanóides, atuam como regulador da expressão de genes, alteram a fluidez da membrana e, entre outras funções, atuam modificando o metabolismo energético ao estimular ou suprimir determinadas vias metabólicas.

Além disso, sabe-se que os lipídios podem influenciar no aproveitamento de carboidratos, visto que esse nutriente atua modulando o metabolismo animal, principalmente através da regulação de fatores de transcrição gênica.

O presente estudo tem como objetivo avaliar a influência da adição de diferentes níveis de carboidratos em dietas com diferentes fontes de lipídios sobre o metabolismo energético e o desenvolvimento inicial de Cachadia (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus*).

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1. Funções dos ácidos graxos poliinsaturados (PUFA)**

Os lipídios, especialmente os ácidos graxos, são importantes fontes de energia para o organismo, independente de ser PUFA (TOCHER, 2003). A energia é gerada na forma de ATP via  $\beta$ -oxidação mitocondrial. Uma exceção ocorre junto a molécula de DHA, a qual tende a ser conservada. Ou seja, não oxidada para geração de energia, por não ser um substrato adequado para a  $\beta$ -oxidação mitocondrial (SARGENT; TOCHER; BELL, 2002). De acordo com Bell e colaboradores (2001), existem evidências crescentes de que MUFA e SAFA são substratos preferenciais para  $\beta$ -oxidação mitocondrial em salmonídeos.

Os PUFAs não são utilizados prioritariamente com a função de armazenar energia. É sugerido que eles atuem nos parâmetros fisiológicos através do seu impacto sobre a fluidez da membrana celular e através da produção de eicosanóides. Os eicosanóides são uma classe de compostos bioquímicos, associados com uma ampla variedade de processos fisiológicos (BRETT; MÜLLER-NAVARRA, 1997).

Mudanças na fluidez da membrana são importantes na adaptação hidrostática aos processos de mudança ambiental. Em baixas temperaturas, o organismo se adapta com o acréscimo na quantidade de PUFA na membrana celular, aumentando assim, a sua fluidez e por conseqüente diminuindo a temperatura de congelamento. Portanto, o PUFA atua como agente anticongelante da membrana celular (BRETT; MÜLLER-NAVARRA, 1997; NRC, 2011).

Os eicosanóides são uma classe de compostos que incluem as prostaglandinas, prostaciclina, tromboxano, leucotrienos e lipoxinas, oriundos dos ácidos graxos altamente esterificados (HUFA). São compostos altamente bioativos, com atuação autócrina. Não são armazenados e têm um tempo de meia-vida extremamente curto. São produzidos em pequenas quantidades em quase todos os tecidos (CHAMP; HARVEY; FERRIER, 2008). Possuem uma vasta gama de ações fisiológicas, que atua, por exemplo, nos processos de coagulação sanguínea, resposta imune, resposta inflamatória, tônus cardiovascular, função renal, função neural e reprodução (SARGENT; TOCHER; BELL, 2002).

Na formação dos eicosanóides, a rota seguida pelo ARA e EPA são basicamente as mesmas. Porém, o tromboxano formado a partir do ARA (denominado TXA<sub>2</sub>), é um potente vasoconstritor e promove um aumento da agregação plaquetária. Enquanto o tromboxano formado pelo EPA (denominado TXA<sub>3</sub>) atua como vasodilatador, diminuindo a agregação plaquetária. (SCHMITZ; ECKER, 2008).

Os ácidos graxos da série ômega-3 atuam também como sinalizadores intracelulares. Suprimem a expressão de genes envolvidos na lipogênese e induzem a transcrição de genes envolvidos na oxidação lipídica e termogênese (GRIMM et al., 2002; citado por RIBEIRO, 2007).

Os PUFAs influenciam a atividade de vários fatores de transcrição gênica, como PPAR (*peroxisome proliferator-activated receptors*), LXR (*liver X receptors*) e SREBP (*sterol regulatory element binding proteins*), que são reguladores críticos dos genes envolvidos no processo de homeostase lipídica (SAMPATH; NTAMBI, 2005). São fundamentais na manutenção do funcionamento do sistema nervoso central, modulando, entre outros fatores, a atividade visual, a maturação sensorial e o neurodesenvolvimento mental (DAS, 2003). Diminuem os níveis de ácidos graxos livres ao proteger o sistema

cardíaco contra doenças cardiovasculares (D'ALESSANDRO; CHICCO; LOMBARDO, 2008), através de sua atuação na regulação da lipólise, nas lipoproteínas sanguíneas e nos níveis de colesterol circulante.

## **2.2. Os ácidos graxos e o metabolismo lipídico em peixes**

A rápida expansão da aquicultura nos últimos anos e o aumento na utilização de rações formuladas produziu um volume considerável de pesquisas sobre exigências de lipídios na dieta de peixes. A maior parte desses trabalhos aborda a utilização de ácidos graxos essenciais e fosfolipídios por peixes juvenis e adultos, utilizando-se o crescimento e a sobrevivência como principais parâmetros indicadores da qualidade da dieta. O alto índice sobrevivência e a manutenção do crescimento geralmente indicam que a dieta satisfaz as exigências mínimas nutricionais da espécie alimentada. No entanto, a sobrevivência e o crescimento podem ser insuficientes para inferir sobre a real condição fisiológica dos peixes (MAITA, 2007).

Estudos têm demonstrado que a atividade de enzimas lipogênicas hepáticas é modificada pela substituição total ou parcial do óleo de peixe por óleos vegetais na dieta. Dentre elas a ácido graxo sintetase (FAS), diretamente responsável pela produção de ácidos graxos, a glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) e também a enzima málica (EM), as quais são fornecedoras de NADPH, essenciais para a atividade FAS, estão incluídas nesse contexto (MENOYO et al., 2004).

Madsen et al. (2005) demonstraram que os n-3 HUFAs diminuem a deposição de lipídios e suprimem o desenvolvimento da obesidade em ratos. Nos peixes, observou-se que os n-3 HUFAs foram capazes de reduzir o desenvolvimento de células de gordura e acúmulo de lipídios em pré-adipócitos cultivados (TODORČEVIĆ et al., 2008). Reduziu também o teor de gordura no

tecido adiposo branco de salmão do Atlântico, além de aumentar a atividade  $\beta$ -oxidativa, quando comparados com os peixes alimentados com óleos de origem vegetal (TODORČEVIĆ et al., 2009). Em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), salmão atlântico (*Salmo salar*) e tilápia (*Oreochromis niloticus*) uma dieta rica em n-3 HUFA diminui a atividade da EM e G6PD (ALVAREZ et al., 2000; MENOYO et al., 2003; RIBEIRO et al., 2008).

Sabe-se, portanto, que peixes alimentados com dietas contendo diferentes fontes de ácidos graxos podem apresentar várias adaptações no metabolismo de lipídios, de acordo com a fonte fornecida. Além de interferir no metabolismo lipídico, os ácidos graxos desempenham outras inúmeras funções metabólicas, inclusive no metabolismo de carboidratos.

Os PUFAs estão envolvidos na síntese e regulação de diversos processos metabólicos. Em mamíferos, os ácidos graxos n-3 atuam como sinalizadores intracelulares, suprimindo a expressão de genes envolvidos na lipogênese e induzindo a transcrição de genes envolvidos na oxidação lipídica (Grimm et al., 2002; citado por ANDRADE; CARMO, 2006).

Em peixes, o EPA e o DHA parecem inibir a lipogênese em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) e em salmão (*Salmo salar*) (ALVARES et al., 2000; MENOYO et al., 2006). A lipogênese em tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*) também é influenciada pela composição lipídica da dieta (RIBEIRO et al., 2008).

Ratos dislipidêmicos e resistentes a insulina tratados com óleo de peixe tiveram diminuição dos níveis de lipídio no plasma e normalização da homeostase da glicose (D'ALESSANDRO; CHICCO; LOMBARDO, 2008). Outros estudos com ratos demonstraram que a oxidação da glicose e a síntese de lipídios a partir deste substrato, podem sofrer alterações mediante o uso de dietas contendo AG  $\omega$ 3 (LONDERO, 2008).

Em mamíferos, sabe-se que os PUFAs podem regular a expressão de genes envolvidos no metabolismo de carboidratos e lipídios, como o da glicocinase hepática, piruvato quinase, piruvato desidrogenase, acil-CoA carboxilase e ácido graxo sintetase, através de fatores de transcrição como SREBP (*Sterol Regulatory Element Binding Proteins*) (WORGALL et al., 1998).

Pesquisas feitas com salmão (*Salmo salar*) mostraram que os níveis de mRNA mensageiro para receptores de glicose GLUT4 no músculo branco foram modificados pelas dietas contendo diferentes ácidos graxos (MENOYO et al., 2006).

Escassos são os trabalhos encontrados que avaliam a interação entre lipídeos e carboidratos em dietas de peixes. Existe, portanto, a necessidade de mais pesquisas que procurem elucidar de que forma as diferentes fontes de óleo podem influenciar no metabolismo energético desses animais.

### **2.3. Fontes de ácidos graxos em dietas para peixes**

Os diferentes tipos de óleos apresentam variadas composições de ácidos graxos. Esses podem ser divididos em óleos vegetais, como milho, linhaça e oliva, ou óleos animais, como o óleo de peixe. Os óleos vegetais são encontrados no mercado a um preço acessível, quando comparados ao óleo animal. Além disso, apresentam uma maior estabilidade de oxidação, preservando-se ilesas por um período maior.

O óleo de peixe representa uma fonte rica em HUFA, como EPA e DHA, enquanto que a maioria dos óleos vegetais é rica em ácidos graxos insaturados com 18 carbonos, como o  $\alpha$ -linolénico (C 18:3 n-3), o linoléico (C 18:2 n-6) e oléico (C 18:1 n-9). Porém são fontes pobres de n-3 HUFA (NASOPOULOU, 2012). Esses ácidos graxos com 18 carbonos são

nutricionalmente essenciais, pois são precursores dos HUFAs como EPA, DHA e ARA.

A semente de linho possui uma variação aproximada de 32 a 38% de óleo, denominado popularmente de óleo de linhaça o qual apresenta em média elevado teor do ácido  $\alpha$ -linolênico (44,6 a 51,5%) e constitui uma das maiores fontes desse ácido graxo (Ceotto, 2000; Carter, 1993; citado por VISENTAINER, 2003).

O óleo de oliva é obtido através do processamento da azeitona, fruto advindo da oliveira. Estudos indicam que esse óleo desempenha um papel positivo na prevenção de determinadas doenças, especialmente doenças coronárias. O principal ácido graxo que o compõe é o ácido oléico (C18:1 n-9), que contém valores de 55 a 83% (BOSKOU, 2002).

Ao contrário da maioria dos outros óleos vegetais, o óleo de milho é obtido a partir de sementes (grãos) que contêm apenas de 3 a 5% de óleo. Em geral, o óleo de milho apresenta baixos níveis de ácidos graxos saturados (< 15%), níveis relativamente baixos de ácido linolênico (C 18:3 n-3), e elevado teor de ácido linoléico (C 18:2 n-6) (MOREAU, 2002).

A Tabela 2 apresenta alguns óleos comerciais utilizados também na elaboração de dietas para nutrição animal e sua composição aproximada em ácidos graxos de cadeia longa.

Tabela 1. Perfil de ácidos graxos de cadeia longa de alguns óleos de interesse (valores em %).

FONTES COMERCIAIS	ÁCIDOS GRAXOS						
	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:4	C20:5	C22:6
Óleo de linhaça <sup>1</sup>	2,5	19,0	24,1	47,4	0,31	nd	nd
Óleo de oliva <sup>2</sup>	2,6	76,9	7,5	0,6	nd	nd	nd
Óleo de milho <sup>3</sup>	4,0	24,00	44,4	1,96	1,0	nd	nd
Óleo de peixe <sup>4</sup>	10,28	17,34	1,86	2,54	nd	8,66	8,9

nd – não determinado; Dados expressos em porcentagem (%) de ácidos graxos

<sup>1</sup>Kochhar (2002)

<sup>2</sup>ANVISA – Agência Nacional da Vigilância Sanitária (1999)

<sup>3</sup>Moreau (2002)

<sup>4</sup>Chee et al. (1990)

#### **2.4. Influência de carboidratos no metabolismo de peixes**

De acordo com Wilson (1994) os carboidratos são as fontes de menor custo para o fornecimento de energia na dieta para os animais domésticos. No entanto, sua utilização pelos peixes difere e permanece obscura. Não existe exigência de carboidratos em dietas para peixes. Porém, sua inclusão em níveis adequados pode assegurar melhor eficiência na utilização de outros nutrientes e contribuir no processo de extrusão da dieta, além de ser uma fonte energética abundante e barata em relação aos lipídeos e proteínas (KROGDAHL; HEMRE; MOMMSEN, 2005).

As indústrias de ração utilizam carboidratos em elevadas quantidades, em níveis acima de 19%, com o intuito de se obter através de extrusão, processo onde ocorre a expansão do amido, reduzindo a densidade dos pellets e proporcionando uma ração com maior fluabilidade. Este fator é considerado muitas vezes pelos produtores como um parâmetro de qualidade da ração. Porém, esse alto nível de carboidratos pode provocar danos na saúde do animal, principalmente peixes carnívoros, que apresentam, dependendo da espécie, intolerância a glicose e limitada capacidade de metabolização.

Peixes alimentados em níveis adequados de carboidratos tiveram melhor desempenho que aqueles tratados com dietas ausentes desse nutriente (HEMRE; MOMMSEN; KROGDAHL, 2002), onde o nível adequado depende do hábito alimentar e da espécie. Por outro lado, peixes mantidos com dietas contendo altos níveis de carboidratos apresentaram um quadro de hiperglicemia pós-prandial prolongado (ENES et al., 2009). Devido a este quadro, os peixes, principalmente os carnívoros, são considerados intolerantes a glicose, quando comparados aos mamíferos.

Diferentes hipóteses têm sido levantadas para explicar essa baixa utilização de carboidratos pelos peixes. Porém, uma base fisiológica que explique a aparente intolerância de glicose não foi totalmente esclarecida. As hipóteses incluem: o maior efeito dos aminoácidos da dieta que a glicose na secreção de insulina (MOMMSEM; PLISETSKAYA, 1991); número relativamente baixo de receptores de insulina no músculo de peixes, comparado a ratos (PÁRRIZAS et al., 1994); limitada capacidade de fosforilação da glicose no tecido muscular, requisito indispensável para qualquer outra utilização metabólica da glicose (COWEY; WALTON, 1989); ausência de transportadores de glicose no músculo de peixe (WRIGHT et al, 1998); e inadequada regulação da homeostase da glicose atribuída ao desbalanço entre a glicólise e gliconeogênese hepática (PANSERAT et al., 2001) (citado por ENES; PANSERAT; KAUSHIK, 2009).

A adição de carboidrato na dieta é necessária para estimular a biossíntese de lipídios, não tanto pelo fornecimento de esqueletos de carbono, mas através do aumento da disponibilidade de equivalentes redutores citosólicos (HEMRE; MOMMSEN; KROGDAHL, 2002). Os carboidratos induzem a biossíntese de equivalente redutor através da indução das desidrogenases da via pentose fosfato, como a glicose 6-fosfato desidrogenase - G6PDH-, e duas outras desidrogenases fornecedoras de NADPH citosólico, dentre elas a enzima málica - EM (LIN et al., 1977).

Portanto, a glicose dietética é catabolizada, dentre outras vias, pela via das pentoses fosfato, produzindo o NADPH necessário para a síntese de lipídeos. Outra fonte alternativa de provimento de NADPH para a síntese de ácidos graxos é o ciclo piruvato/malato, pela ação direta da enzima málica (Saway, 1994; citada por RIBEIRO, 2007). Esses processos de produção de NADPH são ilustrados na Figura 5.

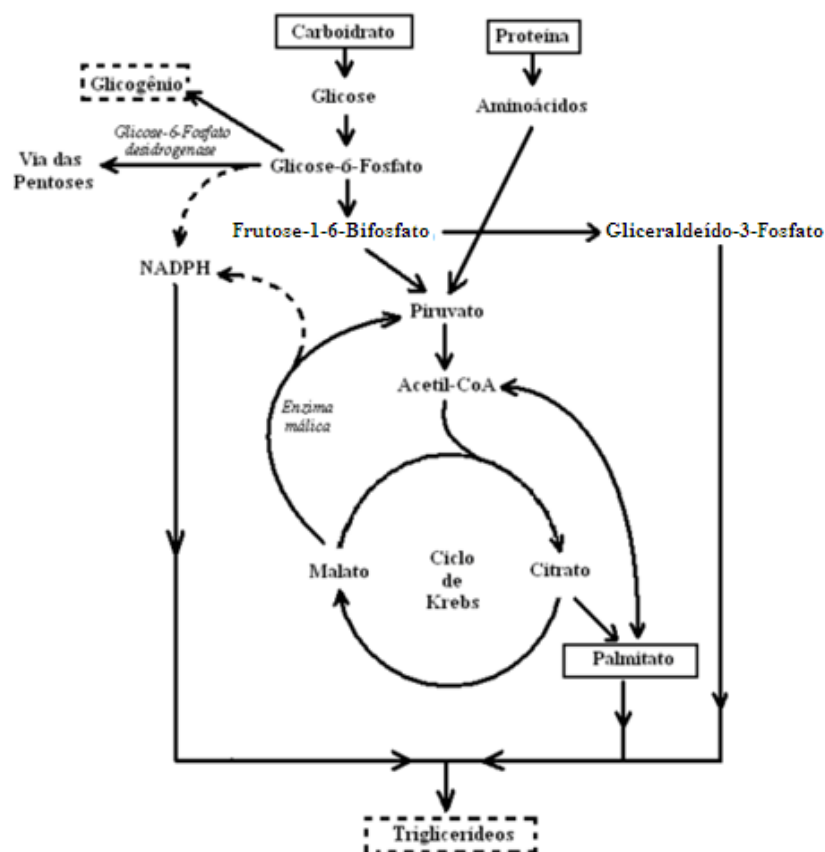


Figura 1. Ilustração da formação de NADPH através da enzima málica e da via das pentoses, pela ação da glicose-6-fosfato desidrogenase (Adaptado OKAMURA, 2009).

Em peixes, o fígado é o principal local para a lipogênese. Portanto, de modo geral, os carboidratos podem controlar essa via (HEMRE; MOMMSEN; KROGDAHL, 2002). Esse órgão desempenha um papel central na regulação do metabolismo em resposta ao *status* nutricional. A maioria dos efeitos regulatórios da utilização e metabolização dos nutrientes inicialmente ocorre no

figado. Consequentemente afeta uma cascata de outros eventos em outros tecidos e órgãos (ENES; PANSERAT; KAUSHIK, 2009).

### **2.5. Efeito poupador de proteínas**

Diferente dos animais terrestres, os peixes dependem principalmente de proteína na dieta como fonte primária de energia. Segundo Hopher (1989) os peixes utilizam facilmente proteína como fonte de energia, através do catabolismo de aminoácidos, processo que também está relacionado à síntese protéica. Porém a proteína dietética é o item mais caro dentre os macro nutrientes e contribuem significativamente para o custo da ração. O que se deseja, portanto, é que esse nutriente seja utilizado para a síntese muscular. Ou seja, crescimento, em vez de ser direcionado para o fornecimento de energia da dieta.

Apesar do lipídio ter se mostrado eficiente como fonte de energia e consequentemente poupador de proteína (BUREAU; KAUSHIK; CHO, 2002), o potencial dos carboidratos deve ser levado em conta. Segundo Wilson (1994), um nível adequado de carboidrato na dieta reduz o catabolismo de proteínas e lipídios para fins energéticos, além de fornecer intermediários metabólicos para a síntese de outros compostos biologicamente importantes.

De acordo com Wilson (1994), as espécies onívoras e herbívoras geralmente toleram maiores níveis de carboidratos que as espécies carnívoras, pois utilizam o carboidrato como fonte energética de forma mais eficiente. Já os peixes carnívoros aproveitam os lipídios melhor que carboidratos, devido aos fatores morfológicos e fisiológicos destes animais.

A avaliação do metabolismo intermediário através da mensuração da atividade de enzimas específicas é muito utilizada, pois torna possível inferir de que forma o metabolismo animal reage a diferentes condições e ainda verificar

possíveis situações metabólicas indesejáveis, tais como a utilização de proteína para obtenção de energia. Diversos estudos têm mostrado estreita analogia entre o estado nutricional e as atividades enzimáticas envolvidas no metabolismo intermediário (BAANANTE et al., 1991; MOON; FOSTER, 1995; METÓN et al., 1999; citado por MELO, 2004).

A transaminação parece ser o primeiro passo para o processo de deaminação proteica em peixes, onde ocorre a transferência da amônia do grupo amino para um  $\alpha$ -ceto ácido. Segundo Cowey e Walton (1989), a alanina aminotransferase (ALT) e a aspartato aminotransferase (AST) são as mais importantes transaminases quantitativas envolvidas neste processo.

A avaliação da atividade das enzimas ALT e AST é uma medida interessante. Essas são enzimas centrais para o metabolismo de aminoácidos e indicadoras da utilização metabólica das proteínas. Diversos autores quantificaram a atividade enzimática de ALT e AST para ponderar o metabolismo protéico e o efeito poupador de proteína e observaram que a avaliação da atividade dessas transaminases é um indicador confiável (ENES et al., 2006; FYNN-AIKINS; HUGHES; VANDERBERG, 1995; KUMAR et al., 2009; KUMAR et al.; 2010).

## **2.6. Cachadia (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus*)**

O “cachadia” (Figura 8A) é um híbrido do cruzamento entre a fêmea do cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*) (Figura 8B) e o macho do jundiá do norte (*Leiarius marmoratus*) (Figura 8C), espécie carnívora e onívora respectivamente, o qual vem sendo produzido em algumas regiões do Brasil (FARIA et al., 2011).



Fonte: arquivo pessoal



Fonte: foto de Mark. H. Sabaj citada por Buitrago-Suárez; Burr (2007).



Fonte: <http://www.wetwebmedia.com/fwsubwebindex/pimelodids.htm>

Figura 2. Ilustração do *Pseudoplatystoma reticulatum* (A), *Leiarius marmoratus* (B) e do híbrido ♀*Pseudoplatystoma reticulatum* x ♂ *Leiarius marmoratus* (C).

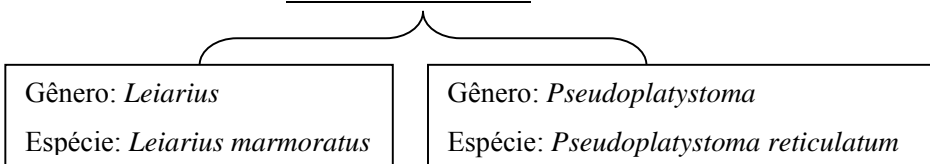
Ambas as espécies são animais da ordem Siluriformes, que incluem peixes cuja principal característica externa é a inexistência de escamas pelo corpo, revestidos apenas de pele espessa ou coberto por placas ósseas. São pertencentes à mesma família, Pimelodidae, porém são de gêneros diferentes. Abaixo se encontra ilustrada a classificação sistemática destas espécies, de acordo com Ferraris Júnior (2007):

Classe: Actinopterygii

Ordem: Siluriformes

Sub-ordem: Siluroidei

Família: Pimelodidae



Devido à dificuldade na produção de juvenis de cachara, produtores e pesquisadores têm realizado a hibridação desta espécie. O cachara é cruzado com o jundiá do norte, com o intuito facilitar a produção destes animais. O produto deste cruzamento são animais mais vorazes que os juvenis de cachara puro e os híbridos intragênero, o que facilita o fornecimento de alimento nas fases iniciais, que é o maior limitante na produção de juvenis de cachara, reduzindo também o problema com canibalismo (CAMPOS, 2010).

As espécies *Pseudoplatystoma reticulatum* e *Leiarium marmoratus* possuem pequena incompatibilidade genética e semelhança numérica e morfológica dos cromossomos. Segundo Mateo et al. (2008), através de estudos morfométricos do cachadia e seus progenitores, encontrou que esse híbrido expressa boa parte das conformações corpóreas de seu progenitor, o *P. reticulatum*, espécie considerada de maior demanda comercial.

Estudos sobre a produção deste híbrido em sistemas de recirculação confirmaram seu alto potencial para a aquicultura. No trabalho realizado por Faria (2011), o cachadã atingiu, em média, 1,1kg de peso vivo em sete meses de cultivo em sistema de recirculação de água, além de apresentarem alta taxa de sobrevivência.

Pouco se sabe de que forma o metabolismo dessa espécie se comporta, visto que se trata de um híbrido recente, sendo necessário, portanto, mais estudos que objetivam avaliar o metabolismo do cachadã.

### 3. CONSIDERAÇÕES GERAIS

As pesquisas com PUFA's aumentaram de forma expressiva nos últimos anos, visto a gama de funções metabólicas influenciadas por estes compostos. Porém, seus efeitos na vias energéticas ainda são muito controversos, mesmo em mamíferos. Escassos são os trabalhos em peixes avaliando a interação dessa classe de ácidos graxos no aproveitamento de carboidratos.

Visto que as espécies de peixes carnívoras apresentam hiperglicemia persistente, os PUFA's podem contribuir para reverter este quadro, favorecendo a utilização do carboidrato e, portanto, aumentando a resistência desses animais à glicose. Alguns pontos básicos do metabolismo foram abordados neste trabalho de dissertação e espera-se que ele sirva de ponto de partida para outros estudos sobre a interação entre ácidos graxos e carboidratos no metabolismo energético de peixes.

## REFERÊNCIAS

ALVAREZ, M. J. et al. Short-term modulation of lipogenesis by macronutrients in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. **British Journal of Nutrition**, London, v. 84, n. 05, p. 619-628, Nov. 2000.

ANDRADE, P. M.; CARMO, M. G. T. Ácidos graxos n-3: um link entre eicosanóides, inflamação e imunidade. **Revista Mn-Metabólica**, São Paulo, v. 8, n. 3, p. 135-143, July/Sept. 2006.

BELL, J. G. et al. Replacement of Fish Oil with Rapeseed Oil in Diets of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Affects Tissue Lipid Compositions and Hepatocyte Fatty Acid Metabolism. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 131, n. 5, p. 1535-1543, May, 2001.

BOSKOU, D. Olive oil. In: GUNSTONE, F. D. (Ed.). **Vegetable Oils in Food Technology: Composition, Properties, and Uses**. 1<sup>st</sup> ed. Boca Raton: John Wiley & Sons, 2002. p.244-277.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC Nº 482 de 23 de setembro de 1999. Valores de Referência. Brasília.

BRETT, M.; MÜLLER-NAVARRA, D. The role of highly unsaturated fatty acids in aquatic foodweb processes. **Freshwater Biology**, Oxford, v. 38, n. 3, p. 483-499, Dec. 1997.

BUITRAGO-SUAREZ, U. A.; BURR, B. M. Taxonomy of the catfish genus *Pseudoplatystoma* Bleeker (Siluriformes: Pimelodidae) with recognition of eight species. **Zootaxa**, Auckland v. 1512, p. 1-38, Mar. 2007.

BUREAU, D. P.; KAUSHIK, S. J.; CHO, C. Y. Bioenergetics. In: HALVER, J. E. e HARDY, R. W. (Ed.). **Fish Nutrition**. 3<sup>rd</sup> ed. San Diego: Elsevier Science, 2002. p.1-59.

CAMPOS, J. L. O cultivo do pintado (*Pseudoplatystoma corruscans* Spix & Agassiz, 1829) e outras espécies do gênero *Pseudoplatystoma* e seus híbridos. In: BALDISSEROTTO, B. e DE CARVALHO GOMES, L. (Ed.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2<sup>nd</sup> ed. Santa Maria: UFSM, 2010. p.335-361.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. **Bioquímica Ilustrada**. 4<sup>th</sup> ed. Porto Alegre: ARTMED, 2008, 528 p.

CHEE, K. et al. Fatty acid content of marine oil capsules. **Lipids**, Champaign, v. 25, n. 9, p. 523-528, Sept. 1990.

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

D'ALESSANDRO, M. E.; CHICCO, A.; LOMBARDO, Y. B. Dietary fish oil reverses lipotoxicity, altered glucose metabolism, and nPKC $\epsilon$  translocation in the heart of dyslipemic insulin-resistant rats. **Metabolism**, Baltimore, v. 57, n. 7, p. 911-919, July 2008.

DAS, U. N. Long-chain polyunsaturated fatty acids in the growth and development of the brain and memory. **Nutrition**, Burbank, v. 19, n. 1, p. 62-65, Jan. 2003.

ENES, P. et al. Effect of normal and waxy maize starch on growth, food utilization and hepatic glucose metabolism in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, New York, v. 143, n. 1, p. 89-96, Jan. 2006.

ENES, P. et al. Nutritional regulation of hepatic glucose metabolism in fish. **Fish Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 35, n. 3, p. 519-539, Aug. 2009.

FARIA, P. M. C. et al. Produção do híbrido "cachadia" em diferentes densidades de estocagem em sistema de recirculação de água. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 63, p. 1208-1214, Oct. 2011.

FERRARIS JUNIOR, C. J. Checklist of catfishes, recent and fossil (Osteichthyes: Siluriformes), and catalogue of siluriform primary types. **Zootaxa**, Auckland, v. 1418, p. 1-618, Mar. 2007.

FYNN-AIKINS, K.; HUGHES, S. G.; VANDENBERG, G. W. Protein retention and liver aminotransferase activities in Atlantic salmon fed diets containing different energy sources. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, New York, v. 111, n. 1, p. 163-170, May 1995.

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

HEPHER, B. Principles of fish nutrition. In: SHILO, M. e SARIG, S. (Ed.). **Fish culture in warm water systems: problems and trends**. Boca Raton: CRC Press, 1989. p.121-141.

KOCHHAR, S. P. Sesame, rice-bran and flaxseed oils. In: GUNSTONE, F. D. (Ed.). **Vegetable Oils in Food Technology: Composition, Properties, and Uses**. Boca Raton: CRC Press, 2002, p. 297-326.

KROGDAHL, Å.; 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, Mar. 2005.

KUMAR, S. et al. Modulation of key metabolic enzyme of *Labeo rohita* (Hamilton) juvenile: effect of dietary starch type, protein level and exogenous  $\alpha$ -amylase in the diet. **Fish Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 35, n. 2, p. 301-315, May 2009.

KUMAR, V. et al. Modulation of key enzymes of glycolysis, gluconeogenesis, amino acid catabolism, and TCA cycle of the tropical freshwater fish *Labeo rohita* fed gelatinized and non-gelatinized starch diet. **Fish Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 36, n. 3, p. 491-499, Sept. 2010.

LIN, H. et al. Effects of Fasting and Feeding Various Diets on Hepatic Lipogenic Enzyme Activities in Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch* (Walbaum)). **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 107, n. 8, p. 1477-1483, Aug. 1977.

LODERO, L. G. **Efeitos de ácidos graxos poliinsaturados sobre parâmetros do metabolismo intermediário de ratos Wistar**. 2008. 139 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas - Bioquímica) - Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

MADSEN, L.; PETERSEN, R. K.; KRISTIANSEN, K. Regulation of adipocyte differentiation and function by polyunsaturated fatty acids. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, Amsterdam, v. 1740, n. 2, p. 266-286, May 2005.

MAITA, M. Fish health assessment. In: NAKAGAWA, H.;SATO, M., *et al* (Ed.). **Dietary supplements for the health and quality of cultured fish**. Cambridge: CAB International, 2007. p. 10 - 34.

MATEO, C. J.; DELGADO, N.; LÓPEZ, H. Caracterización morfométrica del híbrido Yaque pintado (*Pseudoplatystoma Fasciatum* x *Leiarius Marmoratus*) y sus progenitores (Siluriformes: Pimelodidae). **Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Maracay**, v. 49, p. 47-60, June 2008.

MELO, J. F. B. **Digestão e metabolismo de Jundiá *Rhamdia quelen* submetido a diferentes regimes alimentares**. 2004. 80 p. Tese (Doutorado em Ciências Fisiológicas) - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2004.

MENOYO, D. *et al*. 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.

MENOYO, D. *et al*. Adaptation of lipid metabolism, tissue composition and flesh quality in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) to the replacement of dietary fish oil by linseed and soyabean oils. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 92, n. 01, p. 41-52, July 2004.

MENOYO, D. *et al*. Growth, digestibility and fatty acid utilization in large Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed varying levels of n-3 and saturated fatty acids. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 225, n. 1-4, p. 295-307, July 2003.

MOREAU, R. A. Corn oil. In: GUNSTONE, F. D. (Ed.). **Vegetable Oils in Food Technology: Composition, Properties, and Uses**. Boca Raton: CRC Press, 2002, p. 278-296.

NASOPOULOU, C.; ZABETAKIS, I. Benefits of fish oil replacement by plant originated oils in compounded fish feeds. A review. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 47, n. 2, p. 217-224, July 2012.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (N.R.C). **Nutrient requirements of fish**. Washington: National Academy Press, 2011, 376 p.

OKAMURA, D. **Influência do amido de milho no metabolismo energético de surubim *Pseudoplatystoma spp.*** 2009. 97 p. Tese (Doutorado em Nutrição de

Monogástrico) - Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

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 truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*)**. 2007. 162 p. Tese (Doutorado em Nutrição de Monogástrico). Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

RIBEIRO, P. A. P. et al. Efeito do uso de óleo na dieta sobre a lipogênese e o perfil lipídico de tilápias-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, p. 1331-1337, Aug. 2008.

SAMPATH, H.; NTAMBI, J. M. Polyunsaturated fatty acid regulation of genes of lipid metabolism. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v. 25, n. 1, p. 317-340, July 2005.

SARGENT, J. R.; TOCHER, D. R.; BELL, J. G. The Lipids. In: HALVER, J. E. e HARDY, R. W. (Ed.). **Fish Nutrition**. 3<sup>rd</sup> ed. San Diego: Academic Press, 2002, p.182-259.

SCHMITZ, G.; ECKER, J. The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids. **Progress in Lipid Research**, Oxford, v. 47, n. 2, p. 147-155, Mar. 2008.

TOCHER, D. et al. Effects of diets containing linseed oil on fatty acid desaturation and oxidation in hepatocytes and intestinal enterocytes in Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Fish Physiology and Biochemistry**, Amsterdam, v. 26, n. 2, p. 157-170, Mar. 2002.

TODORČEVIĆ, M. et al. N-3 HUFAs affect fat deposition, susceptibility to oxidative stress, and apoptosis in Atlantic salmon visceral adipose tissue. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, New York, v. 152, n. 2, p. 135-143, Feb. 2009.

TODORČEVIĆ, M. et al. Changes in fatty acids metabolism during differentiation of Atlantic salmon preadipocytes; Effects of n-3 and n-9 fatty acids. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**, Amsterdam, v. 1781, n. 6-7, p. 326-335, June/July 2008.

VISENTAINER, J. V. **Composição de ácidos graxos e quantificação dos ácidos graxos LNA, EPA e DHA no tecido muscular de tilápias (*Oreochromis niloticus*), submetidas a diferentes tratamentos com óleo de**

**linhaça**. 2003. 192 p. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

WILSON, R. P. Utilization of dietary carbohydrate by fish. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 124, n. 1-4, p. 67-80, July 1994.

WORGALL, T. S. et al. Polyunsaturated Fatty Acids Decrease Expression of Promoters with Sterol Regulatory Elements by Decreasing Levels of Mature Sterol Regulatory Element-binding Protein. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 273, n. 40, p. 25537-25540, Oct. 1998.

**SEGUNDA PARTE – ARTIGO**

**ARTIGO 1: Inclusão de lipídios e carboidratos em dietas de cachadiah (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus*): efeitos no desempenho, lipogênese e efeito poupador de proteína.**

Renan R. Paulino, Martha J. P. Guevara, Daniel Okamura, Leandro S. Costa, Priscila V. e Rosa.

ARTIGO SUBMETIDO À REVISTA AQUACULTURE NUTRITION

## RESUMO

O presente estudo tem como objetivo avaliar a influência da adição de diferentes níveis de carboidratos em dietas com diferentes fontes de lipídios sobre o metabolismo energético e o desenvolvimento inicial de Cachadia (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus*). O experimento foi realizado no laboratório de nutrição de peixes da Universidade Federal de Lavras (UFLA), com duração de 60 dias, entre os meses de julho a setembro de 2011. Avaliou-se o desempenho e a atividade hepática de enzimas envolvidas na lipogênese (glicose-6-fosfato desidrogenase, G6PD, e enzima málica, EM) e no metabolismo de aminoácidos (alanina aminotransferase, ALT, e aspartato aminotransferase, AST). Foram utilizados 520 juvenis de cachadia, com peso de  $82,87 \pm 25,36$ g, mantidos em caixas de 100L, em sistema de recirculação, a uma temperatura média de  $27,8 \pm 0,3$ °C. Os tratamentos aplicados foram um fatorial 2x4 (dois níveis de amido de milho - 5 e 25% - e quatro fontes de óleo - linhaça, oliva, milho e peixe). Cada tratamento foi fornecido a 5 caixas, totalizando 40 parcelas. Realizou-se a duas coletas experimentais: a coleta 1, aos 30 dias, e a coleta 2, nos 60 dias de experimento. Não houve interação entre os parâmetros de desempenho e os níveis de carboidrato ( $P > 0,05$ ). Todavia, os peixes alimentados com as dietas contendo os óleos de linhaça e peixe apresentaram desempenhos superiores que aqueles que receberam os óleos de milho e oliva ( $P < 0,05$ ). As atividades das enzimas ALT e AST diminuíram com o aumento dos níveis de carboidrato, contudo, não foram influenciadas pelas diferentes fontes de óleo. As enzimas lipogênicas foram dependentes da fonte de óleo, do nível de carboidrato e da interação entre as fontes de óleo e os níveis de carboidrato. Aos 30 dias a atividade da enzima G6PD aumentou com o acréscimo dos níveis de carboidrato. Observou-se também aos 30 dias que os óleos de oliva e peixe proporcionaram as maiores atividade das enzimas málica e glicose-6-fosfato desidrogenase, nas dietas com 25% de carboidrato. Já aos 60 dias, os óleos de oliva e peixe induziram a menor atividade da G6PD. Os resultados sugerem que as atividades das enzimas lipogênicas sejam reguladas através da fonte de óleo fornecida na dieta, e que, portanto, influenciam a utilização de carboidrato pelo cachadia.

Palavras-chave: Ácidos graxos. Alanina aminotransferase. Aspartato aminotransferase. Enzima málica. Glicose-6-fosfato desidrogenase. Peixes.

## ABSTRACT

The present study aims to evaluate the influence of adding different levels of carbohydrates in diets with different fat sources on energy metabolism and initial development of Cachadia (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus*). Experiment was conducted in the laboratory of fish nutrition Federal University of Lavras (UFLA), lasting 60 days, between the months of July to September 2011. We evaluated the performance and activity of enzymes involved in hepatic lipogenesis (glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD, and malic enzyme, ME) and amino acid metabolism (alanine aminotransferase, ALT, and aspartate aminotransferase, AST). Total of 520 juveniles cachadia, weighing  $82.87 \pm 25.36$  g, kept in boxes 100L in recirculation system, at an average temperature of  $27.8 \pm 0.3$  ° C. The treatments applied were a 2x4 factorial (two levels of corn starch - 5 and 25% - and four sources of oil - linseed, olive, corn, and fish). Each treatment was fed to 5 boxes, totaling 40 plots. We carried out two experimental collections: a collection 1, at 30 days, and collection 2, within 60 days of the experiment. There was no interaction between the performance parameters and the levels of carbohydrate ( $P > 0.05$ ). However, the fish fed diets containing the oils of linseed oil and fish showed superior performances than those who received the olive oil and corn ( $P < 0.05$ ). The activities of the enzymes ALT and AST decreased with increasing levels of carbohydrate, however, were not influenced by different sources of oil. The lipogenic enzymes were dependent on the oil source, the level of interaction between carbohydrate and oil sources and levels of carbohydrate. At 30 days the activity of the enzyme G6PD increased with increasing levels of carbohydrate. It was also observed that at 30 days olive oils and fish showed the highest activity of malic enzyme and glucose-6-phosphate dehydrogenase, on diets containing 25% carbohydrate. At 60 days, the olive oils and fish induced lower activity of G6PD. The results suggest that the activity of lipogenic enzymes are regulated through the oil source provided in the diet and, therefore influence the utilization of carbohydrate by cachadia.

Keywords: Fatty acids. Alanine amino transferase. Aspartate amino transferase. Malic enzyme. Glucose-6-phosphate dehydrogenase. Fish.

## 1. INTRODUÇÃO

O Cachadia (*Pseudoplatystoma reticulatum x Leiarius marmoratus*) é um híbrido, originário do cruzamento entre espécie carnívora, o cachara (*Pseudoplatystoma reticulatum*), e onívora, o jundiá do norte (*Leiarius marmoratus*), o qual vem sendo produzido em algumas regiões do Brasil (Faria *et al.* 2011). Esse híbrido aceita melhor a ração que os juvenis de cachara puros, o que facilita o fornecimento de alimento nas fases iniciais e reduz o problema com canibalismo (Campos 2010).

Os carboidratos são a fonte mais barata de energia na dieta para os animais domésticos, mas a sua utilização como nutriente pelos peixes é variável e permanece ainda obscura (Wilson 1994). Apesar de não existirem exigências de carboidratos em dietas para peixes, sua inclusão em níveis adequados pode assegurar uma melhor eficiência na utilização de outros nutrientes, contribuir positivamente no processo de extrusão da dieta, além de ser uma fonte energética abundante e baixo custo em relação aos lipídeos e proteínas (Krogdahl *et al.* 2005).

De acordo com Wilson (1994), as espécies onívoras e herbívoras geralmente toleram maiores níveis de carboidratos que as espécies carnívoras, pois utiliza o carboidrato com maior eficiência como fonte energética. Por outro lado, peixes carnívoros utilizam os lipídios muito melhor que carboidratos devido a fatores morfológicos e fisiológicos destes animais. Por se tratar de um híbrido originado entre o cruzamento de um peixe carnívoro e onívoro, não se sabe de que forma estes animais se adaptam a elevados níveis de carboidratos na dieta.

Por outro lado, diferentes fontes de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) também influenciam de maneiras distintas a utilização de carboidrato (Worgall *et al.* 1998). Porém, seus efeitos na expressão de enzimas da via

glicolítica e sobre as vias de metabolização da glicose não são bem compreendidos.

De modo geral, os ácidos graxos poliinsaturados podem influenciar as enzimas envolvidas na regulação do metabolismo. Sabe-se que os PUFAs atuam como sinalizadores intracelulares, suprimindo a expressão de genes envolvidos na lipogênese e induzindo a transcrição de genes envolvidos na oxidação lipídica (Grimm *et al.*, 2002; citado por Andrade & Carmo 2006). Eles podem regular a expressão de genes envolvidos no metabolismo de carboidratos e lipídios, como o da glicoquinase hepática, piruvato quinase, piruvato desidrogenase, acil-CoA carboxilase e ácido graxo sintetase, através de fatores de transcrição como SREBP (*Sterol Regulatory Element Binding Proteins*) (Worgall *et al.* 1998).

O presente estudo tem como objetivo avaliar a influência da adição de diferentes níveis de carboidratos em dietas com diferentes fontes de lipídios sobre o metabolismo energético e o desenvolvimento inicial de Cachadia (*Pseudoplatystoma reticulatum x Leiarius marmoratus*).

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **Local e duração do experimento**

O experimento foi conduzido na Estação de Piscicultura, do Departamento de Zootecnia, da Universidade Federal de Lavras – UFLA, no período de julho a setembro de 2011, totalizando 80 dias, sendo 20 dias de adaptação ao sistema de recirculação e ao manejo experimental e 60 dias de fornecimento das diferentes dietas experimentais. Tal experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFLA, certificado pelo protocolo nº 028/12. As análises de avaliação enzimática foram realizadas no Laboratório

de Enzimologia do Departamento de Zootecnia da UFLA. O ensaio experimental foi conduzido em um laboratório de recirculação de água, provido com 40 caixas de fibra de vidro, com capacidade total de 100 litros. Este sistema é composto por biofiltro, filtro de areia e filtro ultravioleta. O fluxo de água nas caixas experimentais foi suficiente para três renovações totais de água a cada hora.

### **Animais e tratamentos**

Foram utilizados 520 juvenis de Cachadia (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus*) com peso inicial de  $82,87\text{g} \pm 25,36\text{g}$ , distribuídos aleatoriamente em quarenta tanques circulares de fibra de vidro.

As dietas foram formuladas de modo que ficassem isoproteicas e isoenergéticas, com 42% de proteína bruta e 4055 kcal/kg de energia bruta (Tabelas 1 e 2). As rações experimentais foram processadas e peletizadas no Laboratório de Nutrição do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras.

Tabela 2. Composição percentual das dietas experimentais

Ingredientes	NÍVEIS DE AMIDO DE MILHO							
	5%				25%			
Farinha de peixe <sup>1</sup>	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00
Gelatina	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
Ovoalbumina	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70	1,70
Farelo de soja	11,17	11,17	11,17	11,17	11,17	11,17	11,17	11,17
Óleo de linhaça (AG ω3)	11,00	-	-	-	2,20	-	-	-
Óleo de milho (AG ω6)	-	11,00	-	-	-	2,20	-	-
Óleo de oliva (AG ω9)	-	-	11,00	-	-	-	2,20	-
Óleo de peixe (AG EPA/DHA)	-	-	-	11,00	-	-	-	2,20
Amido de milho	5,00	5,00	5,00	5,00	25,00	25,00	25,00	25,00
Fosfato bicálcico	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50
Premix <sup>2</sup>	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
BHT	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
Celulose	7,80	7,80	7,80	7,80	4,00	4,00	4,00	4,00
Caulim	9,00	9,00	9,00	9,00	1,60	1,60	1,60	1,60
TOTAL	100	100	100	100	100	100	100	100

<sup>1</sup> Farinha de resíduo da indústria de filetagem de salmão <sup>2</sup>Composição do suplemento mineral e vitamínico (quantidade / kg): 1.500 UI de vitamina A; 15 mg de vitamina B2; 1000 UI de vitamina B3; 1000 UI de vitamina B12; 25 mg de vitamina E; 120 mg de vitamina PP; 2000 mg de colina; 80 mg de pantotenato de cálcio; 2 mg de ácido fólico; 170 mg de BHT; 80 mg de Mn,; 24 mg de Fe; 50 mg de Zn; 8 mg de Cu; 3 mg de I; 0,10 mg de Se.

Tabela 3. Composição bromatológica da ração – (% Matéria seca)

	5% Amido				25% Amido			
	Linh.	Milho	Oliva	Peixe	Linh.	Milho	Oliva	Peixe
Proteína bruta	44,44	45,61	43,94	44,00	45,58	45,32	44,13	44,98
Energia bruta	4767	4815	4812	4848	4617	4691	4682	4680
Extrato etéreo	18,42	18,88	18,13	20,05	9,54	9,03	9,91	9,47
Cinzas	17,61	17,86	17,96	18,18	11,75	11,63	11,92	11,85
Matéria seca	92,49	92,23	92,44	95,15	92,56	90,86	90,72	93,75
Relação EB:PB <sup>1</sup>	10,73	10,56	10,95	11,02	10,13	10,35	10,61	10,41

<sup>1</sup>Taxa Energia bruta/Proteína bruta.

### **Delineamento experimental**

Adotou-se um delineamento experimental inteiramente casualizado, com um fatorial 2x4 composto por dois níveis de amido de milho (5 e 25%) e quatro fontes de óleo (linhaça, oliva, milho e peixe). Cada tratamento foi fornecido a cinco caixas, totalizando 40 parcelas. Cada parcela foi constituída por 13 juvenis de Cachadia (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus*).

### **Protocolo Alimentar**

Os juvenis de cachadia foram alimentados duas vezes ao dia, às 8:00 e às 17:00 horas, e as caixas foram limpas após cada alimentação para coleta de restos de ração e retirada das excretas. A quantidade fornecida foi ajustada diariamente, conforme a saciedade dos juvenis (*ad libitum*). O consumo aparente foi mensurado pela quantidade de ração fornecida para cada caixa experimental menos a sobra corrigida para matéria natural, dividido pelo número de peixes na caixa.

### **Coletas experimentais de fígado e avaliação dos parâmetros de desempenho**

Foram realizadas duas coletas, a primeira aos 30 dias de experimento (Coleta 1) e outra ao final do experimento (Coleta 2). Para as coletas, os peixes foram mantidos em jejum por 24 horas e, posteriormente, sedados com benzocaína, numa concentração de 300 mg.L<sup>-1</sup> (Ross & Ross 2008) . Foram amostrados dois peixes por caixa em cada coleta. Os peixes foram pesados e tiveram o comprimento total e comprimento padrão aferidos. As amostras de tecido hepático foram coletadas, imediatamente pesadas, resfriadas em gelo e armazenadas a -20°C para posteriores análises de atividade enzimática.

### **Variáveis analisadas**

Durante as coletas experimentais, os juvenis foram pesados e medidos e tiveram o índice hepatossomático (IHS= Peso do fígado/peso do peixe) x 100) calculado. As variáveis de consumo de ração (CR= Consumo de ração aparente x dias experimentais), ganho de peso (GP = peso final – peso inicial), conversão alimentar (CA = Consumo de ração no período/Ganho de peso) e taxa de crescimento padrão (CP= Média do comprimento padrão final – média do comprimento padrão inicial.) foram mensuradas aos 30 e 60 dias de experimento.

Os tecidos hepáticos foram homogeneizados através de maceração, realizada nos eppendorfs, em tampão HEPES-KOH 25 mM, pH 7,2, na proporção de 5:1 de volume de tampão por peso da amostra. Após a maceração, as amostras foram levadas ao banho ultrassônico UNIQUE USC 700 (São Paulo, Brasil) por 10 minutos, posteriormente centrifugadas a 10000g à 4°C por 30 minutos e o sobrenadante coletado. Tal procedimento foi repetido três vezes, para então se realizar a determinação das atividades enzimáticas, conforme

metodologia proposta por Okamura (2009). A diluição do extrato foi padronizada para cada enzima avaliada, conforme a precisão da metodologia analítica e a leitura das atividades enzimáticas feitas em triplicata.

A quantificação de alanina aminotransferase (ALT) foi realizada utilizando o kit comercial DOLES (ALT/TGP). Aspartato aminotransferase (AST) foi feita através do kit comercial Labteste (AST-GOT Liquiform). As mensurações destas enzimas foram feitas através de leitor de microplacas, com filtro de 340 nm e incubados a 37°C por 5 minutos. A redução da absorbância em 340 nm foi proporcional a atividade da enzima.

A glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD, E.C.1.1.1.49) e enzima málica (EM, E.C.1.1.1.40) foram determinada segundo a metodologia proposta por Graeve (1994) e Spina et al. (1966), respectivamente. A cinética enzimática foi monitorada por leitor de microplacas NUNC F (Kamstrup, Dinamarca). O conteúdo de proteína solúvel total do fígado foi determinado pelo método de Bradford (1976), utilizando albumina sérica bovina (BSA) como.

A atividade enzimática (UI), definida como  $\mu$ moles de substrato convertido em seu respectivo produto, por minuto, foi expressa em mg de proteína solúvel hepática.

No período experimental, o controle dos parâmetros limnológicos foi realizado periodicamente. A temperatura foi controlada por uma sonda PT100, conectada a um controlador de temperatura N540, regulado para manter a temperatura da água em 28°C. O oxigênio dissolvido da água foi medido diariamente, com auxílio de um oxímetro digital portátil YSI. Amônia, nitrito, nitrato, e pH foram analisados semanalmente com kit comercial Alcon<sup>®</sup>.

### **Análises estatísticas**

Os resultados foram analisados com auxílio do software SAEG – Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas, proposto por Euclides (1997). As médias foram comparadas pelo teste de probabilidade de Student-Newman-Keuls. Os resultados de  $P < 0,05$  foram considerados significativos e os resultados que apresentaram  $P < 0,10$  foram avaliados como tendência estatística.

## **3. RESULTADOS**

### **Desempenho**

Os parâmetros limnológicos foram matidos dentro das faixas normais para a espécie. Os valores médios dos parâmetros avaliados foram: pH ( $7,1 \pm 0,3$  mg/L), oxigênio dissolvido ( $DO_2$ ) ( $3,6 \pm 0,5$  mg/L) e temperatura ( $27,8 \pm 0,3$  °C). Para manter os parâmetros avaliados, era realizada uma renovação de água do sistema quando necessário.

Os parâmetros de desempenho não foram influenciados pelos níveis de carboidrato na dieta, entretanto, foram influenciados ( $P < 0,10$ ) pelas diferentes fontes de óleo em ambas as coletas experimentais (Tabela 3 e 4). Aos 30 dias, a dieta contendo óleo de milho proporcionou o menor consumo de ração ( $P = 0,05$ ), não diferindo apenas da dieta contendo o óleo de oliva.

Aos 60 dias, todos os parâmetros de desempenho avaliados foram influenciados pela fonte de óleo. O GP ( $P = 0,03$ ) e o CR ( $P = 0,03$ ) foram maiores nas dietas com os óleos de linhaça, não diferindo das dietas contendo óleo de peixe. Os animais que tiveram os maiores valores de CP ( $P = 0,03$ ) foram aqueles alimentados com dieta contendo óleo de peixe, e os menores valores foram

encontrados nos animais alimentados com a dieta com óleo de milho. Já a maior CA ( $P=0,057$ ) entre as dietas experimentais foi observada nos animais que receberam com óleo de oliva, não diferindo da dieta contendo óleo de peixe.

Tabela 4. Efeito dos tratamentos nos parâmetros: ganho de peso (GP), crescimento padrão (CP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e índice hepatossomático de juvenis de cachadia (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus*) nos 30 e 60 dias de experimento

30 dias								
Parâmetros <sup>1</sup>	5%				25%			
	Linhaça-ω3	Milho-ω6	Oliva-ω9	Peixe-EPA/DHA	Linhaça-ω3	Milho-ω6	Oliva-ω9	Peixe-EPA/DHA
GP (g)	103,23±48,74	80,17±23,40	64,97±44,78	86,70±46,50	63,63±38,40	77,90±15,24	66,43±22,02	102,03±35,32
CP (cm)	5,14 ± 1,98	4,55 ± 1,07	3,38 ± 2,21	4,57 ± 1,81	3,62 ± 1,88	4,55 ± 0,68	4,07 ± 0,93	5,25 ± 1,30
CR (g)	71,97±14,22	61,25±14,99	54,88±14,59	71,26±20,20	71,30±6,98	56,65±9,15	69,09±12,26	69,42±6,33
CA <sup>2</sup>	0,78 ± 0,22	0,80 ± 0,20	1,13 ± 0,58	0,98 ± 0,41	1,48 ± 0,83	0,74 ± 0,09	1,17 ± 0,55	0,72 ± 0,16
60 dias								
Parâmetros <sup>1</sup>	5%				25%			
	Linhaça-ω3	Milho-ω6	Oliva-ω9	Peixe-EPA/DHA	Linhaça-ω3	Milho-ω6	Oliva-ω9	Peixe-EPA/DHA
GP(g)	129,22±60,39	107,15±55,99	58,40±18,46	107,91±61,03	136,04±8,96	89,94±29,82	96,07±44,66	125,07±15,99
CP (cm)	4,76 ± 1,86	5,31 ± 1,52	6,04 ± 1,77	7,18 ± 2,31	6,44 ± 1,74	5,08 ± 1,74	6,22 ± 0,31	7,43 ± 1,76
CR (g)	137,32±31,16	117,78±32,08	101,93±19,86	134,84±44,39	139,84±17,25	107,24±22,58	121,55±19,89	134,32±6,59
CA <sup>2</sup>	1,20 ± 0,40	1,24 ± 0,40	1,86 ± 0,50	1,46 ± 0,49	1,03 ± 0,10	1,23 ± 0,16	1,64 ± 1,07	1,09 ± 0,12

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls ( $P>0,10$ ); <sup>2</sup>g de ração/g peso vivo.

Tabela 5. Efeito dos tratamentos nos parâmetros: ganho de peso (GP), crescimento padrão (CP), consumo de ração (CR) e conversão alimentar (CA) de juvenis de cachadiah (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus*) nos 30 e 60 dias de experimento.

Parâmetros <sup>1</sup>	30 dias			
	Linhaça- $\omega$ 3	Milho- $\omega$ 6	Oliva- $\omega$ 9	Peixe-EPA/DHA
GP (g)	83,43 $\pm$ 28,97	79,03 $\pm$ 17,28	65,70 $\pm$ 29,88	94,37 $\pm$ 16,59
CP (cm)	3,64 $\pm$ 1,54	4,55 $\pm$ 0,78	3,73 $\pm$ 1,40	4,91 $\pm$ 1,39
CR (g)	71,64 $\pm$ 9,48 <sup>a</sup>	58,95 $\pm$ 10,80 <sup>b</sup>	61,98 $\pm$ 12,01 <sup>ab</sup>	70,34 $\pm$ 11,87 <sup>a</sup>
CA <sup>2</sup>	1,13 $\pm$ 0,28	0,77 $\pm$ 0,13	1,15 $\pm$ 0,31	0,85 $\pm$ 0,26

Parâmetros <sup>1</sup>	60 dias			
	Linhaça- $\omega$ 3	Milho- $\omega$ 6	Oliva- $\omega$ 9	Peixe-EPA/DHA
GP(g)	132,63 $\pm$ 21,02 <sup>a</sup>	98,55 $\pm$ 18,38 <sup>b</sup>	77,24 $\pm$ 18,23 <sup>b</sup>	116,49 $\pm$ 14,45 <sup>ab</sup>
CP (cm)	5,60 $\pm$ 1,61 <sup>ab</sup>	5,20 $\pm$ 1,46 <sup>b</sup>	6,13 $\pm$ 0,93 <sup>ab</sup>	7,31 $\pm$ 1,82 <sup>a</sup>
CR (g)	138,58 $\pm$ 21,65 <sup>a</sup>	112,51 $\pm$ 24,45 <sup>b</sup>	111,74 $\pm$ 17,77 <sup>b</sup>	134,58 $\pm$ 22,80 <sup>a</sup>
CA <sup>2</sup>	1,12 $\pm$ 0,13 <sup>b</sup>	1,24 $\pm$ 0,26 <sup>b</sup>	1,75 $\pm$ 0,41 <sup>a</sup>	1,27 $\pm$ 0,28 <sup>ab</sup>

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls (P>0,10); <sup>2</sup>g de ração/g peso vivo

Outro parâmetro mensurado foi o índice hepatossomático (IHS). Tal parâmetro foi influenciado (P<0,05) pelos níveis de carboidrato em ambas as coletas. Já aos 30 dias, o IHS foi modificado pelas fontes de óleo da dieta (Tabela 5). O IHS foi maior quando os níveis de carboidrato na dieta foram de 25%, independente da coleta. Nos 30 dias, o IHS foi maior quando os peixes foram alimentados com as dietas contendo óleo de linhaça (P=0,07), não diferindo somente da dieta acrescida de óleo de milho. Isso ocorreu independente do nível de carboidrato.

Tabela 6. Efeito dos tratamentos no Índice Hepatossomático (IHS) de juvenis de cachadã (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus*) aos 30 e 60 dias de experimento.

Fontes de óleo <sup>2</sup>	30 dias	
	5%	25%
Linhaça- $\omega$ 3	1,40 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>	2,28 $\pm$ 0,22 <sup>a</sup>
Milho- $\omega$ 6	1,41 $\pm$ 0,13 <sup>ab</sup>	1,86 $\pm$ 0,26 <sup>ab</sup>
Oliva- $\omega$ 9	1,37 $\pm$ 0,17 <sup>b</sup>	1,69 $\pm$ 0,44 <sup>b</sup>
Peixe-EPA/DHA	1,37 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>	1,89 $\pm$ 0,25 <sup>b</sup>
Médias <sup>1</sup>	1,39A	1,93B

Fontes de óleo <sup>2</sup>	60 dias	
	5%	25%
Linhaça- $\omega$ 3	1,24 $\pm$ 0,08	1,48 $\pm$ 0,17
Milho- $\omega$ 6	1,27 $\pm$ 0,11	1,42 $\pm$ 0,27
Oliva- $\omega$ 9	1,24 $\pm$ 0,21	1,44 $\pm$ 0,32
Peixe-EPA/DHA	1,29 $\pm$ 0,05	1,34 $\pm$ 0,10
Médias <sup>1</sup>	1,26A	1,42B

5% e 25% referem-se aos níveis de carboidratos da dieta; <sup>1</sup>Letras maiúsculas diferentes na linha de médias representa que houve influência dos níveis de carboidratos pelo teste F (P<0,10); <sup>2</sup>Médias seguidas por diferentes letras minúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls (P<0,10).

### Atividades Enzimáticas

Os diferentes níveis de carboidratos empregados na ração interferiram na atividade das enzimas hepáticas ALT e AST (P<0,05) em ambas as coletas (1 e 2). A atividade destas enzimas decresceram com o aumento dos níveis de carboidrato de 5 para 25%. Já as diferentes fontes de óleo não influenciaram na atividade destas enzimas (Tabela 6 e 7).

Tabela 7. Efeito dos tratamentos na atividade da enzima aspartato aminotransferase (AST) no tecido hepático de cachadina (*Pseudoplatystoma reticulatum x Leiarius marmoratus*), em duas coletas experimentais (em U/L).

Atividade enzimática - Aspartato aminotransferase		
Fontes de óleo	30 dias (coleta 1)	
	5%	25%
Linhaça- $\omega$ 3	1126,98 $\pm$ 209,05	520,39 $\pm$ 201,52
Milho- $\omega$ 6	1090,44 $\pm$ 121,62	440,15 $\pm$ 94,43
Oliva- $\omega$ 9	991,26 $\pm$ 261,4	518,45 $\pm$ 50,76
Peixe-EPA/DHA	1133,27 $\pm$ 151,74	401,19 $\pm$ 36,78
Médias	1085,49 A <sup>1</sup>	470,04 B
Fontes de óleo	60 dias (coleta 2)	
	5%	25%
Linhaça- $\omega$ 3	901,28 $\pm$ 178,45	411,28 $\pm$ 59,07
Milho- $\omega$ 6	868,03 $\pm$ 184,65	381,31 $\pm$ 109,8
Oliva- $\omega$ 9	926,66 $\pm$ 160,17	408,28 $\pm$ 63,37
Peixe-EPA/DHA	904,04 $\pm$ 141,46	462,63 $\pm$ 196,15
Médias	900,00A	415,88B

<sup>1</sup>Letras diferentes no nível de carboidrato (5 e 25%) representam que os níveis diferem entre si pelo teste Student-Newman-Keuls (P<0,05);

Tabela 8 Efeito dos tratamentos na atividade da enzima aspartato aminotransferase (ALT) no tecido hepático de cachadã (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus*), em duas coletas experimentais (em U/L).

Atividade enzimática - Alanina aminotransferase		
Fontes de óleo	30 dias (coleta 1)	
	5%	25%
Linhaça- $\omega$ 3	36,96 $\pm$ 12,86	29,45 $\pm$ 8,24
Milho- $\omega$ 6	33,99 $\pm$ 12,27	30,21 $\pm$ 10,32
Oliva- $\omega$ 9	36,49 $\pm$ 14,32	30,38 $\pm$ 12,04
Peixe-EPA/DHA	35,39 $\pm$ 8,21	21,24 $\pm$ 9,7
Médias	35,71A	27,82B
Fontes de óleo	60 dias (coleta 2)	
	5%	25%
Linhaça- $\omega$ 3	51,04 $\pm$ 18,62	50,40 $\pm$ 12,74
Milho- $\omega$ 6	60,24 $\pm$ 21,89	45,86 $\pm$ 12,20
Oliva- $\omega$ 9	54,71 $\pm$ 6,83	46,97 $\pm$ 7,79
Peixe-EPA/DHA	64,78 $\pm$ 8,77	48,07 $\pm$ 7,37
Médias	57,69A	47,83B

<sup>1</sup>Letras diferentes no nível de carboidrato (5 e 25%) representam que os níveis diferem entre si pelo teste Student-Newman-Keuls ( $P < 0,05$ );

A atividade de G6PD aumentou significativamente na coleta 1, com o aumento dos níveis de carboidrato. Porém, na coleta 2, os níveis de carboidrato não influenciaram a atividade dessa enzima (Tabela 8). O mesmo se observou na EM (Tabela 9), onde os carboidratos não interferiram na atividade enzimática. Já a atividade das enzimas lipogênicas G6PD e EM foram alteradas pela interação das diferentes fontes de óleo e dos níveis de carboidratos.

Tabela 9. Efeito dos tratamentos na atividade da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (em U/mg de proteína) no tecido hepático de cachadã (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus*), em duas coletas experimentais.

Atividade Enzimática – Glicose-6-P Desidrogenase		
Fontes de óleo <sup>2</sup>	30 dias (coleta 1) <sup>4</sup>	
	5%	25%
Linhaça- $\omega$ 3	0,046 $\pm$ 0,005	0,078 $\pm$ 0,024 <sup>a</sup>
Milho- $\omega$ 6	0,085 $\pm$ 0,039A	0,040 $\pm$ 0,021 <sup>b</sup> B
Oliva- $\omega$ 9	0,044 $\pm$ 0,019B	0,087 $\pm$ 0,025 <sup>a</sup> A
Peixe-EPA/DHA	0,053 $\pm$ 0,026B	0,096 $\pm$ 0,036 <sup>a</sup> A
Médias	0,057 A	0,075 B
Fontes de óleo <sup>2</sup>	60 dias (coleta 2) <sup>4</sup>	
	5%	25%
Linhaça- $\omega$ 3	0,223 $\pm$ 0,053	0,200 $\pm$ 0,071 <sup>ab</sup>
Milho- $\omega$ 6	0,123 $\pm$ 0,043B	0,244 $\pm$ 0,108 <sup>a</sup> A
Oliva- $\omega$ 9	0,183 $\pm$ 0,033	0,122 $\pm$ 0,036 <sup>bc</sup>
Peixe-EPA/DHA	0,146 $\pm$ 0,061	0,085 $\pm$ 0,047 <sup>c</sup>
Médias	0,169	0,163

5% e 25% referem-se aos níveis de carboidratos da dieta; <sup>1</sup>Médias seguidas de diferentes letras na coluna diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls ( $P < 0,05$ ); <sup>2</sup>Letras minúsculas diferentes no nível de carboidrato (5 e 25%) representam que os níveis diferem entre si pelo teste Student-Newman-Keuls ( $P < 0,05$ ); <sup>3</sup>Letras maiúsculas diferentes na mesma linha (fonte de óleo) representam que houve interação da fonte de óleo e dos níveis de carboidratos.

Nos 30 dias, as dietas contendo os óleos de oliva e peixe aumentaram a atividade das enzimas G6PD e EM quando houve o acréscimo do nível de carboidrato. Já a dieta com óleo de milho diminuiu a atividade de ambas as enzimas ao aumentar o carboidrato da dieta. O óleo de linhaça, porém, não influenciou a atividade de nenhuma das enzimas com o aumento dos níveis de carboidrato.

Tabela 10. Efeito dos tratamentos na atividade da enzima málica (em U/mg de proteína) no tecido hepático de cachadia (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *Leiarius marmoratus*), em duas coletas experimentais.

Atividade enzimática – Enzima málica		
Fontes de óleo <sup>2</sup>	30 dias (coleta 1)	
	5%	25%
Linhaça- $\omega$ 3	0,160 $\pm$ 0,066 <sup>b</sup>	0,174 $\pm$ 0,041 <sup>b</sup>
Milho- $\omega$ 6	0,360 $\pm$ 0,092 <sup>aA</sup>	0,147 $\pm$ 0,099 <sup>bB</sup>
Oliva- $\omega$ 9	0,124 $\pm$ 0,026 <sup>bB</sup>	0,304 $\pm$ 0,128 <sup>aA</sup>
Peixe-EPA/DHA	0,132 $\pm$ 0,013 <sup>bB</sup>	0,327 $\pm$ 0,161 <sup>aA</sup>
Médias	0,194	0,238
Fontes de óleo <sup>2</sup>	60 dias (coleta 2)	
	5%	25%
Linhaça- $\omega$ 3	0,256 $\pm$ 0,113 <sup>ab</sup>	0,261 $\pm$ 0,095 <sup>b</sup>
Milho- $\omega$ 6	0,110 $\pm$ 0,055 <sup>b</sup>	0,238 $\pm$ 0,129 <sup>b</sup>
Oliva- $\omega$ 9	0,314 $\pm$ 0,140 <sup>aA</sup>	0,148 $\pm$ 0,088 <sup>bB</sup>
Peixe-EPA/DHA	0,230 $\pm$ 0,158 <sup>abB</sup>	0,534 $\pm$ 0,063 <sup>aA</sup>
Médias	0,228	0,295

5% e 25% referem-se aos níveis de carboidratos da dieta; <sup>1</sup>Letras minúsculas diferentes no nível de carboidrato (5 e 25%) representam que os níveis diferem entre si pelo teste Student-Newman-Keuls (P<0,05); <sup>3</sup>Letras maiúsculas diferentes na mesma linha (fonte de óleo) representam que houve interação da fonte de óleo e dos níveis de carboidratos.

Ainda aos 30 dias, quando o nível de carboidrato foi de 5%, os peixes alimentados com a dieta contendo óleo de milho apresentaram a atividade da EM aumentada, em relação aos demais óleos. Todavia, no nível de 25%, o óleo de milho provocou uma menor atividade de G6PD. O mesmo foi observado para EM, porém o óleo de linhaça não foi diferente (P<0,05) do óleo de milho, tal qual os demais, que apresentaram maiores atividades de EM.

Influência das fontes de óleo na atividade das enzimas foram encontradas na coleta 2. O óleo de peixe promoveu a menor atividade da enzima

G6PD, não sendo diferente ( $P < 0,05$ ) do óleo de oliva. Porém, ao se avaliar a EM, o óleo de peixe promoveu sua maior atividade.

Houve também interação entre as fontes de óleo e os níveis de carboidrato nessa coleta ( $P < 0,05$ ). A dieta acrescida de óleo de milho aumentou a atividade da enzima G6PD quando houve o acréscimo do nível de carboidrato. O mesmo foi constatado nos peixes alimentados com o óleo de peixe em relação à EM. O óleo de oliva diminuiu a atividade da EM quando o nível de carboidrato foi aumentado. Já os demais AGs não apresentaram interação com os níveis de carboidratos na dieta.

Ainda aos 60 dias, quando o nível de carboidrato foi de 5%, a dieta contendo óleo de milho promoveu uma menor atividade da EM, não sendo diferente ( $P < 0,05$ ) das dietas com linhaça e peixe. Já no nível de 25% de carboidrato, o óleo de peixe provocou um aumento da atividade da EM. Porém, ao observar-se a atividade da enzima G6PD nas dietas contendo 25% de carboidratos, o óleo de peixe promoveu sua menor atividade, não sendo estatisticamente diferente ( $P < 0,05$ ) do óleo de oliva. Por sua vez, o óleo de milho causou a maior atividade dessa enzima, G6PD, não diferindo estatisticamente apenas do óleo de linhaça.

#### **4. DISCUSSÃO**

Os peixes, principalmente os carnívoros, apresentam limitada capacidade de utilizar o carboidrato da dieta como fonte energética. Porém, não existe uma base fisiológica totalmente elucidada para explicar essa baixa utilização. Tal ineficiência de processar a glicose como substrato energético pode ocorrer devido a uma secreção de insulina insuficiente ou por diferenças nas atividades das enzimas glicolíticas ou gliconeogênicas (Enes *et al.* 2009).

Devido ao fato do cachadã (*Pseudoplatystoma reticulatum x Leiarius marmoratus*) tratar-se de um híbrido entre espécies de hábitos alimentares diferentes, carnívoro e onívoro, não se sabe ao certo de que forma este animal utiliza o carboidrato.

Estudos com surubim (*Pseudoplatystoma corruscans x Pseudoplatystoma fasciatum*) alimentados com dietas contendo de 5 a 20% de carboidrato na forma de amido, também não tiveram o desempenho afetado (Okamura 2009).

Já juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), uma espécie onívora, alimentados com dietas contendo 38,8% de carboidrato na forma de amido, não apresentaram diferenças no desempenho após 60 dias de experimento (Baldan 2008).

Neste estudo, os níveis de carboidrato de 5 e 25 % não diferenciaram no ganho de peso (GP), crescimento padrão (CP), consumo de ração (CR) e conversão alimentar (CA). O nível de 25% utilizado no presente trabalho foi intermediário aos trabalhos citados. Isso demonstra que o cachadã suporta altas concentrações de carboidrato na dieta sem ter os parâmetros de desempenho alterados.

Diferente dos carboidratos, as distintas fontes de óleo influenciaram os parâmetros de desempenho, principalmente aos 60 dias. Apenas o CR foi afetado pela fonte de óleo nos 30 dias. Portanto, foi necessário um maior tempo experimental para que as fontes de óleo induzissem diferenças nos demais parâmetros de desempenho avaliados.

Os resultados do presente trabalho estão de acordo com aqueles encontrados com truta marrom do Mar Caspio (Kenari *et al.* 2011), *gilthead sea bream* (Montero *et al.* 2008), *eurasian perch* (Xu & Kestemont 2002) e cobia (Trushenski *et al.* 2011). Essas espécies tiveram o desempenho afetado significativamente pela inclusão de diferentes fontes de óleo na dieta. No

entanto, o pintado (Martino *et al.* 2002), a truta arco íris (Caballero *et al.* 2002) e o *sharp snout sea bream* (Piedecausa *et al.* 2007), quando alimentados com dietas acrescidas de diferentes fontes de lipídios, não apresentaram divergências no desempenho.

As alterações nos parâmetros de desempenho, como GP, CP, CR e CA, observadas nos peixes alimentados com os distintos tratamentos, podem ser explicadas pela exigência de ácidos graxos essenciais (AGE) da espécie. Fontes como óleo de linhaça e de peixe, ricos em  $\omega 3$  PUFA e  $\omega 3$  HUFA, respectivamente, foram as dietas que apresentaram os maiores valores de GP, CP e CR. O óleo de milho, rico em AG da família  $\omega 6$ , e de oliva, rico em AG da família  $\omega 9$ , são deficientes em AG  $\omega 3$ , o que justifica o menor desempenho desse híbrido.

De acordo com Xu & Kestemont (2002), os AG  $\omega 6$  e  $\omega 3$  são essenciais para o crescimento. Contudo, o óleo de milho influenciou negativamente o desempenho de cachadã, possivelmente devido a um desequilíbrio entre  $\omega 3/\omega 6$ . Resultados semelhantes da queda de desempenho devido a baixa relação  $\omega 3/\omega 6$ , foram encontrados em salmão do atlântico (Berge *et al.* 2009) e *gilthead sea bream* (Ibeas *et al.* 1994).

O maior valor de CA encontrado aos 60 dias foi notado nos animais alimentados com a dieta de óleo de oliva. Esse resultado acorda com Xu & Kestemont (2002), em estudos de fontes de óleo na alimentação de *eurasian perch*. Tal óleo é uma fonte pobre em AGE, o que pode levar a diversas disfunções metabólicas e queda no desempenho.

O maior IHS foi observado nas dietas com maiores níveis de carboidrato. Várias outras espécies de peixes, como *gilthead* dourada (García de Frutos *et al.* 1990), *silver sea bream* (Leung & Who 2012), truta arco-íris (Hilton & Atkinson 1982; Baños *et al.* 1998) e robalo (Pérez-Jiménez *et al.* 2007) alimentados com dietas ricas em carboidratos também apresentam maior

IHS e deposição de glicogênio hepático. No entanto, em outra pesquisa com *red drum* (Serrano *et al.* 1992), bacalhau (Hemre *et al.* 1989), e robalo (Peres & Oliva-Teles 2002), o aumento do IHS foi associado com a maior deposição lipídica hepática.

No presente estudo, o IHS pode ter sido alterado pela maior atividade da enzima G6PD, observada quando se acresceu os níveis de carboidratos. Esse aumento na atividade de G6PD possivelmente está relacionado a um excesso de glicose da dieta ou a uma deficiência de lipídios, o que implicaria a maior síntese endógena de lipídios.

Quanto às transaminases, foi observada uma queda significativa na atividade de ALT e AST com o aumento dos níveis de carboidratos. A diminuição na atividade dessas enzimas indica que o carboidrato da dieta foi utilizado eficientemente como fonte energética. Isso sugere a menor ocorrência de catabolismo de aminoácidos para serem utilizados como fonte de energia (gliconeogênese).

Os carboidratos proporcionaram um maior efeito poupador de proteína, visto que as dietas foram isoenergéticas e o aumento da inclusão de carboidrato na dieta é acompanhado por uma diminuição dos níveis de lipídio. Resultados semelhantes foram encontrados em salmão do atlântico (Fynn-Aikins *et al.* 1995), *Labeo rohita* (Kumar *et al.* 2009) e em truta arco-íris (Brauge *et al.* 1994). Esses autores observaram também maior efeito dos carboidratos que os lipídios para poupar proteína.

No presente estudo, as enzimas avaliadas redutoras de NADP<sup>+</sup>, G6PD e EM, apresentaram comportamentos variados. Suas atividades foram dependentes das coletas experimentais, dos níveis de carboidratos, das fontes de óleo e da interação entre fontes de óleo e níveis de carboidratos.

Dentre as avaliações enzimáticas realizadas, a EM não respondeu aos diferentes níveis de carboidratos. Já a G6PD foi influenciada pela variação dos

teores de carboidrato da dieta, na coleta 1. Observou-se um aumento da atividade dessa enzima com o aumento dos níveis de carboidrato. O presente resultado leva a duas possíveis explicações: ou o animal utilizou bem o nível elevado de glicose fornecido pela dieta ou o aumento do carboidrato e consequente diminuição de lipídios proporcionaram um quadro de deficiência de AG, sendo necessário maior lipogênese para suprir sua necessidade.

Resultados semelhantes foram encontrados em truta arco íris (Dias *et al.* 1999), esturjão branco (Fynn-Aikins *et al.* 1992) e pintado (Okamura 2009). Porém na aos 60 dias, os carboidratos não influenciaram a atividade da EM e G6PD. Isso pode ser explicado, em partes, pelas exigências nutricionais desses animais serem diferentes entre as coletas e pela adaptação fisiológica do animal à dieta. Observou-se que os parâmetros de desempenho e o IHS foram alterados aos 60 dias.

De acordo com Sargent *et al.* (2002), os requerimentos de AGE variam com o estágio de desenvolvimento e possivelmente estágio fisiológico do peixe. Nos 30 dias, os animais coletados tinham peso de  $163,13 \pm 15,8g$ , enquanto que aqueles coletados aos 60 dias apresentaram peso de  $269,36 \pm 25,16g$ . Faria *et al.* (2011), avaliando diferentes densidades de estocagem para esse híbrido, classificou os pesos médios encontrados nesse experimento em duas diferentes categorias.

Tal variação nos pesos entre as coletas sugerem possíveis diferenças em relação à necessidade nutricional. Em geral, peixes maiores apresentam menores exigências de AG destinados à função estrutural. A maior atividade de G6PD aos 30 dias, quando se aumentou os níveis de carboidrato, teria uma função de síntese de AG, já que esses animais possivelmente apresentam maior exigência de lipídios. Contudo, aos 60 dias, a atividade dessa enzima diminuiu, provavelmente pela menor exigência de AG dessa categoria.

Aos 30 dias de experimento, observaram-se diferenças relativas às fontes de óleo, ao se avaliar a atividade da EM e G6PD dentro de cada nível de carboidrato. De modo geral, a atividade da G6PD parece responder mais aos níveis de carboidrato da dieta, enquanto que a EM tende a responder mais as diferentes fontes de óleo.

O óleo de milho induziu maior atividade da EM no nível de 5% de carboidrato, na coleta 1, enquanto que a G6PD não apresentou diferenças para essa avaliação. De acordo com Bandarra *et al.* (2011), a maior lipogênese ocorre quando a proporção de  $\omega 3/\omega 6$  é menor. No nível de 5% de carboidrato, a inclusão de óleo na dieta é maior, aproximadamente 11%. Esse maior nível de óleo favoreceu a menor relação  $\omega 3/\omega 6$ , visto que a farinha de peixe, usada em quantidade iguais em todas as dietas experimentais, é fonte de AG  $\omega 3$ . Tal menor relação, por sua vez, promoveu o aumento da lipogênese.

Logo, ao nível de 25% de carboidrato, o óleo de milho induziu as menores atividades da enzima G6PD e EM, na coleta 1. No entanto, o óleo de milho não diferiu do óleo de linhaça para a atividade da EM. Quando se aumentou os teores de carboidratos na dieta, os níveis de inclusão de óleo de milho diminuíram. Isso favoreceu o aumento da relação  $\omega 3/\omega 6$ . O aumento da relação  $\omega 3/\omega 6$  poderia promover, portanto, a queda na atividade das enzimas G6PD e EM.

Resultados semelhantes foram encontrados em gilthead sea bream (Bandarra *et al.* 2011) e salmão do atlântico (Menoyo *et al.* 2003), onde as diferentes relações de  $\omega 3/\omega 6$  interferiram efetivamente na atividade da EM e G6PD.

A G6PD não diferiu no nível de 5% de carboidrato ( $P>0,05$ ) aos 60 dias. Já o óleo de oliva induziu maior atividade da EM, em comparação ao óleo de milho. Tal divergência observada na atividade enzimática da EM possivelmente pode ser explicada pela diferença de CA encontrada para esses dois óleos.

A maior CA considerada para o óleo de oliva está relacionada à pior utilização da dieta, já que não houve diferença no CR e no desempenho entre os óleos de oliva e milho. Os peixes alimentados com as dietas de óleo de milho apresentaram a melhor taxa de CA. Dessa forma, o óleo de oliva foi pior utilizado que o óleo de milho como fonte energética para o crescimento. Tal pior utilização poderia promover déficit energético acentuado nesses animais, e possivelmente um déficit de lipídios, o que explicaria uma maior atividade da EM para a síntese endógena de lipídios para fins estruturais.

Possivelmente a pior utilização do óleo de oliva também pode estar relacionada com a deficiência de AGE. Acredita-se que os AG  $\omega 6$  e  $\omega 3$  possam ser essenciais para o crescimento (Xu & Kestemont 2002) e para o melhor aproveitamento da dieta. Os óleos de milho e oliva proporcionaram os piores desempenhos. Contudo, o óleo de milho, rico em PUFA  $\omega 6$ , é nutricionalmente essencial, e é alongado e dessaturado para desempenhar as suas diversas funções metabólicas. Já o óleo de oliva é alongado e dessaturado em deficiência de AGE, formando o ácido trienóico (Klein & Johnson 1954; Sardesai 1992). Porém, o ácido trienóico não é um AG fisiologicamente essencial para o metabolismo.

A maior síntese do ácido trienóico provocaria um acúmulo no organismo. Tal síntese demanda NADPH, gerado nesse caso pela EM. Além disso, o acúmulo do ácido trienóico dificulta sua utilização para fins energéticos. Esse AG, devido ao maior número de insaturações, precisa passar por outros processos, como a oxidação peroxissomal, antes da  $\beta$ -oxidação, além de que a oxidação de AG insaturados produz menos energia que os ácidos graxos saturados (Champe *et al.* 2008).

A atividade das enzimas G6PD e EM foram influenciadas pelas diferentes fontes de óleo adicionadas na dieta. Estudos anteriores demonstraram que truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), salmão atlântico (*Salmo salar*) e tilápia (*Oreochromis niloticus*) alimentados com dietas ricas em óleo de peixe

(AG EPA/DHA) apresentaram menor atividade da EM e G6PD (Alvarez *et al.* 2000; Menoyo *et al.* 2003; Ribeiro *et al.* 2008).

Os resultados encontrados foram condizentes com esses trabalhos, em relação à G6PD na dieta com 25% de carboidrato aos 60 dias de experimento. A dieta com óleo de peixe promoveu a menor atividade dessa enzima, não sendo diferente apenas do óleo de oliva. A maior atividade dessa enzima, associada aos óleos de linhaça e milho, podem estar ocorrendo devido à necessidade de alongação e dessaturação. Os AG  $\omega 3$  e  $\omega 6$ , presentes nessas fontes, precisam passar para a síntese dos HUFA, como EPA ( $\omega 3$ ), DHA ( $\omega 3$ ) e ARA ( $\omega 6$ ).

Os óleos vegetais, especialmente aqueles ricos em 18:3  $\omega 3$ , aumentam o processo de alongação e dessaturação dos ácidos graxos, tanto a nível molecular quanto enzimático (Tocher *et al.* 2002; Zheng *et al.* 2005). Em peixes, o fígado apresenta-se como o principal local para o alongamento e dessaturação de AG (Sargent *et al.* 2002).

O óleo de peixe, rico em EPA e DHA, fornece os ácidos graxos fisiologicamente essenciais prontos para desempenharem suas diversas funções metabólicas. Assim não necessitam serem alongados e dessaturados (Menoyo *et al.* 2006). Já o óleo de oliva, rico em MUFA  $\omega 9$  e pobre em AGE, não diferiu do óleo de peixe. A menor lipogênese induzida por esse óleo pode ter ocorrido devido ao menor consumo de ração, e conseqüentemente menor disponibilidade energética.

Outra possível explicação para essa menor lipogênese induzida por esse óleo pode ser entendida. O AG  $\omega 9$ , é alongado e dessaturado em situações de deficiência de ácidos graxos essenciais (AGE), para formar ácidos eicosatrienoicos. O aumento de um ácido trienoico, particularmente o (C20:3n-9), altera a importante relação trieno:tetraeno, que é utilizado com marcador de deficiência de ácidos graxos essenciais (Klein & Johnson 1954; Sardesai 1992).

O processo de alongação e dessaturação do AG  $\omega$ 9 possivelmente pode ser realizada em menor velocidade que aquele apresentado em PUFA  $\omega$ 3 e  $\omega$ 6.

A EM respondeu de forma diferente da G6PD, em relação às fontes de óleos no nível de 25% de carboidratos aos 60 dias de experimento. A maior atividade dentre as distintas fontes foi encontrada na dieta com óleo de peixe. Acredita-se que o óleo de peixe atue favorecendo a oxidação lipídica, através da ação do PPAR (*peroxisome proliferator-activated receptors*), e desacelerando a expressão de genes envolvidos na lipogênese, via supressão da expressão gênica e da translocação nuclear dos SREBP (*sterol regulatory element binding proteins*) (Andrade *et al.* 2006).

Através de tal processo, o óleo de peixe poderia influenciar uma maior atividade da EM, o que aumentaria os níveis de piruvato possivelmente destinados a gliconeogênese. Os peixes parecem apresentar uma inadequada regulação entre glicólise e gliconeogênese (Enes *et al.* 2009). Mesmo com elevados níveis de carboidrato na dieta, esses animais continuam a sintetizar glicose a partir de compostos gliconeogênicos, tais como o piruvato (Enes *et al.* 2009). Contudo, essa via de síntese de piruvato através do malato parece ser menos provável. Diversos outros meios de formação de piruvato estão presentes no metabolismo, tais como a transaminação de aminoácidos e a glicolise. Além de que, o oxaloacetato, necessário para a síntese de malato via ciclo de Krebs, é um intermediário da gliconeogênese.

Os peixes que foram alimentados com as dietas acrescidas de óleo de linhaça, rico em AG  $\omega$ 3, não apresentaram alteração na atividade das enzimas G6PD e EM. Tal comportamento foi independente dos níveis de carboidratos e das coletas experimentais. Observou-se, portanto, um nível constante de síntese de NADPH e conseguinte lipogênese. Tal constância na atividade enzimática da G6PD e EM possivelmente ocorreu pela alta relação  $\omega$ 3/ $\omega$ 6 proporcionada pelo óleo de linhaça, mesmo nos níveis mais altos de carboidrato. A necessidade de

síntese de NADPH para os processos de alongação e dessaturação parece terem sido constantes, independente do nível de carboidrato e das coletas.

## 5. CONCLUSÃO

Nas condições em que se desenvolveram o presente estudo, conclui-se que os níveis de 25% de carboidrato na dieta foi bem utilizado pelo cachadiao (*♀Pseudoplatystoma reticulatum x ♂Leiarius marmoratus*), além de ter promovido um melhor efeito poupador de proteínas.

Os peixes alimentados com as dietas contendo os óleos de peixe e linhaça tiveram os melhores valores de desempenhos. Já aqueles animais alimentados com as dietas contendo os óleos de milho e oliva apresentaram os piores valores de desempenho.

A atividade das enzimas hepáticas foi dependente das fontes de óleo. Observou-se aos 30 dias que os óleos de oliva e peixe proporcionaram as maiores atividade das enzimas málica e glicose-6-fosfato desidrogenase, nas dietas com maiores níveis de carboidrato. Aos 60 dias de experimento, como se esperava, notou-se que o óleo de peixe inibiu a lipogênese em cachadiao.

Conclui-se que a nutrição apresenta-se como fator determinante na modulação da lipogênese no cachadiao. A melhor ou pior utilização de carboidratos por essa espécie passa pela fonte de óleo fornecida. Tal ponderação se faz importante, considerando o pobre aproveitamento de carboidratos por espécies carnívoras. Estudos com espécies estritamente carnívoras, porém, se fazem necessários.

## REFERÊNCIAS

- Alvarez, M.J., Díez, A., López-Bote, C., Gallego, M. & Bautista, J.M. (2000) Short-term modulation of lipogenesis by macronutrients in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. *British Journal of Nutrition*, **84**, 619-628.
- Andrade, P.M. & Carmo, M.G.T. (2006) Ácidos graxos n-3: um link entre eicosanóides, inflamação e imunidade. *Revista Mn-Metabólica*, **8**, 135-143.
- Baldan, A.P. (2008) Avaliação da tolerância do pacu (*Piaractus mesopotamicus*) a carboidratos In *Centro de Aquicultura da UNESP*, Vol. Doutorado, pp. 119. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- Bandarra, N.M., Rema, P., Batista, I., Pousão-Ferreira, P., Valente, L.M.P., Batista, S.M.G. & Ozório, R.O.A. (2011) Effects of dietary n-3/n-6 ratio on lipid metabolism of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *European Journal of Lipid Science and Technology*, **113**, 1332-1341.
- Baños, N., Baró, J., Castejón, C., Navarro, I. & Gutiérrez, J. (1998) Influence of high-carbohydrate enriched diets on plasma insulin levels and insulin and IGF-I receptors in trout. *Regulatory Peptides*, **77**, 55-62.
- Berge, G.M., Witten, P.E., Baeverfjord, G., Vegusdal, A., Wadsworth, S. & Ruyter, B. (2009) Diets with different n-6/n-3 fatty acid ratio in diets for juvenile Atlantic salmon, effects on growth, body composition, bone development and eicosanoid production. *Aquaculture*, **296**, 299-308.
- Bradford, M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, **72**, 248-254.
- Brauge, C., Medale, F. & Corraze, G. (1994) Effect of dietary carbohydrate levels on growth, body composition and glycaemia in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, reared in seawater. *Aquaculture*, **123**, 109-120.
- Caballero, M.J., Obach, A., Rosenlund, G., Montero, D., Gisvold, M. & Izquierdo, M.S. (2002) Impact of different dietary lipid sources on growth, lipid digestibility, tissue fatty acid composition and histology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, **214**, 253-271.
- Campos, J.L. (2010) O cultivo do pintado (*Pseudoplatystoma corruscans* Spix & Agassiz, 1829) e outras espécies do gênero *Pseudoplatystoma* e seus híbridos In *Espécies nativas para piscicultura no Brasil* (Baldissserotto, B. & de Carvalho Gomes, L. eds.), pp. 335-361. UFSM.
- Champe, P.C., Harvey, R.A. & Ferrier, D.R. (2008) *Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry*, Health.

- Dias, J., Corraze, G., Arzel, J., Alvarez, M.J., Bautista, J.M., Lopez-Bote, C. & Kaushik, S.J. (1999) Nutritional control of lipid deposition in rainbow trout and European seabass: Effect of dietary protein energy ratio. *Cybium*, **23**, 127-137.
- Enes, P., Panserat, S., Kaushik, S. & Oliva-Teles, A. (2009) Nutritional regulation of hepatic glucose metabolism in fish. *Fish Physiology and Biochemistry*, **35**, 519-539.
- Euclides, R.F. (1997) Manual de utilização do programa SAEG - Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas, pp. 150. UFV, Viçosa.
- Faria, P.M.C., Luz, R.K., Prado, S.A., Turra, E.M., Jorge, T.B.F., Lana, A.M.Q. & Teixeira, E.A. (2011) Produção do híbrido "cachadia" em diferentes densidades de estocagem em sistema de recirculação de água. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, **63**, 1208-1214.
- Fynn-Aikins, K., Hughes, S.G. & Vandenberg, G.W. (1995) Protein retention and liver aminotransferase activities in Atlantic salmon fed diets containing different energy sources. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, **111**, 163-170.
- Fynn-Aikins, K., Hung, S.S.O., Liu, W. & Li, H.B. (1992) Growth, lipogenesis and liver composition of juvenile white sturgeon fed different levels of D-glucose. *Aquaculture*, **105**, 61-72.
- García de Frutos, P., Bonamusa, L., Fernández, F. & Baanante, I.V. (1990) Fructose 2,6-bisphosphate in liver of *Sparus aurata*: influence of nutritional state. *Comparative biochemistry and physiology. B, Comparative biochemistry*, **96**, 63-65.
- Graeve, K., von Schaewen, A. & Scheibe, R. (1994) Purification, characterization, and cDNA sequence of glucose-6-phosphate dehydrogenase from potato (*Solanum tuberosum* L.). *The Plant Journal*, **5**, 353-361.
- Hemre, G.-I., Lie, Ø., Lied, E. & Lambertsen, G. (1989) Starch as an energy source in feed for cod (*Gadus morhua*): Digestibility and retention. *Aquaculture*, **80**, 261-270.
- Hilton, J.W. & Atkinson, J.L. (1982) Response of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to increased levels of available carbohydrate in practical trout diets. *British Journal of Nutrition*, **47**, 597-607.
- Ibeas, C., Izquierdo, M.S. & Lorenzo, A. (1994) Effect of different levels of n-3 highly unsaturated fatty acids on growth and fatty acid composition of juvenile gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, **127**, 177-188.
- Kenari, A.A., Mozanzadeh, M.T. & Pourgholam, R. (2011) Effects of total fish oil replacement to vegetable oils at two dietary lipid levels on the growth, body composition, haemato-immunological and serum biochemical parameters in caspian brown trout (*Salmo trutta caspius* Kessler, 1877). *Aquaculture Research*, **42**, 1131-1144.

- Klein, P.D. & Johnson, R.M. (1954) A study of the onset of unsaturated fatty acid deficiency in subcellular particles of rat livers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **48**, 380-385.
- Krogdahl, Å., Hemre, G.I. & Mommsen, T.P. (2005) Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. *Aquaculture Nutrition*, **11**, 103-122.
- Kumar, S., Sahu, N.P., Pal, A.K., Sagar, V., Sinha, A. & Baruah, K. (2009) Modulation of key metabolic enzyme of *Labeo rohita* (Hamilton) juvenile: effect of dietary starch type, protein level and exogenous  $\alpha$ -amylase in the diet. *Fish Physiology and Biochemistry*, **35**, 301-315.
- Leung, L.Y. & Woo, N.S. (2012) Influence of dietary carbohydrate level on endocrine status and hepatic carbohydrate metabolism in the marine fish *Sparus sarba*. *Fish Physiology and Biochemistry*, **38**, 543-554.
- Martino, R.C., Cyrino, J.E.P., Portz, L. & Trugo, L.C. (2002) Performance and fatty acid composition of surubim (*Pseudoplatystoma coruscans*) fed diets with animal and plant lipids. *Aquaculture*, **209**, 233-246.
- Menoyo, D., Diez, A., Lopez-Bote, C.J., Casado, S., Obach, A. & Bautista, J.M. (2006) Dietary fat type affects lipid metabolism in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and differentially regulates glucose transporter GLUT4 expression in muscle. *Aquaculture*, **261**, 294-304.
- Menoyo, D., Lopez-Bote, C.J., Bautista, J.M. & Obach, A. (2003) Growth, digestibility and fatty acid utilization in large Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed varying levels of n-3 and saturated fatty acids. *Aquaculture*, **225**, 295-307.
- Montero, D., Grasso, V., Izquierdo, M.S., Ganga, R., Real, F., Tort, L., Caballero, M.J. & Acosta, F. (2008) Total substitution of fish oil by vegetable oils in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) diets: Effects on hepatic Mx expression and some immune parameters. *Fish & Shellfish Immunology*, **24**, 147-155.
- Okamura, D. (2009) Influência do amido de milho no metabolismo energético de surubim *Pseudoplatystoma spp.* In *Departamento de Zootecnia*, Vol. Doutorado, pp. 97 p. Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- Peres, H. & Oliva-Teles, A. (2002) Utilization of raw and gelatinized starch by European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture*, **205**, 287-299.
- Pérez-Jiménez, A., Guedes, M.J., Morales, A.E. & Oliva-Teles, A. (2007) Metabolic responses to short starvation and refeeding in *Dicentrarchus labrax*. Effect of dietary composition. *Aquaculture*, **265**, 325-335.
- Piedecausa, M.A., Mazón, M.J., García García, B. & Hernández, M.D. (2007) Effects of total replacement of fish oil by vegetable oils in the diets of sharpnose seabream (*Diplodus puntazzo*). *Aquaculture*, **263**, 211-219.
- Ribeiro, P.A.P., Logato, P.V.R., Paula, D.A.d.J., Costa, A.C., Murgas, L.D.S. & Freitas, R.T.F.d. (2008) Efeito do uso de óleo na dieta sobre a lipogênese e o

- perfil lipídico de tilápias-do-nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, **37**, 1331-1337.
- Ross, L.G. & Ross, B. (2008) *Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals*, Blackwell Science.
- Sardesai, V.M. (1992) NUTRITIONAL ROLE OF POLYUNSATURATED FATTY-ACIDS. *Journal of Nutritional Biochemistry*, **3**, 154-166.
- Sargent, J.R., Tocher, D.R. & Bell, J.G. (2002) The Lipids In *Fish Nutrition* (Halver, J.E. & Hardy, R.W. eds.), pp. 182-259. Academic Press.
- Serrano, J.A., Nematipour, G.R. & Gatlin, D.M., III (1992) Dietary protein requirement of the red drum (*Sciaenops ocellatus*) and relative use of dietary carbohydrate and lipid. *Aquaculture*, **101**, 283-291.
- Spina, J., Bright, H.J. & Rosenbloom, J. (1966) Purification and properties of L-malic enzyme from *Escherichia coli*. *Biochemistry*, **9**, 3794-3801.
- Tocher, D., Fonseca-Madrigal, J., Bell, J.G., Dick, J., Henderson, R.J. & Sargent, J. (2002) Effects of diets containing linseed oil on fatty acid desaturation and oxidation in hepatocytes and intestinal enterocytes in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Fish Physiology and Biochemistry*, **26**, 157-170.
- Trushenski, J., Schwarz, M., Lewis, H., Laporte, J., Delbos, B., Takeuchi, R. & Sampaio, L.A. (2011) Effect of replacing dietary fish oil with soybean oil on production performance and fillet lipid and fatty acid composition of juvenile cobia *Rachycentron canadum*. *Aquaculture Nutrition*, **17**, e437-e447.
- Wilson, R.P. (1994) Utilization of dietary carbohydrate by fish. *Aquaculture*, **124**, 67-80.
- Worgall, T.S., Sturley, S.L., Seo, T., Osborne, T.F. & Deckelbaum, R.J. (1998) Polyunsaturated Fatty Acids Decrease Expression of Promoters with Sterol Regulatory Elements by Decreasing Levels of Mature Sterol Regulatory Element-binding Protein. *Journal of Biological Chemistry*, **273**, 25537-25540.
- Xu, X. & Kestemont, P. (2002) Lipid metabolism and FA composition in tissues of Eurasian perch *Perca fluviatilis* as influenced by dietary fats. *Lipids*, **37**, 297-304.
- Zheng, X., Torstensen, B.E., Tocher, D.R., Dick, J.R., Henderson, R.J. & Bell, J.G. (2005) Environmental and dietary influences on highly unsaturated fatty acid biosynthesis and expression of fatty acyl desaturase and elongase genes in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, **1734**, 13-24.

**ANEXOS**

Tabela 1. Composição percentual das dietas experimentais.....	45
Tabela 2. Composição bromatológica da ração – (% Matéria seca).....	46
Tabela 3. Efeito dos tratamentos nos parâmetros: ganho de peso (GP), crescimento padrão (CP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e índice hepatossomático de juvenis de cachadiah ( <i>Pseudoplatystoma reticulatum x Leiarius marmoratus</i> ) nos 30 e 60 dias de experimento.....	51
Tabela 4. Efeito dos tratamentos nos parâmetros: ganho de peso (GP), crescimento padrão (CP), consumo de ração (CR) e conversão alimentar (CA) de juvenis de cachadiah ( <i>Pseudoplatystoma reticulatum x Leiarius marmoratus</i> ) nos 30 e 60 dias de experimento. ....	52
Tabela 5. Efeito dos tratamentos no Índice Hepatossomático (IHS) de juvenis de cachadiah ( <i>Pseudoplatystoma reticulatum x Leiarius marmoratus</i> ) aos 30 e 60 dias de experimento.....	53
Tabela 6. Efeito dos tratamentos na atividade da enzima aspartato aminotransferase (AST) no tecido hepático de cachadiah ( <i>Pseudoplatystoma reticulatum x Leiarius marmoratus</i> ), em duas coletas experimentais (em U/L). ....	54
Tabela 7 Efeito dos tratamentos na atividade da enzima aspartato aminotransferase (ALT) no tecido hepático de cachadiah ( <i>Pseudoplatystoma reticulatum x Leiarius marmoratus</i> ), em duas coletas experimentais (em U/L). ....	55
Tabela 8. Efeito dos tratamentos na atividade da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (em U/mg de proteína) no tecido hepático de cachadiah	

( <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> x <i>Leiarius marmoratus</i> ), em duas coletas experimentais .....	56
Tabela 9. Efeito dos tratamentos na atividade da enzima málica (em U/mg de proteína) no tecido hepático de cachadia ( <i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> x <i>Leiarius marmoratus</i> ), em duas coletas experimentais .....	57
TABELA 1. Análise de variância do ganho de peso após 30 dias de alimentação. ....	75
TABELA 2. Análise de variância do ganho de peso após 60 dias de alimentação. ....	75
TABELA 3. Análise de variância do crescimento padrão após 30 dias de alimentação. ....	75
TABELA 4. Análise de variância do crescimento padrão após 60 dias de alimentação. ....	76
TABELA 5. Análise de variância do índice hepatossomático após 30 dias de alimentação. ....	76
TABELA 6. Análise de variância do índice hepatossomático após 60 dias de alimentação. ....	76
TABELA 7. Análise de variância do consumo de ração após 30 dias de alimentação. ....	77
TABELA 8. Análise de variância do consumo de ração após 60 dias de alimentação. ....	77
TABELA 9. Análise de variância da conversão alimentar após 30 dias de alimentação. ....	77
TABELA 10. Análise de variância da conversão alimentar após 60 dias de alimentação. ....	78
TABELA 11. Análise de variância da atividade da aspartato aminotransferase aos 30 dias de alimentação. ....	78

TABELA 12. Análise de variância da atividade da aspartato aminotransferase aos 60 dias de alimentação.....	78
TABELA 13. Análise de variância da atividade da alanina aminotransferase aos 30 dias de alimentação.....	79
TABELA 14. Análise de variância da atividade da alanina aminotransferase aos 60 dias de alimentação.....	79
TABELA 15. Análise de variância da atividade específica da glicose-6-fosfato desidrogenase aos 30 dias de alimentação.....	79
TABELA 16. Análise de variância da atividade específica da glicose-6-fosfato desidrogenase aos 60 dias de alimentação.....	80
TABELA 17. Análise de variância da atividade específica da enzima málica aos 30 dias de alimentação.....	80
TABELA 18. Análise de variância da atividade específica da enzima málica aos 60 dias de alimentação.....	80

## ANEXOS

TABELA 11. Análise de variância do ganho de peso após 30 dias de alimentação.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHOS	1	375.4048	375.4048	0.278	*****
OLEO	3	3987.022	1329.007	0.984	*****
CHOS OLEO	3	3537.505	1179.168	0.873	*****
PESO Linear	1	250.0585	250.0585	0.185	*****
Resíduo	31	41869.41	1350.626		
Coeficiente de Variação = 45.578					

TABELA 12. Análise de variância do ganho de peso após 60 dias de alimentação.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHOS	1	1368.891	1368.891	0.824	*****
OLEO	3	17484.35	5828.117	3.508	0.02673
CHOS OLEO	3	4984.939	1661.646	1.000	0.40583
PESO Linear	1	4769.089	4769.089	2.871	0.10024
Resíduo	31	51502.90	1661.384		
Coeficiente de Variação = 38.371					

TABELA 13. Análise de variância do crescimento padrão após 30 dias de alimentação.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHOS	1	1.553894	1.553894	0.415	*****
OLEO	3	8.526791	2.842264	0.760	*****
CHOS OLEO	3	19.51310	6.504366	1.739	0.17949

PESO	Linear	1	3.250344	3.250344	0.869	*****
Resíduo		31	115.9590	3.740613		

Coefficiente de Variação = 45.976

TABELA 14. Análise de variância do crescimento padrão após 60 dias de alimentação.

F.V.		G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHOS		1	2.443885	2.443885	0.871	*****
OLEO		3	28.02112	9.340374	3.330	0.03217
CHOS	OLEO	3	7.940439	2.646813	0.944	*****
PESO	Linear	1	6.939034	6.939034	2.474	0.12593
Resíduo		31	86.96452	2.805307		

Coefficiente de Variação = 27.642

TABELA 15. Análise de variância do índice hepatossomático após 30 dias de alimentação.

F.V.		G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHOS		1	2.947402	2.947402	43.028	0.00000
OLEO		3	0.5348966	0.1782989	2.603	0.06960
CHOS	OLEO	3	0.4470566	0.1490189	2.175	0.11086
PESO	Linear	1	0.2989583E-01	0.2989583E-01	0.436	*****
Resíduo		31	2.123492	0.6849974E-01		

Coefficiente de Variação = 15.775

TABELA 16. Análise de variância do índice hepatossomático após 60 dias de alimentação.

F.V.		G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHOS		1	0.2585890	0.2585890	5.891	0.02122
OLEO		3	0.1672945E-01	0.5576482E-02	0.127	*****
CHOS	OLEO	3	0.6690660E-01	0.2230220E-01	0.508	*****
PESO	Linear	1	0.3394801E-01	0.3394801E-01	0.773	*****

Resíduo	31	1.360690	0.4389321E-01
Coeficiente de Variação = 15.657			

TABELA 17. Análise de variância do consumo de ração após 30 dias de alimentação.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHOS	1	38.25817	38.25817	0.236	*****
OLEO	3	1396.071	465.3570	2.865	0.05254
CHOS OLEO	3	672.6489	224.2163	1.380	0.26714
PESO Linear	1	448.5779	448.5779	2.762	0.10664
Resíduo	31	5035.597	162.4386		
Coeficiente de Variação = 19.391					

TABELA 18. Análise de variância do consumo de ração após 60 dias de alimentação.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHOS	1	100.7404	100.7404	0.154	*****
OLEO	3	6893.423	2297.808	3.514	0.02656
CHOS OLEO	3	1767.104	589.0347	0.901	*****
PESO Linear	1	2176.824	2176.824	3.329	0.07772
Resíduo	31	20270.28	653.8800		
Coeficiente de Variação = 20.564					

TABELA 19. Análise de variância da conversão alimentar após 30 dias de alimentação.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHOS	1	0.1109488	0.1109488	0.535	*****
OLEO	3	0.9669004	0.3223001	1.555	0.22013
CHOS OLEO	3	1.185845	0.3952818	1.907	0.14902

PESO	Linear	1	0.7119199E-02	0.7119199E-02	0.034	*****
Resíduo		31	6.425957	0.2072889		

Coeficiente de Variação = 46.644

TABELA 20. Análise de variância da conversão alimentar após 60 dias de alimentação.

F.V.		G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHOS		1	0.4054872	0.4054872	1.679	0.20466
OLEO		3	2.021721	0.6739070	2.790	0.05692
CHOS	OLEO	3	0.1980498	0.6601660E-01	0.273	*****
PESO	Linear	1	0.5440238	0.5440238	2.252	0.14353
Resíduo		31	7.487745	0.2415402		

Coeficiente de Variação = 36.571

TABELA 21. Análise de variância da atividade da aspartato aminotransferase aos 30 dias de alimentação.

F.V.		G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO		1	3787733	3787733	149.045	0.00000
OLEO		3	29001.35	9667.118	0.380	*****
CHO	OLEO	3	88096.09	29365.36	1.156	0.34189
Resíduo		32	813226.2	25413.32		

Coeficiente de Variação = 20.497

TABELA 22. Análise de variância da atividade da aspartato aminotransferase aos 60 dias de alimentação.

F.V.		G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO		1	2343816	2343816	110.529	0.00000
OLEO		3	18453.91	6151.303	0.290	*****
CHO	OLEO	3	7597.733	2532.578	0.119	*****
Resíduo		32	678573.3	21205.42		

---

Coeficiente de Variação = 22.133

---

TABELA 23. Análise de variância da atividade da alanina aminotransferase aos 30 dias de alimentação.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	621.9057	621.9057	4.965	0.03301
OLEO	3	168.7777	56.25923	0.449	*****
CHO OLEO	3	148.1833	49.39443	0.394	*****
Resíduo	32	4007.952	125.2485		

Coeficiente de Variação = 35.235

---

TABELA 24. Análise de variância da atividade da alanina aminotransferase aos 60 dias de alimentação.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	973.1625	973.1625	5.660	0.02349
OLEO	3	213.6671	71.22237	0.414	*****
CHO OLEO	3	391.7936	130.5979	0.760	*****
Resíduo	32	5501.928	171.9352		

Coeficiente de Variação = 24.854

---

TABELA 25. Análise de variância da atividade específica da glicose-6-fosfato desidrogenase aos 30 dias de alimentação.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	0.3281068E-02	0.3281068E-02	4.784	0.03614
OLEO	3	0.9950787E-03	0.3316929E-03	0.484	*****
CHO OLEO	3	0.1347770E-01	0.4492566E-02	6.551	0.00140
Resíduo	32	0.2194651E-01	0.6858285E-03		

---

Coeficiente de Variação = 39.561

---

TABELA 26. Análise de variância da atividade específica da glicose-6-fosfato desidrogenase aos 60 dias de alimentação.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	0.3387818E-03	0.3387818E-03	0.091	*****
OLEO	3	0.5084740E-01	0.1694913E-01	4.577	0.00890
CHO OLEO	3	0.5577523E-01	0.1859174E-01	5.021	0.00578
Resíduo	32	0.1184966	0.3703017E-02		

Coeficiente de Variação = 36.741

---

TABELA 27. Análise de variância da atividade específica da enzima málica aos 30 dias de alimentação.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	0.1941820E-01	0.1941820E-01	2.298	0.13933
OLEO	3	0.3965936E-01	0.1321979E-01	1.565	0.21707
CHO OLEO	3	0.2711813	0.9039376E-01	10.699	0.00005
Resíduo	32	0.2703593	0.8448729E-02		

Coeficiente de Variação = 42.587

---

TABELA 28. Análise de variância da atividade específica da enzima málica aos 60 dias de alimentação.

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Signif.
CHO	1	0.4576719E-01	0.4576719E-01	3.757	0.06145
OLEO	3	0.2320511	0.7735037E-01	6.350	0.00168
CHO OLEO	3	0.2945695	0.9818983E-01	8.061	0.00039
Resíduo	32	0.3898077	0.1218149E-01		

Coeficiente de Variação = 42.216

---

