

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE  
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS AGROPECUÁRIAS  
LABORATÓRIO DE ZOOTECNIA E NUTRIÇÃO ANIMAL

PEDRO PIERRO MENDONÇA

**SUPLEMENTAÇÃO ALIMENTAR DE FITASE E L-CARNITINA PARA  
ALEVINOS DE TAMBACUI (*Colossoma macropomum*)**

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ  
ABRIL DE 2011

PEDRO PIERRO MENDONÇA

**SUPLEMENTAÇÃO ALIMENTAR DE FITASE E L-CARNITINA PARA  
ALEVINOS DE TAMBACUI (*Colossoma macropomum*)**

Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal, na área de concentração de Produção e Nutrição Animal.

ORIENTADOR: Prof. Manuel Vazquez Vidal Junior

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ  
ABRIL DE 2011

PEDRO PIERRO MENDONÇA

**SUPLEMENTAÇÃO ALIMENTAR DE FITASE E L-CARNITINA PARA  
ALEVINOS DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)**

Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuária da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal, na área de concentração de Produção e Nutrição Animal.

Aprovada em 27 de Abril de 2011

---

Prof. Dalcio Ricardo de Andrade (D. Sc. Morfologia) – UENF

---

Prof. Eduardo Shimoda (D. Sc. Ciência Animal) – UCAM

---

Prof. Fabricio Pereira Rezende (D. Sc. Zootecnia) – IFES/Piúma

---

Prof. Manuel Vazquez Vidal Junior (D. Sc. Zootecnia) – UENF  
(ORIENTADOR)

## DEDICATORIA

À minha mãe, Gianine Maria de Souza Pierro, ao meu pai Sergio Mauro Pitta de Mendonça e ao meu outro pai Rubens Emerick Gripp, que sempre me deram condições de continuar em frente e servem como exemplos para minha vida;

Aos familiares pela alegria, união e amor que nossa família mantém por todos esses anos, mostrando que uma família feliz sempre prospera sobre os desafios da vida.

## AGRADECIMENTOS

A universidade estadual do norte fluminense Darcy Ribeiro pelas condições que permitiram a realização dos trabalhos;

A CAPES, pela concessão da bolsa de estudo durante esses meses de doutorado;

Ao meu professor e orientador Manuel Vazquez Vidal Junior, e aos outros professores que também me ajudaram muito no desenvolvimento do trabalho: Dalcio Ribeiro de Andrade; Eduardo Shimoda e Gianine Maria de Souza Pierro;

Aos meus queridos amigos, aos quais sempre pude contar em momentos difíceis e que nunca me decepcionaram, Marcelo Polese Fantini, Tiago Vasconcelo de Melo, Adolfo Antonioli, Frederico Guimaraes Henrique, Douglas (mai eu), Douglas Mattos, Renata, Vitor Norato, Alberto Chambela Neto, Bruno Borges de Minicis e todos os outros que não citei o nome mais são tão queridos quanto os citados;

À minha namorada Priscilla Cortizo Costa, por todo o companherismo e amizade durante esse período de trabalho, sendo sempre paciente e atenciosa, ao Carlinhos, Lola, Hugo, Huguinho, Carol e Principalmente a Enaile que estendeu a força e apoio que todos me deram durante esse período, com influência direta sobre minha tese.

Aos meus companheiros de antigas repúblicas e aos companheiros de repúblicas amigas, durante a graduação, mestrado e doutorado.

*“Não é o mais forte que sobrevive, nem o mais inteligente, mas o que melhor se adapta às mudanças”. (Charles Robert Darwin 1809 - 1882)*

## RESUMO

Mendonça, Pedro Pierro, M Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Abril de 2011. Suplementação alimentar de fitase e L-carnitina para alevinos de tambaqui (*Colossoma macropomum*). Professor orientador: prof. Manuel Vazquez Vidal Junior.

Foram conduzidos dois experimentos no setor de Aqüicultura da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), no período de 23 de março a 13 de maio, totalizando 50 dias de duração, com o objetivo de avaliar os efeitos da suplementação de L-carnitina e fitase exógena no desenvolvimento e nas características bromatológicas da carcaça de alevinos de tambaqui. Nestes experimentos, foram utilizados 260 alevinos de tambaqui, distribuídos aleatoriamente, em 40 caixas plásticas de 50L, 20 para cada experimento com peso médio inicial de, 3,15g e comprimento total médio inicial de 5,40cm. Ambos foram realizados em delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos (no experimento I com fitase os tratamentos foram: T1=0,0; T2=700; T3=1400; T4=2100 e T5=2800 UAF/kg de dieta e no experimento II com L-carnitina foram: T1=0,0; T2=400; T3=800; T4=1200; T5=1600mg/kg de dieta) sempre com quatro repetições, totalizando 20 unidades experimentais por experimento. Cada unidade experimental foi composta de cinco alevinos de tambaqui e um aquário experimental com volume útil de 40L. Foram utilizadas dietas isocalóricas 3100Kcal de ED e isoprotéicas 28% de PB. Durante o período experimental, os peixes receberam ração à vontade em quatro tratos diários. Após a peletização, as rações foram secas à sombra e passadas em peneiras para padronização no tamanho dos peletes. O oxigênio dissolvido e temperatura foram mensurados diariamente, após a última refeição do dia, através de oxímetro e termômetro digital. Os valores de pH e condutividade, foram mensurados por meio de peagâmetro e condutivímetro a cada dois dias. As variáveis utilizadas para quantificar o desenvolvimento dos alevinos foram: Peso final, comprimento total, comprimento

padrão, altura, consumo de ração, ganho de peso, conversão alimentar, taxa de crescimento específico, de desenvolvimento específico e de eficiência protéica. Para comparação das características bromatológicas das carcaças foram abatidos 30 peixes no início e três de cada unidade experimental ao final do período experimental, em ambos os trabalhos. Para quantificar as características (proteína bruta, extrato etéreo, cinzas, extrato não nitrogenado e matéria seca) foi utilizada a metodologia de Silva e Queiroz (2003). Para análise estatística foi realizada a análise de regressão polinomial, como auxílio do programa SAEG. Foram identificados os efeitos significativos das suplementações de fitase e L-carnitina sobre as variáveis relacionadas ao desenvolvimento, tendo como dose máxima estimada 2.303,83 UFA/kg de ração para taxa de desenvolvimento específico e dose mínima estimada em 1.540,62 para o consumo de ração e no experimento II a dose máxima estimada foi de 1.440,70 mg de L-carnitina/Kg de ração para consumo de ração e a dose mínima estimada em 1.054,76 para conversão alimentar aparente. No entanto, quanto à análise bromatológica da carcaça, não foi observado nenhum resultado significativo da suplementação sobre as variáveis estudadas. Dessa forma, conclui-se que a suplementação de fitase e de L-carnitina para alevinos de tambaqui nos presentes trabalhos, possibilita melhor desenvolvimento, porém não afeta a composição bromatológica da carcaça.

**Palavras-Chave:**  $\beta$ -oxidação, energia, proteína

## **ABSTRACT**

Mendonça, Pedro Pierro, M.Sc, UNIVERSIDADE ESTADUAL NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO, APRIL, 2011. DIETARY SUPPLEMENTATION OF PHYTASE AND L- CARNITINE FOR FINGERLINGS OF TAMBAQUI (*Colossoma macropomun*), TEACHER MENTOR: Prof. Manuel Vazquez Vidal Junior

Two experiments were conducted in the aquaculture sector of the Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) in the period from March 23<sup>rd</sup> to May 13<sup>th</sup>, totaling 50 days in length, in order to evaluate the effects of supplemental L-carnitine and phytase on the development and qualitative characteristics of the carcass of fingerlings from tambaqui. In these experiments, we used 260 fingerlings of tambaqui, randomized into 40 plastic boxes 50 L, 20 for each experiment with initial average weight of 3.15g and total length averaging 5.40cm. Both were conducted in a randomized design with five treatments (in experiment I with enzyme treatments were: t1=0.0, t2=700, t3=1400, t4 and t5=2100=2800uaf/kg diet and in experiment II with L-carnitine were: t1=0.0, t2=400, t3=800, t4=1200, t5=1600mg/kg diet) always with four replications, totaling 20 units per experiment. Each experimental unit was composed of five fingerlings of tambaqui and an experimental tank with a volume of 40L. The experimental diets were isocaloric of 3100 kcal and isoprotein of 28%. During the experimental period, fish were fed freely four times a day. After pelleting, diets were dried and passed through sieve to standardize the size of the pellets. Dissolved oxygen and temperature were measured daily, after the last meal through oximeter and digital thermometer. The pH and conductivity were measured by pH meter and conductimeter every two days. The variables used to quantify the development of the juveniles were: final weight, total length, standard length, height, feed intake, weight gain, feed conversion, specific growth rate, development of specific and protein efficiency, to compare the qualitative characteristics of 30 fish carcasses were killed and three at the beginning of each experiment unit at the end of the experimental period in both studies. To quantify the characteristics (crude protein, ether extract, ash, nitrogen and non-dm) methodology was used by Silva and Queiroz (2003). Statistical analysis was performed polynomial regression analysis as an aid program SAEG. We identified the significant effects of supplemental phytase and L-carnitine on the variables related to development rate with estimated maximum dose 2303.83uaf/kg diet for specific development rate and minimum dose estimated at 1540.62 for the consumption of ration in experiment II and the maximum dose was estimated to be 1440.70mg L-carnitina/kg feed on feed intake and minimum dose estimated at 1054.76 for feed conversion. However, the chemical analyses of the carcass, there were no significant outcome of supplementation on these

variables. thus it is concluded that supplementation of phytase and l-carnitine for fingerlings of tambaqui in the present work, enables better development, but does not affect the chemical composition of the carcass.

**Keywords:**  $\beta$ -Oxidation, Energy, Protein .

## SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO .....	12
2 – OBJETIVOS .....	15
3 – REVISÃO DE LITERATURA .....	15
3.1 – O tabaqui .....	15
3.2 – Digestão e metabolismo .....	16
3.3 – Enzimas.....	20
3.3.1 – Produção de enzimas digestivas exógenas .....	23
3.3.2 – Fitato .....	26
3.3.3 – Fitase.....	28
3.3.3.1 - Fontes de fitase.....	32
3.3.3.1.1 – Vegetal .....	32
3.3.3.1.2 – Microbiana.....	33
3.3.3.2 - Suplementação de fitases na ração animal.....	34
3.3.3.2.1 - Vantagens ambientais.....	34
3.3.3.2.2 - Utilização de fitase em peixes.....	36
3.3.4 - L-carnitina .....	38
3.3.4.1 - Uso da L-carnitina em Aquicultura .....	42
3.3.4.2 – Efeito da L-carnitina no crescimento dos peixes e vertebrados.....	43
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	47
6 - CAPÍTULO I: EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE FITASE NA ALIMENTAÇÃO DE JUVENIS DE TAMBAQUI ( <i>Colossoma macropomum</i> ). .....	55
6.1 - RESUMO: .....	55
6.2 - ABSTRACT:.....	55
6.3 - INTRODUÇÃO .....	57
6.4 - MATERIAL E MÉTODOS.....	59
6.5. - RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	62
6.6 - CONCLUSÃO .....	78
6.7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78
7 - CAPÍTULO II : EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE L-CARNITINA NA ALIMENTAÇÃO DE JUVENIS DE TAMBAQUI ( <i>Colossoma macropomum</i> )......	86
7.1 - RESUMO .....	86
7.2 - ABSTRACT:.....	87
7.3 - INTRODUÇÃO .....	88
7.4 - MATERIAIS E MÉTODOS .....	90
7.5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	93
7.6 - CONCLUSÃO .....	103
7.7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	103

## 1- INTRODUÇÃO

Dentre os setores de produção animal, a aquicultura é o que se expande com maior rapidez (SILVA et al, 2007). Trata-se de um segmento importante na produção de alimento humano e, devido ao alto valor protéico e por ser uma excelente fonte de nutrientes, diversas técnicas têm sido estudadas de maneira a possibilitar a eficiência da produção. O Brasil é um país que apresenta várias características favoráveis, tais como clima, potencial hidrológico e espécies com potencial zootécnico, pelo hábito alimentar e aceitação no mercado, além de produção de alimentos e subprodutos (FAO, 2010).

A alimentação dos animais corresponde a 60% dos custos de produção, e melhorias na eficiência da utilização dos nutrientes resultam em economias significativas. Assim, torna-se importante o conhecimento da disponibilidade dos nutrientes nas formulações de rações para produção de dietas de baixo custo.

Dentre as fontes protéicas, a farinha de peixe é o ingrediente mais utilizado em dietas para organismos aquáticos, ainda que seja de elevado custo, baixa padronização de nutrientes e excesso de minerais (Furuya et al., 2001).

Sendo o farelo de soja um alimento com elevado valor protéico e boa disponibilidade, o mesmo é um dos principais alimentos utilizados como fonte protéica de origem vegetal na formulação de ração para peixes, substituindo a farinha de peixe (SILVA et al, 2005). Porém, o farelo de soja possui alguns fatores antinutricionais, destacando-se o fitato, afetando negativamente o desempenho dos peixes.

De acordo com LEHNINGER et al. (1993), o fósforo, em sua maioria, nos grãos de cereais está na forma do complexo orgânico fitato. Devido ao grupo ortofosfato do fitato ser altamente ionizado, este se complexa com uma variedade de cátions (Ca, Fe, Zn, Mn) e com o grupo amina de alguns aminoácidos, tornando-se indisponível para alimentação de animais monogástricos, pela ausência da enzima fitase.

O fósforo é um elemento mineral que atua desempenhando diversas funções vitais no organismo animal, relacionado com o metabolismo energético e de aminoácidos, transporte de ácidos graxos, síntese de fosfolípídeos e de proteínas,

além do metabolismo celular. É um nutriente essencial, e a sua deficiência acarreta uma redução na taxa de crescimento, redução na eficiência alimentar e baixa na mineralização óssea (FURUYA et al., 2001).

Assim, a fitase pode melhorar o desempenho, a digestibilidade e a disponibilidade dos nutrientes da dieta, além de reduzir a excreção de fósforo. Assim, a utilização de dietas suplementadas com fitase tem se mostrado cada vez mais importante, uma vez que favorece a criação de peixes com redução do impacto ambiental (SOUZA, 2008).

Além da fitase que pode melhorar a utilização do fósforo presente no fitato e conseqüentemente influenciar no metabolismo energético, existem também outras substâncias que podem ser incorporadas na ração com objetivo de melhorar o desenvolvimento dos animais de produção através da utilização mais eficiente de outros nutrientes para geração de energia que não a proteína.

A redução do percentual protéico na ração, juntamente com o aumento da inclusão de gorduras e carboidratos têm também um papel ecológico, na medida em que é possível reduzir a carga de nitrogênio liberada para o meio ambiente, evitando a produção de amônia e seus derivados, os quais são poluentes.

A inclusão de L-carnitina na ração também tem sido vista como uma possível forma de redução dos níveis protéicos nas rações para peixes.

A L-carnitina é um aminoácido sintetizado *in vivo* a partir de dois aminoácidos essenciais, a lisina e a metionina. A L-carnitina é requerida para o transporte de ácidos graxos de cadeia longa para dentro da mitocôndria, local onde ocorre o processo de beta-oxidação (TWIBELL e BROWN, 2000). Desde seu isolamento do alimento por Gulewitsch e Krimberg em 1905 (DUNN, 1981) a L-carnitina tem sido estudada para o melhor conhecimento de sua importância fisiológica, como por exemplo, no tratamento de doenças cardiovasculares no homem.

Acredita-se que a administração da L-carnitina pode melhorar o desempenho dos peixes devido ao aumento da eficiência da utilização da energia proveniente da oxidação dos lipídios, possibilitando assim, a economia da proteína encontrada no alimento, permitindo a incorporação desta proteína na produção de tecido muscular.

Experimentos com peixes têm demonstrado que a suplementação da L-carnitina diminuiu o conteúdo de lipídios (SANTULLI et al., 1988 e BURTLE e LIU, 1994), assim como, têm também melhorado alguns parâmetros do desempenho, como o crescimento e a conversão alimentar (FOCKEN et al. 1997; KESHAVANATH e RENUKA, 1998). Mas, de acordo com CHATZIFOTIS et al. (1996), apesar do interesse da utilização da L-carnitina na alimentação de peixes, ainda não está claro como ela afeta o crescimento destes animais.

Devido a estes fatos expostos anteriormente acredita-se que seja necessário melhor entendimento da ação da fitase e da L-carnitina sobre o desenvolvimento e a composição corporal do juvenil de tambaqui, principalmente sobre o metabolismo energético dos peixes.

## 2 – OBJETIVOS

- Avaliar o efeito da suplementação de fitase no crescimento dos alevinos de *Colossoma macropomum*;
- Avaliar o efeito da suplementação de fitase na composição bromatológica dos alevinos de *Colossoma macropomum*;
- Avaliar o efeito da suplementação de L-carnitina no crescimento e dos alevinos de *Colossoma macropomum*;
- Avaliar o efeito da suplementação de L-carnitina na composição bromatológica dos alevinos de *Colossoma macropomum*.

## 3 – REVISÃO DE LITERATURA

### 3.1 – O tambaqui

O tambaqui pertence à classe: Actinopterygii, ordem: Characiformes, família: Characidae, subfamília: Myleinae e à espécie: *Colossoma macropomum*, Cuvier, 1818. A subfamília Myleinae inclui também o pacu (*Piractus mesopotamicus*) e a pirapitinga (*Colossoma bidens*), espécies nativas que apresentaram grande potencial para a criação comercial (CASTAGNOLLI, 1992).

No Brasil, a maioria dos estudos sobre este gênero é recente, porém os primeiros relatos nacionais são da década 70, com reprodutores provenientes da Estação de Piscicultura de Iquitos, no Peru, que foram levados para o Centro de Piscicultura Rodolfo Von Ihering, em Pentecoste/CE. Os primeiros estudos realizados em cativeiro mostraram que o gênero *Colossoma* apresentava grande potencial para o cultivo segundo Silva *et al.* (1975), citados por Araújo (1989).

O tambaqui é o segundo maior peixe de escamas de águas interiores do Brasil. A espécie é nativa da bacia Amazônica, onde já foram capturados exemplares de até 30 Kg na natureza. Em cativeiro nas regiões quentes e alimentados com rações balanceadas, este peixe pode atingir 20 Kg em 7 anos (MENEZES, 2005).

Este peixe é um dos mais consumidos próximo à sua região de origem, a Amazonia, devido ao sabor e à consistência firme de sua carne que possui coloração

branca e apresenta poucos espinhos intramusculares (PROENÇA; BITTENCOURT, 1994). Possui grande potencial de cultivo devido às seguintes características: boa adaptação ao cativeiro, boa aceitação no mercado, alta prolificidade, hábito alimentar onívoro, bom crescimento, boa conversão alimentar, rusticidade. (MENEZES, 2005).

O tambaqui é criado nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste do Brasil, sendo a região Norte responsável por 30% da produção desta espécie. Na região Sudeste a criação de tambaqui é praticada nas áreas mais baixas e de temperatura mais elevada, pois a faixa de conforto térmico para a espécie é de 26 a 32°C (MENEZES, 2005).

A região Norte se destaca na liderança da produção de tambaqui (13.217 ton e 3.054ton, oriundos da aqüicultura e da pesca, respectivamente), seguida das regiões Centro-Oeste, Nordeste, Sudeste (1.259 ton. e 0,125 ton. da aqüicultura e da pesca respectivamente) e Sul (Ibama, 2006). A simples análise desses dados mostra que no Brasil, em 2005, a produção de tambaqui foi muito superior à produção proveniente da captura na natureza (CARVALHO FILHO, 2007).

Apesar dos estudos sobre essa espécie nativa, produzida pela piscicultura brasileira, datarem da década de 70, são poucas as informações disponíveis sobre a nutrição e a fisiologia desse peixe. Entretanto, é de extrema importância o conhecimento desses fatores que ajudarão a elaborar técnicas de manejos mais coerentes e formulações de dietas mais adequadas, permitindo a expressão de todo potencial do tambaqui produzido pela piscicultura.

### **3.2 – Digestão e metabolismo**

Há poucas décadas, a forma mais comum de piscicultura era o cultivo extensivo, sem a adição de alimento suplementar, em que apenas a produtividade natural sustentava uma baixa densidade de indivíduos, o que resultava em uma baixa eficiência de produção. Estudos recentes têm demonstrado que a dieta influencia o comportamento, a integridade estrutural, saúde, funções fisiológicas, a reprodução e o crescimento dos peixes (TAKAHASHI, 2003).

Segundo Pereira Filho (1995), em piscicultura intensiva, os gastos com alimentação podem representar cerca de 50 a 80% dos custos de produção. Portanto, para que se otimize a relação custo/benefício é necessário considerar os aspectos qualitativos e quantitativos da alimentação.

Ainda que as rações elaboradas e balanceadas apresentem vantagens para a criação de peixes, a possibilidade de sua utilização em espécies de interesse comercial necessita de conhecimentos sobre aspectos da digestão, tais como a atividade enzimática do trato digestório e as implicações metabólicas. Alguns estudos sobre o processo de digestão como o de Galvão et al. (1997) mostram que as enzimas digestivas proteolíticas da tainha (*Mugil planatus*) durante as fases de larva e juvenil são responsáveis pela digestão de alimentos exógenos. Com quatro dias de idade as larvas apresentam as enzimas digestivas tripsina e carboxipeptidases, embora suas atividades proteolíticas sejam baixas em relação aos juvenis.

A digestão no intestino ocorre devido à ação de distintos produtos secretados pela parede intestinal e também por glândulas anexas (pâncreas e fígado). O pâncreas lança no intestino enzimas digestivas diversas: proteases, carboidrases e lípases. Os sais biliares parecem ter uma composição e função análoga à bÍlis de vertebrados superiores (HIDALGO ALLIOT, 1987).

Como o trato digestivo dos peixes está em constante contato com a água, a microflora da água exerce um importante papel na formação da microflora do trato digestivo de peixes (HANSEN, *et al.*, 1992; STROM; OLAFSEN, 1990). Sendo rico em nutrientes, o trato digestivo dos peixes em comparação com o ambiente aquático, confere um ambiente mais favorável para o crescimento dos microorganismos. Recentemente, diversas comunidades microbianas têm sido reportadas no intestino de vários peixes (BAIRAGI *et al.*, 2002; GHOSH *et al.*, 2002).

Enzimas provenientes dessa microflora intestinal podem ter um papel significativo no processo de digestão, especialmente para substratos como a celulose, que poucos peixes podem digerir e também para outros substratos de origem vegetal como o fitato (SMITH, 1989).

Devido ao aumento da escassez de farinha de peixe de boa qualidade, pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de analisar o valor nutricional de

ingredientes de origem vegetal e aumentar a biodisponibilidade de nutrientes por meio da degradação fermentativa (SAHA et al., 2006).

Glass et al. (1989) afirmam que o conhecimento exato da quantidade e especificidade de cada enzima presente em um sistema digestório, e as condições em que ocorre a hidrólise, permitirão prever a digestibilidade de novos alimentos com maior precisão.

Moraes e Bidinotto (2000) verificaram indução de atividade enzimática da amilase em *Piaractus mesopotamicus* alimentados com diferentes conteúdos de carboidratos. Este fato denotou estreita relação entre os nutrientes da dieta e o perfil enzimático do trato digestório em peixes.

As rotas metabólicas constituem séries integradas de reações químicas catabolizadas com produtos intermediários iniciais e finais iguais (cíclicos) ou diferentes (vias). As rotas metabólicas possibilitam maior aproveitamento de nutrientes aportados pela dieta, fundamentalmente proteína, lipídeos e carboidratos. As proteínas são catabolizadas em aminoácidos, utilizados para síntese de novas proteínas. As gorduras neutras são hidrolizadas em ácidos graxos e glicerol, utilizados como fonte de energia ou em novos processos de biossíntese. Os carboidratos em geral, não são tidos como bem aproveitados pelos peixes (MOON, 2001).

Aminoácidos, ácidos graxos e açúcares são catabolizados através de rotas metabólicas específicas com diferentes processos e formas de regulação. Muitas destas rotas metabólicas foram inicialmente estudadas em mamíferos, sendo pouca a informação disponível em peixes (METÓN, 1996). Além disto, os trabalhos têm se concentrado em peixes não tropicais. Fundamentando as informações obtidas com esses estudos em um modelo de comportamento bioquímico centrado em peixes que vivem adaptados a condições bem diferentes (MELO, 2004).

Em estudos de nutrição de peixes, o crescimento corporal, conversão alimentar e índice hepático, entre outras variáveis, são utilizados como parâmetros de desenvolvimento. Atualmente, alguns grupos de pesquisadores vêm propondo novas ferramentas e/ou variáveis de estudos em nutrição de peixes. Estudos envolvendo análise de metabólitos e atividades enzimáticas poderão ser utilizados como indicadores do estado nutricional e relacionados ao crescimento e à qualidade da

carcaça relacionada à contaminação por metais pesados (LIONETTO et al., 2003; ROMANI et al., 2003).

Alguns estudos têm mostrado estreita relação entre as atividades enzimáticas do metabolismo energético e protéico em relação ao estado nutricional (BAANANTE et al. 1991; BONAMUSA et al. 1992; MOON; FOSTER, 1995). Em *Sparus aurata*, os conteúdos hepáticos de metabólitos como glicogênio, ou das enzimas 6-fosfofruto-2-quinase/frutose 2,6-bifosfatase (PFK2/F-2,6-Pase), sinalizam como informações chave para se concluir sobre a ativação/inibição da atividade glicolítica. Igualmente, o nível de atividade de enzimas chave no metabolismo de carboidratos, tais como fosfrutoquinase-1 (PFK1), piruvato quinase (PK), frutose 1-6 bifosfatase (F-1,6-Pase) e glicose 6-fosfato-desidrogenase (G-6-PDH), têm demonstrado ser bons indicadores do estado nutricional em peixes (BONAMUSA et al., 1989).

Além das atividades das enzimas do metabolismo de carboidratos como indicadores do estado nutricional, outros estudos, tais como a expressão gênica das enzimas na regulação do metabolismo hepático, vêm sendo realizados com igual sucesso (MÉTON et al., 2003).

No músculo do bacalhau do atlântico *Gadus morhua* tem sido observado correlação entre as atividades glicolíticas, sinalizadas pelas atividades de PFK1 e PK, com a taxa de crescimento (PELLETIER et al., 1994). Esses autores demonstraram ainda que as enzimas implicadas no metabolismo de aminoácidos (alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase e glutamato desidrogenase) têm sua atividade aumentada quando a taxa de crescimento é elevada (MELO et al., 2004).

As determinações das atividades enzimáticas chave do metabolismo contribuem para estabelecer as situações específicas das vias metabólicas e assim inferir sobre o aproveitamento dos nutrientes das dietas. Através desses dados, pode-se verificar ainda as possíveis situações metabólicas indesejáveis, tais como a utilização de proteína para obtenção de energia. Como exemplo, a atividade de enzimas do catabolismo de aminoácidos, tais como GDH (glutamato desidrogenase), ALAT (alanina aminotransferase), ASAT (aspartato animotransferase) entre outras, pode servir de base para a indicação de uma alteração do estado metabólico (MELO et al., 2004).

No controle do metabolismo de carboidratos, o fígado exerce uma função básica

através da regulação da glicemia. Esse órgão produz esse intermediário metabólico a partir de reservas de glicogênio e/ou precursores gliconeogênicos (NEWGARD et al., 1983). A produção e a utilização de glicose no fígado estão controladas por atividades enzimáticas reguladoras em curto e em longo prazo por mecanismos específicos (PILKIS; CLAUS, 1991).

Em estudos realizados com peixes alimentados com grande quantidade de carboidratos observou-se aumento das reservas hepáticas e musculares, as quais podem ser convertidas em ácidos graxos e estocadas como triglicerídeos (PERES *et al.*, 1999)

A glicólise é a única via de utilização de glicose provida da digestão de carboidratos, a glicose é convertida em piruvato obtendo-se desta forma energia em forma de ATP. As enzimas envolvidas na glicólise mostram um aumento de sua atividade na abundância de glicose. Este fato foi observado por Fideu *et al.*, (1983) em trutas alimentadas com dietas contendo alto nível de carboidratos. De acordo com Caseras *et al.*, (2000), peixes carnívoros têm o metabolismo adaptado para altos níveis de proteína, em contraste, uma capacidade reduzida para aproveitar carboidratos.

A avaliação de gliconeogênese é também importante no estabelecimento da situação metabólica, visto que sua função é prover glicose a partir de moléculas não glicídicas. Este processo gera glicose a partir de piruvato, lactato, alanina, glicerol, metabólitos intermediários do Ciclo de Krebs e aminoácidos glico e cetoglicogênicos (LEMAIGRE; ROUSSEAU, 1994). A gliconeogênese em peixes, cuja dieta natural apresenta poucas fontes de carboidratos, reveste-se de um importante papel. De acordo com (COWEY *et al.*, (1979), citados por MELO *et al.*, 2004), esta é a principal via de síntese de novas moléculas de glicose em peixes carnívoros. Nos peixes, a mobilização de glicogênio é muito lenta, de forma que a maior parte da glicose requerida provém da gliconeogênese.

### **3.3 – Enzimas**

Devido ao custo cada vez maior das matérias-primas tradicionalmente utilizadas nas formulações de rações, o uso de enzimas exógenas em dietas utilizadas na

produção animal vem despertando o interesse das fábricas de ração, devido ao fato que a utilização de enzimas exógenas aumenta a digestibilidade dos alimentos e o desempenho dos animais (CAVERO, 2004).

As enzimas também são consideradas importantes na redução da contaminação ambiental, por auxiliarem a digestibilidade dos nutrientes, e reduzirem a eliminação de excretas na água (MORA-JAÍMES et al., 2002).

Um dos primeiros e particularmente importantes experimentos com enzimas foi o isolamento do complexo enzimático do malte, por Payen e Persoz, em 1833. A origem do termo “enzima” se deu quando, em 1876, William Kuhne propôs que ele fosse adotado como uma nova forma de designar fenômenos previamente conhecidos como “fermentações organizadas”, que era o isolamento de fermentos de organismos viáveis, a partir dos quais eram formadas as enzimas (FOX, 1991).

As enzimas são proteínas globulares, de estrutura terciária ou quaternária, que agem como catalisadores biológicos, possibilitando ou aumentando a velocidade das reações químicas no organismo (CHAMPE; HARVEY, 1989). A estrutura molecular das enzimas é bastante frágil e, conseqüentemente, pode ser desnaturada por calor, álcalis, metais pesados e outros agentes oxidantes (GRAHAM; INBORR, 1991).

De acordo com Vanbelle (1992), todas as enzimas possuem as seguintes características: não apresentam modificações ao final da reação, atuam em quantidades muito pequenas e aceleram a velocidade da reação sem modificar a posição de equilíbrio de uma reação reversível.

Até o momento não se detectou nenhuma atividade enzimática na cavidade bucal de peixes teleósteos. Atividade proteolítica foi detectada na mucosa do estômago de *Girella tricuspidata* (perca preta). Contrastando com a ampla variedade em termos anatômicos, o estômago da maioria dos peixes secreta enzimas proteolíticas, sendo a pepsina a mais comum. Esta enzima é importante para as espécies carnívoras, como a traíra, pois indica a digestão de proteínas (BALDISSEROTTO, 2002).

Como em outros vertebrados, a habilidade dos peixes em aproveitar os alimentos ingeridos depende da presença de sistemas enzimáticos ao longo do sistema digestório (TENGGAROEK, 2000). Assim sendo, o processo de digestão é

possibilitado pela ocorrência de enzimas digestivas, as quais atuam sobre o alimento ingerido, ao longo do trato gastrointestinal (JOBILING, 1995).

Tem sido verificado que o padrão das enzimas digestivas reflete a capacidade de aproveitamento dos alimentos pelos peixes e também que a indução de determinadas enzimas está diretamente relacionada ao tipo de dieta do peixe (TORRISSEN *et al.*, 1994). Barrington (1957), citado por Oliveira (2006) observou significativas mudanças na atividade das enzimas digestivas em diferentes períodos do ciclo anual dos peixes, sendo a temperatura o que mais influenciou nessas alterações.

O hábito alimentar dos peixes pode influenciar os processos digestivos e também a distribuição das enzimas ao longo do trato digestório, mas de acordo com Stevens (1988), as adaptações do sistema digestivo das espécies estão mais relacionadas com o alimento ingerido do que com o ambiente e a categoria taxonômica a que pertencem. Em geral, peixes carnívoros demonstram uma alta atividade de proteases, enquanto peixes onívoros e herbívoros demonstram alta atividade de carboidrases (UGOLEV e KUZ'MINA, 1994).

A maior parte da digestão dos alimentos nos peixes ocorre no intestino. Uma grande quantidade de enzimas é produzida pelo pâncreas, como tripsina, quimiotripsina, carboxipeptidase (proteolíticas), amilases, lípases e quitinases (DE SILVA e ANDERSON, 1995). O intestino também produz algumas enzimas para completar a digestão das proteínas (dipeptidases), carboidratos (dissacaridases) e lipídios (lecitinases) (JOBILING, 1995).

A fosfatase alcalina intestinal está envolvida na absorção de nutrientes, como lipídeos, glicose, cálcio e fosfato inorgânico (HARRIS, 1989;). A distribuição geral desta enzima correlaciona-se bem com a localização e a intensidade de maltase, lípase e peptidases, incluindo amilase e proteases (MORIARTY, 1973; citado por OLIVEIRA, 2006). Assim, a fosfatase alcalina está presente no mesmo local das enzimas digestivas, permitindo a absorção de pequenas partículas, à medida que elas são produzidas (TENGGJAROENKUL *et al.*, 2000).

A digestão de carboidratos é realizada no intestino por uma variedade de enzimas. A mais comum é a  $\alpha$ -amilase, que atua nas ligações glicosídicas tipo  $\alpha$ -1,4, encontradas no amido, produzindo uma variedade de oligossacarídeos (LOVELL,

1989). O aumento na produção de amilase pancreática pode ocorrer em resposta à presença de carboidratos no lúmen do trato digestório ou dos produtos de sua hidrólise.

A glicose pode influenciar diretamente a produção da amilase pancreática pelo tecido pancreático, ou indiretamente, estimulando a liberação de insulina, a qual aumentará sua secreção (JOBILING, 1995). A digestão final dos carboidratos é realizada por oligossacaridase associada às microvilosidades do epitélio intestinal, como é o caso da maltase (TENGGAROEKUL et al., 2000).

Algumas enzimas, como a amilase e a maltase, apresentam-se com variações de atividade em espécies com diferentes hábitos alimentares. Peixes onívoros tendem a possuir maior capacidade de digestão dos carboidratos que os peixes carnívoros. Em piava (*Leporinus obtusidens*), uma espécie onívora, a amilase e a maltase ocorrem em grande quantidade no intestino (GIODA et al., 2005).

Os peixes herbívoros, como a carpa capim, possuem uma boa capacidade de digestão de celulose, devido à presença de enzimas celulíticas, produzidas por bactérias simbióticas, que auxiliam na digestão de forragens (LESEL et al., 1986), também salientam que esta capacidade digestória deve ser observada principalmente em relação aos carboidratos presentes na dieta. Para a carpa capim, Das & Tipathi (1991) recomendam a incorporação de proteína animal na dieta desta espécie, onde encontraram altas atividades de amilases e também de proteases.

Entretanto, avaliando a atividade de amilase em três espécies de peixes tropicais, Seixas Filho et al., (2000) observaram maior atividade específica de amilase no surubim (carnívoro) que na piracanjuba e piau (onívoros), o que sugere a possibilidade de certa adaptação do complexo enzimático devido às condições de criação. Sabapathy e Teo (1993) explicaram que isto pode estar relacionado com a necessidade de digerir o glicogênio do tecido do alimento. Na maioria dos peixes, parte das enzimas é reabsorvida na região posterior do intestino.

### **3.3.1 – Produção de enzimas digestivas exógenas**

O processo fermentativo é responsável pela produção de enzimas exógenas digestivas, que consiste na aplicação do inóculo (levedura) sobre um substrato, sob

condições ideais de ambiente, que permitam o processo fermentativo. Ao final da fermentação, é realizada uma separação da biomassa, com um posterior resfriamento, centrifugação e concentração. Finalmente, realizam-se as etapas de filtração, padronização e controle de qualidade, conforme a apresentação do produto comercial, líquido ou sólido (COWAN, 1993).

Até recentemente, as enzimas usadas na indústria de rações eram subprodutos da indústria de alimentos. Os componentes das atuais enzimas, sua estabilidade e atividade eram questionados quanto à forma de fabricação. Avanços nas áreas de biotecnologia e bioquímica permitiram melhorias significativas na estrutura e produção de enzimas (Tabela 1). Os fatores limitantes em gêneros alimentícios, como os componentes de parede celular e fatores antinutricionais, foram caracterizados bioquimicamente. Enzimas microbianas que atuam sobre esses substratos foram identificadas e testadas. Descobriram-se enzimas com características específicas e que são produzidas sob condições controladas (BEHRENDTS, 2000).

**Tabela 1:** Desenvolvimento do processo de produção enzimática de forma industrial, Adaptada de Inborr et al. (1991)

<b>Fase</b>	<b>Objetivo</b>	<b>Tempo Requerido</b>
Seleção de uma enzima	pH correto, boa estabilidade	Meses
Seleção do organismo produtor	Estável, termotolerante, bom secretor de enzimas	Meses
Melhoria da cepa	Máximo rendimento	De 1 a 3 anos
Otimização do processo	Crescimento em meio equilibrado, condições ótimas, indutores corretos.	Até um ano
Desenvolvimento do processo “dow stream”	Concentração, purificação, estabilização, Formulação do produto.	Meses

De acordo com a sua finalidade, as enzimas usadas em rações para monogástricos podem se dividir em dois tipos: enzimas destinadas a complementar quantitativamente as próprias enzimas digestórias endógenas dos animais (proteases,

amilases, fitases, etc.) e enzimas que esses animais não podem sintetizar ( $\beta$ -glucanases, pentosanases e  $\alpha$ -galactosidases) (HENN, 2002).

As enzimas comercialmente produzidas são provenientes, geralmente, de bactérias do gênero *Bacillus sp*, fungos do gênero *Aspergillus sp* e leveduras (FIREMAN; FIREMAN, 1998). Portanto, os microrganismos são as principais fontes de enzimas exógenas produzidas industrialmente por laboratórios especializados, por meio de culturas aeróbias, sendo derivadas da fermentação.

A enzima xilanase é sintetizada a partir do *Trichoderma longibrachiatum* e atua rompendo as paredes celulares da fibra para liberar os xilo-oligômeros (GIACOMETTI, 2002). A degradação das paredes celulares dos cereais permite uma maximização da ação enzimática endógena do animal sobre a degradação do amido, do lipídio e da proteína, aumentando sua digestibilidade.

A amilase é produzida a partir do *Bacillus amyloliquifaciens*, a qual atua para aumentar a digestibilidade do amido, enquanto a protease é sintetizada a partir do *Bacillus subtilis* e caracteriza-se por uma alta eficiência catalítica (GIACOMETTI, 2002). De acordo com Garcia (1997), esta protease degrada proteínas da soja, especificamente as proteínas de armazenamento, como a conglicina e  $\beta$ -conglicina e os fatores antinutricionais, inibidores de tripsina, lectinas e proteínas antigênicas.

As hemicelulases são responsáveis pela quebra da hemicelulose. As hemiceluloses são carboidratos estruturais de sementes de soja e incluem as galactomanoses e galacto-oligossacarídeos. As enzimas incluem a  $\alpha$ -galactosidase,  $\beta$ -manoses e celulasas.

A celulase é obtida pela extração da fermentação do *Trichoderma viride* e tem atividade de 250 unidades de celulase ativa (UCA/g). Este produto é em pó e pode ser misturado ao amido de milho com corante amarelo. A UCA é definida como a quantidade de enzima que libera 1  $\mu$ mol de glicose em uma solução com 5% (peso/volume) de celulose, em uma hora, a pH 5,0 e 37°C (duas horas de incubação).

Segundo Zanella (2001), existem três grupos de enzimas disponíveis no mercado: enzimas para alimentos com baixa viscosidade (milho, sorgo e soja), enzimas para alimento de alta viscosidade (trigo, centeio, cevada, aveia, triticales e farelo de

arroz) e enzima para degradar o ácido fítico dos grãos vegetais (melhora a utilização do fósforo dos vegetais).

Para dietas à base de cereais de alta viscosidade, os complexos enzimáticos, na maioria das vezes, são compostos pelas enzimas glucanase, amilase, xilanase, celulase e hemicelulases, enquanto os compostos por amilase, protease e xilanases são usados nas dietas de baixa viscosidade.

Nesse sentido, as indústrias produtoras de enzimas comercializam enzimas específicas ou complexos multienzimáticos para serem adicionados em matérias-primas ou para serem suplementados nas dietas, buscando melhorar o valor nutritivo dos alimentos (GIACOMETTI, 2002).

### **3.3.2 – Fitato**

O fitato é a maior reserva de fosfato nos vegetais, correspondendo à cerca de 50 a 80% do fósforo total presente na maioria desses alimentos (HARLAND & MORRIS, 1995). Representam uma classe complexa de compostos de ocorrência natural formados durante o processo de maturação de sementes e grãos de cereais. São encontrados principalmente no feijão, na soja e nos cereais integrais (TORRE et al., 1991).

A sua propriedade antinutricional não se limita somente ao não-aproveitamento do fósforo. O ácido é um potente agente quelante de nutrientes como, por exemplo, proteínas, aminoácidos, amido e cátions e enzimas, como a pepsina, tripsina e  $\alpha$ -amilase, minerais (cálcio, zinco, fósforo, ferro, cobre), de modo que a solubilidade e a digestibilidade são potencialmente reduzidas pela formação de complexos insolúveis, diminuindo a sua disponibilidade (RAVINDRAN et al., 1999).

O ácido fítico pode ser parcialmente desfosforilado para produzir compostos, mas apenas os penta-fosfatos e hexa-fosfatos possuem efeitos negativos na biodisponibilidade de minerais. Os outros compostos formados possuem baixa capacidade de ligação aos minerais ou os complexos formados são mais solúveis. (Sandberg et al., 1989).

Em condições fisiológicas normais, o ácido fítico é ionizado fortemente, tornando-se capaz de interagir com proteínas e íons metálicos. A maioria desses complexos é insolúvel e biologicamente indisponível para os seres (SILVA & SILVA, 1999).

Grynspar & Cheryan (1989), realizaram um trabalho observando que a interação de cálcio, fitato e proteína de soja, parece ser afetado pelo pH do meio e conseqüentemente pela concentração dos três componentes. Em pH ácido (< 4), o fitato associa-se com a proteína da soja, formando complexos insolúveis nos quais a participação do cálcio dependerá da sua concentração. Quando o cálcio está em excesso, este pode deslocar o fitato do complexo fitato-proteína, tornando-o solúvel. Em pH alto (> 6,5) e concentração de cálcio aumentada, o fósforo precipita e a proteína permanece solúvel, como resultado da formação de complexos cálcio-fitato insolúveis.

O fitato também é conhecido pela ação inibitória de enzimas digestivas endógenas, como pepsina, amilase ou tripsina. Estes efeitos ocorrem, possivelmente, devido à natureza inespecífica dos complexos fitato-proteína ou a uma inibição decorrente ao efeito quelante dos íons de cálcio necessários para a atividade destas enzimas endógenas (COUSINS, 1999).

Existem, porém, discordâncias sobre a influência do fitato na biodisponibilidade de minerais. Forbes, (1984), sugere que o fitato provavelmente não exerce efeito significativo na biodisponibilidade de zinco em seres humanos que ingerem uma dieta adequada. Em ratos, os resultados experimentais mostram que ocorre um efeito mínimo sobre o zinco ósseo em animais alimentados com dieta contendo razão fitato:zinco abaixo de 30, e geralmente, nas dietas normais de indivíduos humanos a razão fitato : zinco não excede 24.

Assim, a utilização de enzimas exógenas permite reduzir os custos na produção e aumentar a digestibilidade e disponibilidade de determinados nutrientes para os animais, principalmente nitrogênio, fósforo, cálcio, cobre e zinco, de maneira a diminuir a presença desses componentes nas fezes e o potencial de poluição ao meio ambiente, pois o fósforo presente nas excretas apresenta elevado potencial de poluição (SMITH et al, 2001) e prejudica a qualidade do solo e da água. O fósforo

lixiviado do solo estimula o rápido crescimento de algas e reduz os níveis de oxigênio, comprometendo a vida aquática.

### 3.3.3 – Fitase

Além do uso de lipases, proteases e carboxilases como alternativa para disponibilizar maior quantidade de nutrientes dos alimentos, e conseqüentemente, melhorar a utilização da dieta, pode-se também fornecer outras enzimas que também serão necessárias, tais como a fitase.

Existem enzimas que não são liberadas, mesmo na presença de substrato. Entre estas enzimas, destacam-se a celulase, a hemicelulase, a xilanase e a fitase. Essas enzimas não são liberadas devido ao fato de os monogástricos não possuírem os respectivos genes responsáveis pela sua produção endógena (PENZ JÚNIOR, 1998).

A fitase (ou mio-inositol hexaqui-fosfato fosfohidrolase) é uma enzima pertencente ao grupo das fosfatases (LIMA, 2008).

Desde 1968 a fitase atrai a atenção de nutricionistas, onde alguns artigos foram publicados, ressaltando que a disponibilidade do fósforo fítico pode ser consideravelmente melhorada com a adição da enzima nas dietas. Porém, naquele tempo, os custos para a produção da enzima tornaram-se uma limitação para o seu uso (NELSON, 1968). As primeiras fitases comercializadas eram derivadas de espécies de fungos, como *Aspergillus niger* e *Peniophora lycii* (REMUS, 2007).

São enzimas com a função de romper a ligação do fósforo orgânico que estão ligados aos sais do ácido fítico, disponibilizando-o biologicamente nas formas de ortofosfato e inositol (OLIVEIRA, 2009). Possui especificidade relativa, pois é uma fosfatase que atua retirando o fósforo de qualquer substrato.

Quando enzimas exógenas são adicionadas às rações, geralmente são esperados objetivos distintos: hidrólise ou remoção dos fatores antinutricionais; aumento da digestibilidade dos nutrientes existentes; suplementação das enzimas endógenas e a hidrólise de polissacarídeos não amiláceos solúveis (CLASSEN, 1996).

A inserção de fitase em dietas com níveis elevados de ingredientes vegetais reduz a adição de fósforo inorgânico e contribui com a redução da eliminação de fósforo por efluentes (BOCK et al, 2007).

A atividade da fitase é expressa em FTU ou em U (unidade de fitase ativa), representando a quantidade de enzima necessária para liberar um micromol de fósforo inorgânico, durante um minuto em substrato de sódio fitato à temperatura de 37°C e pH 5,5 (LIMA, 2008).

A maioria das fitases é ativa em pH ao redor de 4,5 a 6,0 e a temperatura ideal fica entre 45-60 °C (LIU et al., 1998). Para que se mantenha estável, é necessário mantê-la em temperaturas menores que 90°C e pH entre 3,0 e 9,0, sendo que variações extremas de pH e temperatura elevada podem reduzir a atividade da enzima ou até mesmo destruí-la. Temperaturas abaixo de 0°C também podem prejudicar a ação da enzima. A fitase deve ser armazenada na forma pura e em baixas temperaturas (geladeira a  $\pm 5^{\circ}\text{C}$ ) e, quando for utilizada, deverá ser misturada diretamente aos macroingredientes ou via suplemento mineral (PIZZOLANTE, 2000).

Por outro lado, quando armazenada com produtos que possuem características inócuas, pode continuar estável e ser armazenada por até seis meses, mesmo em condições ambientais instáveis (CLASSEN, 1996). O mecanismo de ação da fitase consiste em agir como um catalisador. São substâncias que elevam a taxa de uma determinada reação química, porém não causam alterações permanentes. No trato digestivo, as enzimas são ativadas quando se misturam aos líquidos digestivos, sob a temperatura do organismo (LIMA, 2008).

Na natureza, os peixes suprem com facilidade suas exigências nutricionais com alimentos disponíveis no meio. Entretanto, quando confinados, suas necessidades precisam ser atendidas pela ração, mediante a utilização de dietas balanceadas (GOLÇALVES *et al.*, 2005).

Atualmente, tem aumentado a produção de peixes em sistemas intensivos. Esse sistema possibilita a obtenção de significativa produção por unidade de área, mas exige maior atenção ao valor nutritivo dos alimentos utilizados para compor a ração, uma vez que essa ração será o único alimento disponível para suprir a necessidade nutricional desses peixes (GOLÇALVES *et al.*, 2005).

Os nutricionistas têm concentrado esforços para obter informações que permitam formular rações mais completas e economicamente viáveis para obter as respostas zootécnicas desejadas. No entanto, com a crescente pressão sobre a necessidade de reduzir a poluição aquática, têm-se priorizado as pesquisas para minimizar as excreções de nitrogênio (N) e fósforo (P), os principais responsáveis pela eutrofização do ambiente aquático, principalmente nas criações intensivas, que dependem exclusivamente de rações balanceadas (FURUYA et al., 2005).

As descargas de nutrientes em efluentes de piscicultura estão diretamente associadas ao alimento. Portanto, em virtude da necessidade de reduzir a poluição da água e incrementar a sustentabilidade na aqüicultura, deve-se reduzir a quantidade de fósforo em viveiros de piscicultura, pois seu excesso pode aumentar o crescimento de fitoplâncton na água, resultando em largas flutuações em oxigênio dissolvido (BOCK et al., 2007).

A ração é considerada a maior fonte de fósforo. Sendo que o fósforo presente nos alimentos vegetais não pode ser totalmente absorvido pelos animais monogástricos, por se apresentar na forma de fitato, substância não hidrolisável no intestino desses animais. Para que o fósforo seja liberado é necessária a presença de fitase, enzima não sintetizada pelos animais monogástricos (BOCK et al., 2007).

Fósforo fítico é a designação do fósforo que faz parte da molécula do ácido fítico (hexafosfato de inositol ou fitato), encontrado nos vegetais. A molécula de fitato possui alto teor de fósforo (28,2%) e alto potencial de quelação. Segundo Keshavarz (1999), o ácido fítico pode formar ampla variedade de sais insolúveis com cátions divalentes e trivalentes, como cálcio, zinco, cobre, cobalto, manganês, ferro e magnésio, que influenciam negativamente a digestão dos nutrientes, diminuindo a energia metabolizável da ração.

O uso de alimentos protéicos e energéticos de origem vegetal merece grande destaque, principalmente em países de clima tropical e subtropical, onde são produzidos em grande escala, apresentam menor custo e estão disponíveis durante a maior parte do ano. No entanto, alimentos de origem vegetal apresentam baixos níveis de fósforo e baixa disponibilidade desse mineral (FURUYA et al., 2001). Contém de 0,5

a 6,0% de ácido fítico e de 50 a 90% de seu total de fósforo na forma de fitato (NOLAN e DUFFIN 1987).

O fitato é capaz de se complexar com cátions, proteínas, lipídeos e amido, tornando grande parte destes nutrientes não digestíveis para os peixes, em razão da ausência da enzima fitase endógena (VIELMA et al., 1998), que promove a hidrólise da ligação éster entre o fosfato e a molécula de inositol.

Grande parte dos alimentos protéicos e/ou energéticos que constituem as rações é de origem vegetal. Peixes onívoros possuem adaptações morfofisiológicas que possibilitam a utilização de rações compostas exclusivamente por alimentos vegetais. Isso é possível pelo fato de os peixes onívoros utilizarem melhor os carboidratos (KUBARIK, 1997) e a proteína (aminoácidos) dessas fontes (TENGGJAROENKUL et al., 2000). Entretanto, alimentos de origem vegetal apresentam baixa disponibilidade de minerais, por possuírem fatores antinutricionais como o fitato.

O avanço da tecnologia de processamento de alimentos, a engenharia genética, a disponibilidade de novos pró-nutrientes e aditivos, além do maior número de informações acerca das necessidades nutricionais dos peixes, têm possibilitado a elaboração de rações exclusivamente vegetais. No entanto, a mucosa intestinal dos peixes não secreta a enzima fitase (GOLÇALVES et al., 2005).

Em trabalho realizado com o salmão do Atlântico (*Salmo salar*), com peso vivo inicial de 108 g e alimentado com ração a base de proteína do farelo de soja, Storebakken *et al.* (1998), observaram que a utilização de fitase (500 UF/kg) aumentou a digestibilidade da proteína (85,0 para 88,2%) e a disponibilidade do P (29,7 para 48,8%). Os autores ressaltaram as implicações da utilização de fitase sobre a menor descarga desses nutrientes nos tanques de criação. Valores superiores de inclusão de fitase foram encontrados por Lanari et al. (1998) e Vielma et al. (1998), com a truta arco-íris, de 1000 e 1500 UF/kg, respectivamente, para máximo ganho de peso, retenção de minerais na carcaça e disponibilidade dos macrominerais.

Para o bagre-do-canal (*Ictalurus punctatus*), Jackson et al. (1996), em estudo avaliando inclusão de 0, 500, 1000, 2000 e 4000 unidades de fitase ativa UFA/kg de ração, concluíram que a utilização de 500 UFA/kg foi suficiente para permitir adequado desempenho e deposição de P nos ossos. Furuya et al. (2001), em trabalho realizado

com a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) de 9 a 40 g de peso vivo, avaliaram a inclusão de 0, 500, 1500 e 3000 UFA/kg de ração formulada com base em proteína do farelo de soja com 0,75% de P total e 0,25% de P disponível. Além do melhor desempenho, observaram que a ração com cerca de 500 UF/kg resultou em adequada retenção de minerais (cálcio, fósforo, ferro, zinco e magnésio) nos ossos e melhora na digestibilidade da proteína e na disponibilidade do Ca e do P da ração.

Poucas são as informações sobre a utilização de fitase em rações para peixes tropicais. A adição desta enzima pode permitir a maior inclusão de produtos de origem vegetal com baixos níveis de inclusão de fontes inorgânicas de P, através da melhora no desempenho produtivo e na digestibilidade dos nutrientes e conseqüentemente, no retorno econômico (FURUYA *et al.*, 2005).

A inclusão de fitase em dietas com grandes quantidades de ingredientes vegetais pode, reduzir a adição de fósforo inorgânico e contribuir para redução da descarga de fósforo por efluentes da piscicultura. A fitase possui especificidade relativa, pois é uma fosfatase que retira fósforo de qualquer substrato. A utilização de fitases exógenas permite melhor aproveitamento do fósforo fítico dos vegetais, reduzindo sua excreção para o ambiente e diminuindo os custos de produção (PIZZOLANTE, 2000).

### **3.3.3.1 - Fontes de fitase**

#### **3.3.3.1.1 – Vegetal**

Os vegetais possuem, geralmente, baixos valores de fitase. São encontrados em várias fontes vegetais, como milho, trigo, alguns arbustos, alfaces, sementes oleaginosas, centeio e cevada.

	Fonte vegetal	Total de P (g.kg-1)	P na forma de fitato (g.kg-1)	Proporção (%)	Bioavaliabilidade (%)	Atividade da fitase (FTU kg-1)
<b>Cereais</b>	Cevada	3,21	1,96	61,0	30	348
	Milho	2,62	1,88	71,6	12 – 14	25
	Sorgo	3,01	2,18	72,6	20	35
	Trigo	3,07	2,19	71,6	49	503
<b>Óleos vegetais</b>	Óleo de Canola	9,72	6,45	66,4	21	5
	Óleo de Algodão	10,02	7,72	77,1	1	11
	Óleo de Soja	6,49	3,88	59,9	23 – 31	42
<b>Derivados</b>	Farelo de Arroz	17,82	14,17	79,5	25	129
	Farelo de Trigo	10,96	8,36	76,3	41	2173

### 3.3.3.1.2 – Microbiana

Várias espécies de fungos, bactérias e leveduras têm sido utilizadas para a produção de fitases, apresentando características que permitam um alto rendimento. Assim, têm sido amplamente usadas na indústria de rações para animais.

A comercialização de fitase microbiana teve início em 1991, quando a legislação introduzida nos Países Baixos para controlar a poluição de fosfatos em unidades de criação de suínos e aves ampliou a sua aceitação e conseqüente desenvolvimento. O que antes era mais restrito tornou-se globalmente utilizado com o reconhecimento do risco ecológico da eutrofização. Além disso, a proliferação das fitases no mercado

gerou redução de preços e facilidades na aplicação da criação de animais monogástricos.

Em 2000, com a proibição da adição de farelos de carne e ossos de animais nos sistemas de criação na União Européia, houve um novo incentivo. Como esses farelos forneciam 57% do fósforo adicionado à ração, a proibição gerou uma demanda de 110 mil toneladas de fósforo elemental, mas a utilização da fitase microbiana reduziu essa demanda para 26 mil toneladas (SELLE & RAVINDRAN, 2008).

Atualmente, as fontes de fitase mais comercialmente utilizadas são as microbianas provenientes das bactérias *Bacillus sp.*, *Enterobacter sp.*, *Escherichia coli*, de leveduras como *Arxula adenivorans* e *Hansenula polymorpha* e fungos como *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.* e *Talaromyces thermophilus* (LIMA, 2008). As fitases derivadas da bactéria *Escherichia coli* são consideradas de segunda geração e têm demonstrado melhores influências no desempenho, aumento na mineralização óssea e biodisponibilidade de fósforo para aves (REMUS, 2007).

### **3.3.3.2 - Suplementação de fitases na ração animal**

#### **3.3.3.2.1 - Vantagens ambientais**

Normalmente, o fósforo e a luz são os principais fatores limitantes na produção de plâncton em águas doces temperadas e tropicais. As descargas de nutrientes em efluentes de piscicultura estão diretamente associadas ao alimento. Portanto, em virtude da necessidade de reduzir a poluição de águas e incrementar a aquicultura sustentável, deve-se reduzir a quantidade de fósforo em viveiros de piscicultura, pois seu excesso pode aumentar o crescimento de fitoplâncton na água, resultando em largas flutuações em oxigênio dissolvido (BOCK et al, 2007).

A ração é considerada a maior fonte de adição de fósforo. Na ração o fósforo presente nos alimentos vegetais não pode ser totalmente absorvido pelos animais monogástricos, por se apresentar na forma de fitato, substância não hidrolisável no intestino desses animais. Para que o fósforo seja liberado, é necessária a presença de fitase, enzima não sintetizada pelos animais monogástricos (BOCK et al, 2007).

A utilização de fitase e outras enzimas na formulação das rações contribuem com a digestibilidade e disponibilidade de certos nutrientes para os animais, principalmente o fósforo, nitrogênio, cobre, cálcio e zinco, diminuindo a excreção desses elementos nas fezes e conseqüentemente o potencial poluente do ambiente.

A produção animal é considerada um dos principais fatores da contaminação, podendo contaminar a água de três formas: pelo escoamento superficial do dejetos excretado das criações no ambiente; pela poluição do ar em função dos gases liberados durante a fase de decomposição dos dejetos e pela poluição excessiva de determinados nutrientes utilizados, obtendo como conseqüência um desequilíbrio entre nutrientes e o ambiente (SHARPLEY et al., 1996).

De acordo com Rostagno et al. (2000), as rações para aves e suínos são formuladas basicamente com milho e farelo de soja, onde o conteúdo de fósforo apresenta uma disponibilidade de apenas 33%; e em rações formuladas com farelo de arroz, a disponibilidade do fósforo é ainda menor, correspondendo a 20% , havendo conseqüentemente maior excreção desse nutriente no solo.

A criação de suínos, no Brasil, é predominantemente desenvolvida em pequenas propriedades rurais. Esta situação torna-se preocupante de maneira que, devido à limitação da área; da prática de agricultura intensiva com dois cultivos anuais na mesma área e também a inviabilidade à prática de aplicação dos dejetos desses animais, há um acúmulo no solo de metais pesados, principalmente o fósforo. No futuro, os sítios de adsorção poderão estar saturados, favorecendo a transferência por escoamento, causando a eutrofização de águas superficiais e subterrâneas (BERWANGER, 2006).

A intensificação e o crescimento do setor aquícola têm despertado interesse e preocupação a respeito dos impactos provocados ao meio ambiente, pois o fósforo e o nitrogênio são fundamentais ao processo de eutrofização de água doce, sendo o fósforo considerado o principal nutriente poluidor dos ambientes aquáticos (BOCK et al, 2006). A criação de peixes favorece o ambiente com os resíduos dos alimentos artificiais e, quando esses níveis alimentares estão em excesso, gera um resultado negativo com o ecossistema, principalmente em razão da multiplicação do fitoplâncton (FURUYA et al, 2004).

Segundo Coffey (1992), o potencial do fósforo para contaminar a terra e a água é menor que do nitrogênio, em função do fósforo aderir às partículas do solo, tornando-se assim, um contaminante parcial de rios e lagos, devido à sua translocação limitada. No entanto, em contato com a superfície das águas, o fosfato estimula o crescimento das algas (eutrofização), resultando em um decréscimo na qualidade desta água. A morte e deteriorização destas algas diminuem a quantidade de oxigênio na água, criando um meio inadequado para os peixes e outros animais aquáticos (CROMWELL et al., 1995).

Os conhecimentos e avanços na área nutricional colaboram com a absorção de nutrientes, reduzindo conseqüentemente as perdas. Em trabalho realizado por Smith (2004), a inserção de fitase na ração de aves resultou em uma redução de 50% do fósforo transferido por escoamento superficial, quando comparado com a disponibilidade do elemento em dietas normais.

Assim, a utilização de enzimas exógenas, como a fitase, é um dos meios mais práticos e simples para melhorar a digestibilidade e aproveitamento dos nutrientes presentes nas rações, reduzindo e prevenindo a contaminação do solo e lençóis freáticos.

#### **3.3.3.2.2 - Utilização de fitase em peixes**

Devido ao crescimento e à intensificação da piscicultura nos últimos anos, várias pesquisas têm sido conduzidas a fim de reduzir os custos na nutrição de peixes, potencializar a produção e evitar o impacto provocado ao meio ambiente, pois o fósforo tem sido considerado o principal mineral que polui os ambientes aquáticos.

Apesar de ainda serem poucos os estudos sobre o efeito da fitase em dietas para as várias fases de desenvolvimento das diversas espécies de peixes utilizadas em cultivos, algumas espécies têm respondido de forma positiva à suplementação desta enzima em relação ao desempenho, à disponibilidade de fósforo e retenção de minerais nos ossos (SOUZA, 2008).

Bock et al (2006) realizaram uma pesquisa objetivando avaliar a disponibilidade do fósforo nas rações formuladas com diferentes níveis de fitase para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), além de verificar o efeito da inclusão da enzima na

digestibilidade aparente dos nutrientes. Foram utilizados nove tratamentos, um controle (ração com suplementação de fósforo em forma de fosfato bicálcico) e oito sem suplementação de fósforo, mas com inclusão de diferentes níveis de fitase (500, 1.000, 1.500, 2.000, 2.500, 3.000, 3.500 e 4.000 UF/kg de ração), utilizando 90 juvenis de tilápia, onde se verificou que a inclusão de 1.500 UF/kg foi suficiente para disponibilizar fósforo e cálcio, permitindo um valor adequado do coeficiente de digestibilidade da matéria seca e da energia, sendo necessária a inclusão de 1.000 UF/kg para adequada disponibilidade de zinco e manganês.

Porém, no trabalho desenvolvido por Furuya et al (2001), em que a fitase foi utilizada para determinação do desempenho e digestibilidade, também em tilápia do Nilo, verificou-se que a utilização de 700 UF/kg foi adequada para o desempenho produtivo, digestibilidade da proteína e disponibilidade do cálcio e fósforo, valor inferior ao encontrado por Bock et al (2006). Essa utilização é ainda menor na pesquisa realizada por Silva et al (2007), que, ao utilizar fitase líquida extrusada para juvenis de tilápia do Nilo, sugerem que a utilização de aproximadamente 500 UF/kg é suficiente à adequada retenção de fósforo nos ossos, digestibilidade da proteína e disponibilidade do fósforo.

Em outros trabalhos que objetivaram a disponibilidade do fósforo, verificou-se que a fitase mostrou-se eficiente para a truta arco-íris (Vielma et al., 1998; Lanari et al., 1998; Forster et al., 1999), para o salmão do Atlântico (Storebakken et al., 1998; Sajjadi & Carter, 2004), para “striped bass” *Morone saxatilis* (Hughes & Soares Jr., 1998), para o “flounder japonês” (Masumoto et al., 2001), para a tilápia do Nilo (Furuya et al., 2001a) e para a carpa comum (Nwanna et al., 2007).

Em relação ao desempenho produtivo e das características da carcaça de peixes, Rocha et al (2007) realizaram um trabalho avaliando o efeito da suplementação da fitase sobre esses aspectos. Foram utilizados 208 alevinos de jundiá, em um período de 45 dias. Foram testados quatro níveis de suplementação na dieta (0, 500, 1.000 e 1.500 FTU kg<sup>-1</sup> de dieta) constituindo os tratamentos, com quatro repetições.

Assim, ao término do experimento, verificou-se que a utilização de níveis crescentes de fitase até a concentração de 1.500 FTU/kg aumenta o ganho de peso e

a taxa de crescimento dos alevinos de jundiá e reduzem linearmente o extrato etéreo na carcaça dos mesmos.

O resultado encontrado por Rocha et al (2007) difere dos encontrados por Signor et al (2010). Esses autores avaliaram o desempenho de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com rações contendo complexo enzimático, composto por amilase, protease, celulase, lípase, pectinase, xilanase e fitase. Ao final da pesquisa, concluiu-se que a utilização do complexo enzimático melhorou a conversão e a eficiência alimentar, mas não interferiu no desempenho produtivo dos peixes.

O desempenho produtivo beneficiado pela utilização de fitase é descrito em algumas outras espécies de peixes: truta arco-íris (Cain & Garling, 1995; Vielma et al., 1998; Vielma et al., 2002), do “flounder japonês” *Paralichthys olivaceus* (Masumoto et al., 2001), da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (Furuya et al., 2001; Furuya et al., 2006), do *Pangasius pangasius* (Debnath et al., 2005a), da “silver perch” *Bidyanus bidyanus* (Yang et al., 2006) e da carpa comum *Ciprinus carpio* (Nwana et al., 2007; Nwana & Schwarz, 2007). Entretanto, não foi observado efeito do uso da fitase no desempenho produtivo da carpa comum (Schäfer et al., 1995), truta arco-íris (Vielma et al., 2000), salmão do Atlântico (*Salmo salar*) (Storebakken et al., 1998; Sajjadi & Carter, 2004) e camarão *Penaeus monodon* (Biswas et al., 2007).

Em estudos experimentais a fim de comparar o desempenho, a incorporação e a excreção do fósforo obtidos com o fornecimento de uma ração com suplementação de fósforo aos resultados obtidos com rações sem adição de fósforo, porém, com níveis crescentes de fitase, para tilápias do nilo durante a fase de crescimento, verificou-se que a utilização de fitase pode reduzir os níveis de inclusão de fósforo inorgânico nas rações e minimizar os impactos provocados por esse mineral nos sistemas de produção que utilizam rações contendo alimentos de origem vegetal, reduzindo assim a poluição ambiental (BOCK et al, 2007).

### **3.3.4 - L-carnitina**

Vários compostos químicos amplamente difundidos nos alimentos de origem animal têm sido sugeridos como possíveis componentes com atividade fisiológica.

Dentro destes, os nutrientes essenciais também designados substâncias semelhantes a vitaminas (“vitamin-like”), a L-carnitina, coenzima Q<sub>10</sub>, ácido  $\alpha$ -lipóico, colina e taurina, têm merecido uma atenção crescente nos últimos tempos (PRATES & MATEUS, 2002).

A L-carnitina é uma pequena molécula de peso igual a 161,20 $\mu$ g/mol, que foi inicialmente denominada por vitamina B<sub>7</sub> por atuar como vitamina na larva da farinha (*Tenebrio molitor*). Mais tarde o termo "vitamina" foi rejeitado por ser susceptível de causar confusão quando cientistas descobriram a sua presença em órgãos de mamíferos (ex: Homem) e de pequenos animais, assim como em inúmeros microorganismos e plantas (Rebouche e Seim, 1998; Harpaz, 2005). O nome carnitina é derivado do Latim, caro ou canis que significa “carne” e foi descoberta em 1905 em extratos musculares (Gulewitsch e Krimberg, 1905), sendo mais tarde identificada a sua fórmula química C<sub>7</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub> e em 1927 a sua estrutura,  $\gamma$ -trimetil- $\beta$ -hidroxibutirato.

Segundo (Hathcock e Shao, 2006) a L-carnitina é uma amina quaternária que desempenha um papel biológico fundamental no transporte de ácidos graxos de cadeias média (C12-C14) e longa (C16-C24) através da membrana mitocondrial, para sofrerem  $\beta$ -oxidação no interior da matriz mitocôndria, na formação dos corpos cetônicos e na termogénese (Woollard, 1999). O fato de transportar as longas cadeias de ácidos graxos para o interior da matriz mitocondrial na forma de acil-L-carnitina, é essencial para oxidação e produção de ATP nos tecidos periféricos (Gulçin, 2006). Além disto, é responsável pela translocação de resíduos de acil para o exterior da matriz mitocondrial. Sendo assim, a L-carnitina desempenha uma função indispensável no metabolismo dos ácidos graxos.

Algumas evidências sugerem que alguns ácidos graxos, como o ácido eicosapentaenóico (EPA, 20:5n-3) e o ácido docosahexaenóico (DHA, 22:6n-3), parecem ser sintetizados nas mitocôndrias do fígado pela desnaturação dos ácidos graxos pelo que a carnitina é um co-factor essencial (Infante e Huszagh, 2000; Wynn e Ratledge, 2000).

A L-carnitina é um nutriente essencial e orgânico, por vezes referido como um semi-aminoácido e é um composto muito higroscópico, facilmente solúvel em água. Ela é sintetizada quase exclusivamente no fígado dos animais vertebrados e existe em grande quantidade nos alimentos de origem animal (Rebouche e Seim, 1998;

Zeyner e Harmeyer, 1999). Segundo Borum (1983), este nutriente orgânico é sintetizado a partir de dois aminoácidos essenciais (lisina e metionina), três vitaminas (C, B<sub>6</sub> e a niacina) e o íon ferro (Fe<sup>2+</sup>). Um dos primeiros sintomas de deficiência de vitamina C é a fadiga, que por muito tempo pensou-se estar relacionada à diminuição da síntese de L-carnitina (Lohninger et al., 1987).

A L-carnitina, está presente nos tecidos como carnitina-livre e em ésteres de acilcarnitina. A carnitina-livre nos vertebrados tanto deriva da biossíntese, ocorrendo primeiramente no fígado, assim como no baço e no cérebro e só depois nos rins, fontes exógenas (Harpaz, 2005; Rebouche e Seim, 1998 ).

A primeira evidência convincente para a biossíntese da L-carnitina em animais foi obtida a partir de embriões de galinha, que continham quantidades significativas de carnitina, ao passo que nenhuma carnitina foi encontrada em ovos não fecundados. (Harpaz, 2005).

Também foi mostrado que a lisina é convertida em carnitina com 6-N-trimetilisina como um intermediário (Bremer, 1983). A formação endógena da carnitina nos vertebrados ocorre principalmente no fígado, bem como nos rins e no cérebro, como resultado da ocorrência da enzima são necessários 4 Butirobetaína hidroxilase. Esta síntese da L-carnitina é catalisada pela ação concentrada de cinco enzimas diferentes.

Após a síntese, a L-carnitina deve ser transportada para outros tecidos. Ela está mais concentrada nos tecidos que utilizam ácidos graxos como fonte primária de combustível, tais como músculo esquelético e cardíaco, esses tecidos possuem uma quantidade de L-carnitina superior (Fritz e Yue, 1963). Desse modo, a L-carnitina tem que ser transportada da fonte produtora (endógena ou exógena) para o músculo para ser usada na β-oxidação, convertendo-se carnitina-livre a ésteres de carnitina.

A L-carnitina desempenha um papel importante na produção de energia através da β-oxidação dos ácidos graxos (acil-CoA) na matriz mitocondrial e no acompanhamento de compostos intermediários para fora da mesma impedindo a sua acumulação.

A carnitina acil translocase é responsável pelo transporte da carnitina e seus ésteres, através da membrana mitocondrial interna (Fritz e Yue, 1963). A L-carnitina é, portanto, um componente normal dos tecidos animais e do plasma, que é necessário

para o transporte de ácidos graxos de cadeia longa para o sítio de  $\beta$ -oxidação. Ela também facilita a remoção de cadeia curta de ácidos orgânicos a partir da mitocôndria, liberando a coenzima A intramitocondrial para participar da  $\beta$ -oxidação via ciclo do ácido tri carboxílico. (Borum, 1987).

Depois de suprida a necessidade de L-carnitina o excesso e os ésteres de acilcarnitina são transportados dos tecidos periféricos para os rins onde a maioria da L-carnitina é reabsorvida e uma pequena parte é excretada através da urina. Além disso, AL-carnitina reabsorvida é transportada pelo sangue de volta para o fígado, e daí para outros tecidos.

Grandes variações na concentração de L-carnitina são observadas entre os diferentes tecidos. Os músculos contêm 98% da quantidade total, enquanto que 1,5 e 0,5% da L-carnitina são encontrados no fígado e outros tecidos, respectivamente (Ozório et al., 2009). O músculo esquelético constitui o principal reservatório de L-carnitina do organismo, com uma concentração aproximadamente 200 vezes superior à do plasma sanguíneo.

Sob determinadas circunstâncias, as necessidades em L-carnitina excedem a capacidade de um indivíduo para sintetizá-la, fazendo dela um nutriente essencial (Harpaz, 2005). Um exemplo desse momento onde ela excede é no caso de animais muito novos onde a taxa de crescimento e a necessidade energética são muito elevadas, ou durante a gravidez e em situações de aleitamento materno, podendo causar uma deficiência de L-carnitina (Giovannini et al., 1991; Owen et al., 2001). Quimicamente, a L-carnitina pode ser encontrada sob duas formas isoméricas: a D-carnitina e a L-carnitina, mas, naturalmente, só é encontrada sob a forma de L-carnitina (Ozório, 2001). O isômero D-carnitina é menos ativo ou inativo biologicamente (Gross e Henderson, 1984).

Santulli e D'Amelio (1986a) estudaram os efeitos da suplementação da dieta do robalo europeu com uma ração contendo 250 mg de L-carnitine e 250mg de D-carnitina por quilograma de peso vivo. Seus resultados mostram que o uso do suplemento D-carnitina resultou em taxa de crescimento significativamente mais baixo do peixe em relação ao grupo controle que não tinha suplementação de carnitina. Por outro lado, os peixes alimentados com a suplementação de L-carnitina apresentaram resultados de crescimento significativamente maior comparado ao grupo controle. Isto pode ser

devido ao fato de que a L-carnitina por via oral deve ser transportada para a circulação através do intestino e, nessa fase, a L-carnitina é absorvida muito mais rapidamente, mais do dobro da taxa de absorção da D-carnitina,.

#### **3.3.4.1 - Uso da L-carnitina em Aqüicultura**

A diminuição da oferta de farinha de peixe ao mercado e o aumento da necessidade desse produto para formulação de rações para peixes e felinos principalmente, causou uma elevação no preço dessa matéria-prima, que forçou os pesquisadores e as fabricas de ração desencadear uma busca por novas fontes protéicas de baixo custo que servisse para substituir totalmente ou parcialmente essa fonte protéica, uma vez que é a principal fonte protéica nas dietas para aqüicultura (Urbinati et al., 2000), por fontes de origem vegetal ou mesmo a substituição de uma parcela da fração protéica por uma fonte lipídica que passasse a ser incorporada pelo peixe.

Relativamente à substituição da farinha de peixe por produtos vegetais, mesmo que feita parcialmente, sabe-se que pode às vezes ter impactos negativos na saúde e no desempenho do animal, já que interfere no fornecimento de alguns nutrientes essenciais. Segundo Ozório (2001), como as fontes vegetais apresentam em média 10 a 20 vezes menos L-carnitina do que as fontes animais, torna-se importante, por exemplo, a suplementação de L-carnitina nas formulações. Quanto à substituição parcial da fração protéica por uma lipídica, testada principalmente na alimentação de muitos peixes carnívoros, alcançando valores acima dos 35%.

Estes elevados níveis de gordura na dieta têm desencadeado interesse quanto à capacidade que os peixes têm para utilizarem um alimento rico em energia. Carr e Chaney (1976) descobriram que os aminoácidos e as aminas quaternárias (como a carnitina, betaína e a colina) são estimulantes alimentares potentes para algumas espécies de peixes. A suplementação na dieta de L-carnitina, por exemplo, tem sido atribuída a um aumento do consumo (Twibell e Brown, 2000), a uma melhoria no crescimento e ao aumento do ganho de peso em um grande número de espécies de peixes (Santulli e D`Amelio, 1986a; Torreele et al., 1993; Chatzifotis et al., 1995; Focken

et al., 1997), podendo também levar a uma diminuição no teor da gordura corporal, como descrito para o robalo (Santulli et al., 1990) e para o peixe-gato Africano (Ozório et al., 2001a, b). Estes benefícios são atribuídos a um aumento da oxidação lipídica, resultando em uma melhor utilização da gordura como fonte de energia (Harpaz, 2005).

No entanto, existem outros benefícios relacionados com a suplementação de L-carnitina na dieta, como a proteção contra níveis tóxicos de amônia (Tremblay e Bradley, 1992), xenobióticos (Schreiber et al., 1997; Arrigoni-Martelli e Caso, 2001) e agentes infecciosos (Juliet et al., 2003 e Thangasamy et al., 2007), possibilitando a redução e/ou a eliminação da utilização de antibióticos na aquicultura. Em relação aos níveis tóxicos de amônia, agente de stress comum nas pisciculturas, foi demonstrado que a L-carnitina proporciona proteção aos peixes contra a toxicidade aguda desta substância (Harpaz, 2005).

A L-carnitina pode ser fornecida aos animais de diferentes modos, diretamente por infecção intravenosa (Deshmukh e Rusk, 1988; Tremblay e Bradley, 1992) ou através da dieta (Li et al., 1992), sendo no primeiro caso mais eficaz, uma vez que a L-carnitina dilui o nível de amônia no sangue dos animais, evitando assim a sua toxicidade (Deshmukh e Rusk, 1988).

Além disso, a L-carnitina, aumenta a resistência ao estresse causado pelo manuseio excessivo e por possíveis alterações abióticas no meio onde vivem, facilitando a aclimatação dos peixes (Harpaz et al., 1999; Harpaz, 2005). No entanto, a L-carnitina também pode modificar a estrutura/textura do músculo, relacionadas com os níveis elevados de natação, e melhorar a reprodução dos animais cultivados (Harpaz, 2005).

#### **3.3.4.2 – Efeito da L-carnitina no crescimento dos peixes e vertebrados.**

O papel da L-carnitina nos vertebrados foi extensivamente estudado e a maioria dos estudos descreve o seu papel na oxidação dos ácidos graxos. Contudo, ela pode ter também funções no metabolismo celular, como a reestruturação de ácidos graxos da membrana plasmática e a regulação de genes (Pereira, 2009).

A L-carnitina diminui as concentrações de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e aumenta a fração de lipoproteínas de alta densidade (HDL) no sangue (Brouquist, 1994).

A L-carnitina, devido ao seu papel na oxidação dos ácidos graxos pode também diminuir a modulação da transcrição de enzimas do ciclo da uréia, pelos ácidos graxos de cadeia longa e aumentar a síntese de uréia no fígado (O'Connor et al., 1984).

Adicionalmente, a carnitina e acetil-carnitina realçam a função imune (Rebouche, 1998) e o éster acetil protege ainda as células nervosas do estresse e deterioração (Crayhon, 1998). Para além das diversas funções da carnitina, mencionadas anteriormente, esta tem também funções nutraceuticas, uma vez que assegura proteção do organismo contra problemas sanitários, sendo exemplo disso o trabalho realizado por Ozório et al, (2009) em que a suplementação de L-carnitina na dieta teve um efeito protetor nos peixes contra agentes de stress bióticos (ex: agentes bacterianos) e abióticos (ex: níveis elevados de amônia e de acetato de amônia) (Tremblay e Bradley, 1992).

Nas últimas décadas, tem aumentado a pressão para reduzir o nível de farinha de peixe na formulação das dietas para peixes. Inúmeros estudos com peixes carnívoros têm tentado substituir uma parcela da proteína por gordura (Hanley, 1991; Brecka et al., 1996). Em rações para peixes tem-se colocado alimentos com altos níveis de energia, conseqüentemente aumentando o nível energético das rações, chegando a 35% de energia. Isso tem sido feito em um esforço para reduzir o teor de farinha de peixe e conseguir poupar proteína. Estes altos níveis de gordura têm estimulado o interesse dos pesquisadores na capacidade dos peixes de utilização deste nutriente de alto valor energético.

A L-carnitina parece ser uma substância promissora neste sentido. O efeito da suplementação dietética de L-carnitina no crescimento dos peixes tem sido atribuído à melhoria da utilização de energia, em conseqüência do aumento da oxidação dos ácidos graxos pela mitocôndria. Por este motivo, a adição da L-carnitina resulta, indiretamente, em uma diminuição do catabolismo protéico ("protein-sparing action"), já que uma maior parte da energia é gerada a partir dos ácidos graxos de cadeia longa, conduzindo a um melhor crescimento mesmo em dietas contendo um menor teor protéico (Harpaz, 2005).

O processo de oxidação de ácidos graxos, no qual a L-carnitina tem papel fundamental, tem sido demonstrado em mitocôndrias isoladas de truta (Bilinski e Jonas, 1970). A promoção do crescimento efeito da suplementação com L-carnitina foi

encontrada pelos seguintes pesquisadores: Santulli e D'Amelio (1986a), em robalo europeu; Twibell e Brown (2000) em striped bass; Torreele et al. (1993), no bagre-africano; Chatzifotis et al. (1995) no pargo, Keshavanath e Renuka (1998), no rohu carpa indiana importantes; Jayaprakas et al. (1996) em tilápias Mossambique e Becker et al. (1999) em híbridos de tilápia (*Oreochromis niloticus* x *Aureus niloticus*) e em híbridos de robalo-muge (*Morone saxatilis* male x *M. Chrysops* female) (Twibell e Brown, 2000) e em dourada negra (*Sparus macrocephalus*) (Ma et al., 2008).

Uma indicação da promoção do crescimento, embora não significativa, foi encontrada por Becker e Focken (1995) e Focken et al. (1997) na carpa comum. Por outro lado, nenhum efeito da suplementação com L-carnitina no crescimento foi observado por Dias et al. (2001), robalo europeu; por Osório et al. (2001a, b) em bagre-africano; por RODEHUTSCORD (1995) e Chatzifotis et al. (1997) em truta arco-íris, por Burtle e Liu (1994) em bagre-do-canal, por Gaylord e Gatlin (2000a, b) em striped bass híbrido; por Ji et al. (1996) em salmão do Atlântico, por Harpaz et al. (1999) no ciclídeos ornamentais (*Pelvicachromis pulcher*); Dzikowski et al. (2001) em peixes guppy (*Poecilia reticulata*) e por Schlechtriem et al. (2004) com a tilápia híbrida (*O. niloticus* x *O. aureus*). Tais variações nos resultados, referentes ao efeito da suplementação de L-carnitina na dieta, podem ser atribuídos a inúmeros fatores, como a idade do animal, a composição da dieta, ou mesmo aos requisitos da espécie de peixe estudada.

A L-carnitina está tão intimamente associada com o metabolismo da gordura, que muitos pesquisadores têm tentado estabelecer uma correlação entre níveis elevados de L-carnitina nas rações de peixes e metabolismo das gorduras (Kießling e Kießling, 1993, Burtle e Liu, 1994; Chatzifotis e col., 1995; Froyland e col., 1998).

A oxidação da gordura fornece a maior e mais rentável produção de energia efetiva por unidade de peso de dieta. A L-carnitina promove a oxidação da gordura e, portanto, supunha-se que a adição de L-carnitina na dieta de peixe pudesse resultar no menor gasto de proteína, devido ao maior nível de L-carnitina, e assim, levar a um melhor crescimento com rações que contenham menos proteínas. Na maioria dos casos, há resultados variados e apesar de níveis elevados de L-carnitina influenciando

alterações no metabolismo lipídico, este não resulta necessariamente em um melhor crescimento dos peixes.

Para evitar o acúmulo de lipídios, a suplementação de L-carnitina dietética pode ser usada para estimular a oxidação de ácidos graxos e para regular a lipólise, como descrito por Osório (2001) e Osório et al. (2003).

A aceleração do crescimento e redução da gordura corporal têm sido relatadas em um número de espécies de peixes criados com dietas suplementadas com L-carnitina: robalo europeu (Santulli e D'Amelio, 1986a; Santulli et al., 1988, 1990) e bagre-africano (Torreele et al., 1993; Ozorio et al. 2001b). No entanto, Burtle e Liu (1994) que estudaram os efeitos da suplementação de L-carnitina em um nível de 1000 mg / kg na dieta de alevinos de catfish em diferentes níveis de lisina, não mostraram nenhum efeito da L-carnitina no crescimento, mas a L-carnitina reduziu significativamente o músculo e os níveis de lipídios no fígado.

Ji et al. (1996) que estudaram os efeitos da suplementação de L-carnitina sobre o metabolismo da gordura no salmão do Atlântico demonstraram que os peixes alimentados com L-carnitina alteraram o metabolismo lipídico. Além disso, altos níveis de incorporação de metionina foram observados também, mas não foram observadas alterações no crescimento dos peixes. Os autores concluem que seus resultados mostraram aumento da síntese de proteína no mecanismo da L-carnitina com alterações induzidas na gliconeogênese e o metabolismo do nitrogênio.

O custo é outra questão importante a ser considerada. Mesmo nos casos em que a L-carnitina tem mostrado efeitos positivos, os níveis exigidos desta substância tornam a ração bastante cara, não justificando o crescimento adicional obtido. Becker et al. (1999) abordaram este ponto afirmando que o melhor crescimento foi obtido com a adição de 150 mg L-carnitina /kg de dieta para alevinos de tilápia híbrida e que também apresentou a melhor conversão alimentar e uma redução de 13% no consumo de ração. Assim, de acordo com seus cálculos, apesar do preço elevado da L-carnitina, o agricultor ainda se beneficiará de suplementar a dieta com L-carnitina.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRAWALL, V. P., SASTRY, K. V., KAUSHAB, S. K. S. Digestive enzymes of three teleost fishes. *Acta Physiol. Hung.*, v.46, p.93-98, 1975.
- ALARCÓN, F. J.; MARTINEZ, T. L. F.; DIAZ, M.; MOYANO, F. J. Characterization of digestive carbohydrase activity in the gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Hydrobiologia*, Dordrecht, v. 445, n. 1/3, p. 199-204, 2001.
- AL-HUSSIANI, A. H. On the functional morphology of the alimentary tract of some fish in relation to differences in their feeding habits. I. Anatomy and histology. *Quart. J. Microsc. Sci.*, v.90, p.109-139, 1949
- BAANANTE, I.V.; GARCIA de FRUTOS, P.; BONAMUSA, L.; FERNANDEZ, F. Regulation of fish glycolysis-gluconeogenesis: role of fructose 2,6 P<sub>2</sub> and PFK-2. *Comp. Biochem. Physiol.* 100B: p. 11-17, 1991.
- BAIRAGI, A.; SARKAR GOSH, K.; SEM, S. K.; RAY, A. K. Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts. *Aquaculture International*, Dordrecht, v. 10, n. 2, p. 109-121, 2002.
- BALDISSEROTTO, B. *Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura*. Santa Maria: Ed. da UFSM, p. 92, 2002.
- BAUMGARTEN, M.G.Z., ROCHA, J.M.B., NIENCHESKI, L.F.H. *Manual de análises em oceanografia química*. Editora da Fundação Universidade do Rio Grande. Rio Grande do Sul. Brasil. 132 p., 1996.
- BERNFELD, P. amylases  $\alpha$  e  $\beta$ : colorimetric assay methods In: *Methods in Enzymology*. Ed. Colowich, S.P. & Kaplan. New York: Academic Press Inc. 10: p. 149-158, 1995.
- BOCK, C.L.; PEZZATO, L.E.; CANTELMO, O.A.; BARROS, M.M. Fitase em rações para tilápia-do-nilo na fase de crescimento. *Rev. Bras. Zootec.*, v.36, n.5, p.1455-1461, 2007 (supl.)
- BORLONGAN, I. G. Studies on the digestive lipases of milkfish, *Chanos chanos*. *Aquaculture*, 89: p. 315-325, 1990.
- BOUNAMUSA, L.; GÁRCIA de FRUTOS, P.; FERNÁNDEZ, F.; BAANANTE, I.V.. Enzymes as indicators of nutritional contritional conditions in the gilthesd sea bream fish, *Sparus aurata*. In: *International Aquaculture Conference. Aquaculture Europe' 89*. p.37, 1989.

- BOUNAMUSA, L.; GÁRCIA de FRUTOS, P.; FERNÁNDEZ, F.; BAANANTE, I.V.. Nutritional effects on key glycolytic-gluconeogenic enzyme activities and metabolite levels in the liver of the teleost fish *Sparus aurata*. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*. 1 (2): p. 113 – 125, 1992.
- CAMPESTRINI E.; Da Silva, V.T.M.; Appelt, M.D. Utilização De Enzimas Na Alimentação Animal. *Revista Eletrônica Nutritime*, v.2, nº6, p.254-267, novembro/dezembro 2005.
- CARVALHO FILHO, J. Tambaqui, O Rei de Rondônia. *Panorama da aquicultura*. Vol. 17, nº 104, pg. 56 – 60, nov. - dez. 2007.
- CASERAS, A.; METON, I.; FERNANDEZ, F.; BAANANTE, I.V.. Glucokinase gene expression is nutritionally regulated in the liver of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Biochim. Biophys. Acta*. 1493: p. 135 – 141, 2000.
- CASTAGNOLLI, N. *Piscicultura de água doce*. Jaboticabal: FUNEP, 1992. 189 p.
- CAVERO, B.A.S. Uso de enzimas digestivas exógenas na alimentação de juvenis de Pirarucu, *Arapaima gigas* (Cuvier, 1829). 2004. 79p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus.
- CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A. Enzimas. In: \_\_\_\_\_. *Bioquímica Ilustrada*. 2. ed. São Paulo: Artes médicas, p. 53-66, 1989.
- CHESLEY, L. The concentration of proteases, amylase and lipase in certain marine fishes. *Bio. Bull.*, v.66, p.133-144, 1934.
- COCKSON, A.; BOURNE, D. Enzymes in the digestive tract of two species of euryhaline fish. *Comparative Biochemistry Physiology*, Oxford, v. 41, n. 4, p. 715-718, 1972.
- COWAN, W. D. Understanding the manufacturing, distribution, application, and overall, quality of enzymes in poultry feeds. *Journal of Applied Poultry Research*, Athens, v. 2, n. 1, p. 93-9, 1993.
- COWEY, C.B.; DE LA HIGUERA, M.; SDRON, J.W.. The effect of dietary composition and of insulin on gluconeogenesis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Br. J. Nutr.* Vol 38: p. 385 – 395, 1979.
- DE SILVA, S. S.; ANDERSON, T. A. *Fish nutrition in aquaculture*. London: Chapman & Hall, 1995. 319 p.
- ESPINÓS, F.J.; TOMAS, A.; PEREZ, L.M.; BALASCH, S.; JOVER, M. Growth of dentex fingerlings (*Dentex dentex*) fed diets containing different levels of protein and lipid. *Aquaculture*, v.218, p.479- 490, 2003.

- FANG, L. S.; CHIOU, S. F. Effect of salinity on the activities of digestive proteases from the tilapia fish, *Oreochromis niloticus* in different culture environments. *Comparative Biochemistry physiology*, Oxford, v. 93, n. 2, p. 439-443, 1989.
- FERNANDEZ, I.; MOYANO, F. J.; DIAZ, M.; MARTINEZ, T. Characterization of alpha-amylase activity in five species of Mediterranean sparid fishes (sparidae, Teleostei). *Journal of Experimental Marine Biology Ecology*, Amsterdam, v. 262, n. 1, p. 1-12, July 2001.
- FIREMAN, F. A. T.; FIREMANN, A. K. B. A. T. Enzimas na alimentação de suínos. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 28, n. 1, p. 173-178, jan./mar. 1998.
- FOX, P. F. *Food enzymology*. London: Elsevier Applied Science, 378 p. 1991.
- FURUYA, W.M.; GONÇALVES, G.S.; FURUYA, V.R.B. et al. Fitase na alimentação da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Desempenho e digestibilidade. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.30, n.3, p.924-929, 2001.
- FURUYA, W.M.; SANTOS, V.G.; BOTARO, D.; HAYASHI, C.; SILVA, L.C.R. Níveis de proteína e fitase em rações de terminação para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Arq. ciên. vet. zool. UNIPAR*, 8(1): p.11-17, 2005
- GALVÃO, M.S.N.; YAMANAKA, N.; FENERICH-VERANI, N., PIMENTEL, C.M.M.. estudos preliminares sobre enzimas digestivas proteolíticas da tainha *Mugil platanus* Gunter, 1980 (Osteichthyes, Mugilidae) durante as fases larval e juvenil. *Bol. Inst. Pesca*. 24: p.101-110, 1997.
- GARCIA, E.R.M. Utilização de enzimas em rações com farelo de soja e soja integral extrusada para frangos de corte. Maringá, UEM, 1998, 59p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, UEM, 1998.
- GARCIA, O. Enzimas: recentes contribuições para a sua aplicação em nutrição animal. In: *Encontro de Nutrição Animal*, 3., 1997, São Paulo-SP. Anais... São Paulo-SP, 1997. p. 1-9.
- GAWLICKA, A.; PARENT, B.; HORN, H.M.; ROSS, N. OPSTAD, I.; TORRISSEN, J.. Activity of digestive enzymes in yolk-sac larvae of atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): indication of readiness for first feeding. *Aquaculture*. v. 184: p. 303 – 314, 2000.
- GHOSH, K.; SEN, S. K.; RAY, A. K. Characterization of Bacilli isolated from the gut of rohu *Labeo rohita*, fingerlings and its significance in digestion. *Journal of Applied Aquaculture*, Oxford, v. 12, n. 1, p. 33-42, 2002.
- GIACOMETTI, R. A. Valores energéticos e digestibilidade de nutrientes do farelo de arroz integral suplementado com complexos enzimáticos para frangos de corte. 2002. 54 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG

- GIODA, C.R.; SCHETINGER, M.R.;SALBEGO, J.; VIEIRA, V. Digestive enzyme activity in freshwater fishes with different feeding habits. *Aquaculture Nutrition*, in press, 2005.
- GLASS, H.J.; MACDONALD, N.L.; MORAN, R.M.; STARK, JR.. digestion of protein in different marine species. *Comp. Biochem. Physiol.* 91B (3): p. 607 – 611, 1989.
- GONÇALVES, G.S.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; KLEEMAN, G.K.; ROCHA, D.F. Efeitos da Suplementação de Fitase sobre a Disponibilidade Aparente de Mg, Ca, Zn, Cu, Mn e Fe em Alimentos Vegetais para a Tilápia-do-Nilo. *Rev. Bras. Zootec.*, v.34, n.6, p.2155-2163, 2005 (supl.)
- GRAHAM, H.; INBORR, J. Enzymes in monogastric feeding. *Agro-Ind. Hitech*, v. 2, 1991.
- HANSEN, G. H.; STROM, E.; OLAFSEN, J. A. Effect of different holding regimes on the intestinal microflora of herring (*Clupea harengus*) larvae. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 58, n. 2, p. 461-470, Feb. 1992.
- HARRIS, H. The human alkaline phosphatases: what we know and what we don't know. *Clinnical Chimica Acta*, v. 186, p. 133-150, 1989.
- HENN, J. D. Aditivos enzimáticos em dietas de suínos e aves. Seminário apresentado na disciplina Bioquímica do Tecido Animal do Programa de Pósgraduação em Ciências Veterinárias da UFRGS, 2002.
- HEPHER, B. *Nutrition of pond fishes*. Cambridge: Cambridge University Press, 1988. 388 p.
- HIDALGO, F.; ALLIOT, E. La digestión en los peces. In: ESPINOSA DE LOS MONTEROS, J.; LABARTA, U. (Ed.). *Nutrición en acuicultura I*. Madrid: plan de formación de técnicos superiores en acuicultura. Madrid, p. 85-107, 1987.
- HOFER, R. AND STURMBAUER, C. Inhibiton of trout and carp alpha-amylase by weat. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 48, n. 3/4, p. 277-283, 1985.
- HORN, M. H. Feeding and digestion. In: EVANS, D. H. (Ed.). *The Physiology of Fishes*. New York: CRC Press LLC, p. 54-55, 1989.
- HUMMEL, B.C.W.. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin and thrombin. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37 (12): p. 1393 – 1399, 1959.
- HUSS, H.H. *El pescado fresco: su calidad y cambios de calidad*. Roma, Colección FAO: Pesca, n.29, 132p., 1988.
- INBORR, J.; GRAHAM,H.; NISSINEN, V. Selección, producción, estabilización y control de calidade de las enzimas alimentarias. In: SEMINARIO SOBRE EL

- EMPLEO DE ENZIMAS EM LA NUTRICION ANIMAL, 1991, Madrid. Anais. . . Madrid, p. 1-5, 1991.
- JACKSON, L. S.; LI, M. H.; ROBINSON, E. H. Use of microbial phytase in channel catfish *Ictalurus punctatus* diets to improve utilization phytate phosphorus. Journal of the world aquaculture society, v. 7, n. 3, p. 309-313, 1996.
- JOBLING, M. Environmental biology of fishes. New York: Chapman & Hall, 1995. 455 p.
- KESHAVARZ, K. Por que "es necesario emplear la fitasa en la dieta de las ponedoras? Indústria Avícola, v.46, n.10, p.13- 14, 1999.
- KORNEGAY, E.T. Feeding to reduce nutrient excretion: effects of phytase on phosphorus and other nutrients. Biotechnology in the Feed Industry, v. único, p.461-489, 1999.
- KROGDAHL, A.; HEMRE, G. I.; MOMMSEN, T. P. Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. Aquaculture Nutrition, Oxford, v. 11, n. 2, p. 103-122, Apr. 2005.
- KUBARIK, J. Tilapia on highly flexible diets. Feed International, v.6, p.16-18, 1997.
- LANARI, D.; D'AGARO, E.; TURRI, C. Use of nonlinear regression to evaluate the effects of phytase enzyme treatment of plant protein diets of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture, v.161, n.345-356, 1998.
- LESEL, R.; FROMAGEOT, C.; LESEL, M. Cellulose digestibility in grass carp *Ctenopharyngodon idella* and in goldfish *Carassius auratus*. Aquaculture, Amsterdam, v. 54, n. 1/2, p. 11-17, May 1986.
- LOVELL, T. Nutrition and Feeding of Fish. Chapman & Hall, New York, 260p., 1989.
- MENEZES, A. Aqüicultura na pratica: peixes, camarões, ostras, mexilhões e sururus. Espírito Santo: Hoper Editora, 2005. 107 p.
- METÓN, I. Regulacion nutricional de enzimas clave en la glucolisis-gluconeogenesis: expresión del gen 6-PF 2-K/FRU 2,6-P2ASA en hígado de *Sparus aurata*. 1996. (tesis doctorado) Universidad de Barcelona – Facultad de Farmacia. – 179p.
- METON, I.; EGEE, M.; BAANANTE, I.V. New insights into regulation of hepatic glucose metabolism in fish. Recent. Res. Devel. Biochem. 4: p. 125-149, 2003.
- MOON, T.W.. Glucose intolerance in teleost fish: fact or fiction? Comp. Biochem. Physiol., Part b Biochem. Mol. Biol. 129: p. 243 – 249, 2001.

- MOON, T.W.; FOSTER, G.D.. Tissue carbohydrate metabolism, gluconeogenesis and hormonal and environmental influences. In: Hochachka, T.P. (Eds), *Metabolic Biochemistry*. Elsevier, Amsterdam, pp. 64-100, 1995.
- MORAES, G. and BIDINOTTO, P.M.. Induced changes in the amylohydrolitic profile of the gut of *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1885) fed different levels of soluble carbohydrate: its corelations with metabolic aspects. *Revista de ictiologia*. 8 (1/2): p. 47 – 51, 2000.
- MORA-JAÍMES, G.; BÁCENA-GAMA, R.; MENDOZAMARTÍNEZ, G.D.; GONZÁLES-MUÑOZ, S.S.; HERRERAHARO, J.G. Respuesta productiva y fermentación ruminal en borregos alimentados con grano de sorgo tratado con amilasas. *Agrociencia*, v.36, p.31-39, 2002.
- MORIARTY, D. J. W. The physiology of digestion of blue-green algae in the cichlid fish, *Tilapia nilotica*. *Journal Zoology*, London, v. 171, n. 1, p. 25-39, 1973.
- MUKHOPADHYAY, P. K. Studies on the enzymatic activities related to varied pattern of diets in the breathing catfish, *Clarias batrachus* (Linn.). *Hidrobiologia*, v.52, p.235-237, 1977.
- NAGASE, G. Contribution to the physiology of digestion in *Tilapia mossambica* (PETERS): digestive enzymes and effect on their activity. *Z. Vgl. Physiol.*, v.49, p.270-284, 1964.
- NEWGARD, C.B.; HIRSCH, L.J.; FOSTER, D.W.; McGARRY, J.D. 1983. Studies on the mechanism by which exogenous glucose is converted into liver glycogen in rat. A direct or an indirect pathway? *J. Biol. Chem.* 258: p. 8046-8052.
- NOLAN, K.B.; DUFAFIN. P.A. Effects of phytase on mineral bioavailability, in vitro studies on Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> and Zn<sup>2+</sup> (also Cd<sup>2+</sup>) solubility in the presence of phytase. *Journal Science Food Agriculture*, v.40, p.79-85, 1987.
- NUNES, É.S.S.; CAVERO, B.A.S.; PEREIRA-FILHO, M.; ROUBACH, R. Enzimas digestivas exógenas na alimentação de juvenis de tambaqui. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.41, n.1, p.139-143, jan. 2006
- PELLETIER, D.; DUTIL, J.D.; BLIER, P.; GUDERLEY, H.. Relation between growth rate and metabolic organization of white muscle, liver and digestive tract in cod, *Gadus morhua* *Journal of Comparative Physiology B*. 164: p.179-190, 1994.
- PENZ JÚNIOR, A. M. Enzimas em rações para aves e suínos. In: REUNIÃO Anual Da Sociedade Brasileira De Zootecnia, 35., 1998, Botucatu-SP. Anais... Botucatu-SP, 1998. p. 165-178.
- PERES, H.; GONÇALVES, P.; OLIVA-TELES, A.. A glucose tolerance in gilthead seabream *Sparus aurata* and Euro seabass *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*. 179: p. 415 – 423, 1999.

- PILKIS, S.J.; CLAUS, T.H. Hepatic gluconeogenesis/glycolysis: regulation and structure/function relationships of substrate cycle enzymes. *Annual Review of Nutrition*. 11: p. 465 – 515, 1991.
- PIZZOLANTE, C.C. Estabilidade da fitase e sua utilização na alimentação de frango de corte. Lavras: Universidade Estadual de Lavras, 2000. 117p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual de Lavras, 2000.
- PROENÇA, C.E.M.; BITTENCOURT, P.R.L. Manual de piscicultura tropical. 1ª ed. Brasília. Ed. IBAMA. p. 64, 2004.
- REIMER, G. Studies on the enzymatic activities in the gastrointestinal of the Brycon metanoptoris. *J. Fish Biol.*, v.21, p.637-642, 1982.
- RICKER, W. E. Methods for assessment of fish production in fresh waters. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1968. 313p.
- SABAPATHY, D.; TEO, L. H. A quantitative study of some digestive enzymes in the rabbitfish, *Siganus canaliculatus* and the sea bass, *Lates calcarifer*. *Journal of Fish Biology*, London, v. 42, n. 4, p. 595-602, Apr. 1993.
- SAHA, A. K.; RAY, A. K. Cellulase activity in rohu fingerlings. *Aquaculture International*, Dordrecht, v. 6, n. 4, p. 281-291, Aug. 1998.
- SAHA, S.; ROY, R. N.; SEN, S. K.; RAY, A. K. Characterization of cellulose producing bacteria from the digestive tract of tilapia, *Oreochromis mossambica* (Peters) and grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes). *Aquaculture Research*, Amsterdam, v. 37, n. 1, p. 1-9, 2006.
- SEIXAS FILHO, J.T.; BRÁS, J.M.; GOMIDE, A.T.M.; OLIVEIRA, M.G.A.; DONZELE, J.L.; MENIN, E. Anatomia funcional e morfometria dos intestinos e dos cecos pilóricos do Teleostei (Pisces) de água doce *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.29, p.313-324, 2000
- SILVA, D.J. *Análise de Alimentos (Métodos químicos e biológicos)*. Viçosa: Editora UFV, 165p., 1990.
- SMITH, L. S. Digestive functions in teleost fish. In: HALVER, J. E. (Ed.). *Fish nutrition*. 2. ed. London: Academic Press, p. 332-423, 1989.
- SOTO-SALANOVA, M.F., et al. Uso de enzimas em dietas de milho e soja para frangos de corte. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1996, Curitiba. Anais... Curitiba: FACTA, 1996, p71-76.
- STEVENS, C. E. and HUME, I. D. *Comparative physiology of the vertebrate digestive system*. 2. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1995.

- STEVENS, C. E. Comparative physiology of the vertebrate digestive system. Cambridge: Cambridge University Press, 1988.
- STOREBAKKEN, K. D.; SHEARER, K. D.; ROEM, A. J. Availability of protein, phosphorus and other elements in fish meal, soy protein concentrate and phytase treated soy protein based diets to Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture*, v. 161, n. 1-4, p. 365-379, 1998.
- STROM, E.; OLAFSEN, J. A. The indigenous microflora of wildcaptured cod in net-pen rearing. In: *Microbiology of Poecilotherms*. 1990.
- SUGITA, H.; TOKUYARNA, K.; DEGUCHI, Y. The intestinal microflora of carp *Cyprinus carpio*, grass carp *Ctenophmyngodon idella* and tilapia *Sarotherodon niloticus*. *Bulletin Japanese Society Scientific Fisheries*, Tokyo, v. 51, n. 8, p. 1325-1329, 1985.
- TENGJAROENKUL, B.; SMITH, B. J.; CACECI, T.; SMITH, S. A. Distribution of intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 182, n. 3/4, p. 317-327, Feb. 2000.
- TONIOLO, C.F.C. Estudo dos padrões de digestão enzimática e perfil metabólico em tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818), alimentados com diferentes teores de proteína e carboidratos em regime de confinamento. 2001. 115p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- TORRIISSEN, K.R.; LIED, E.; ESPE, M. Differences in digestion and absorption dietary protein in Atlantic Salmom (*Salmo salar*) with genetically different trypsin isozymes. *Journal of Fish Biology*, v.45(6): p. 1087 – 1104, 1994.
- UGOLEV, A. M.; KUZ'MINA, V. V. Fish enterocyte hydrosases. Nutrition adaptations. *Comparative Biochemistry Physiology A*, Oxford, v. 107, n. 1, p. 187-193, Jan. 1994.
- VANBELLE, M. Les enzymes probiotiques: Curso Superior de Nutrición y Alimentación Animal, Instituto Agronômico Mediterraneo de Zaragoza, 1992. (Documento interno).
- VIELMA, J.; LALL, S.P.; KOSKELA, J. et al. Effects of dietary phytase and cholecalciferol on phosphorus bioavailability in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, v.63, n.3/4, p.309-323, 1998.
- VONK, H. J. The specificity and collaboration of digestive enzymes in metazoa. *Biol. Rev.*, v.12, p.245-284, 1937.
- WALTER, H.E.. Proteinases: methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrates. In: Bergmeyer, H.U. (Ed). *Methods of enzymatic analysis*. Verlag Chemie, Weinheim. 5: p. 270 – 277, 1984.

WATANABE, T. Fish Nutrition. In: Fish Nutrition and Mariculture. JICA textbook. The general aquaculture course. Ed. Watanabe. T. Department of Aquatic Biosciences. Tokyo University of Fisheries. 338p. 1988.

ZANELLA, I. Suplementação enzimática em dietas a base de milho e sojas processadas sobre a digestibilidade de nutrientes e desempenho de frangos de corte. 1998. 179 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal.

ZANELLA, I.; SOKOMURA. J.A.; PIZAURO. K.Z. et al. Efeito da adição de enzimas exógenas na dieta sobre a atividade enzimática da amilase e tripsina pancreática em frangos de corte. Anais... Conferencia APINCO 99 de Ciência e Tecnologia Avícolas, 92 p.45, São Paulo/SP, 1999.

## **6 - CAPITULO I: SUPLEMENTAÇÃO ALIMENTAR DE FITASE PARA ALEVINOS DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*).**

### **6.1 - RESUMO:**

O presente experimento teve como objetivo levantar informações sobre os efeitos da suplementação de fitase exógena sobre o desenvolvimento e a composição bromatológica de alevinos de tambaqui (*Colossoma macropomum*). O experimento foi realizado no setor de Aqüicultura da Universidade estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), no período de 23 março a 13 de maio, totalizando 50 dias de duração. Neste experimento foram utilizados 130 alevinos de tambaqui, distribuídos aleatoriamente, em 20 caixas plásticas de 50L, com peso médio inicial de  $3,12 \pm 0,05$ g e comprimento total médio inicial de  $5,36 \pm 0,06$ cm. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com cinco tratamentos (0,0; 700; 1400; 2100; 2800 UFA/Kg de ração), com quatro repetições cada tratamento. Foram utilizadas dietas isocalóricas 3100Kcal de ED e isoprotéicas com 28% de PB. Após a peletização a ração foi seca à sombra e passada em peneira para padronização no tamanho dos peletes. Durante o período experimental, os peixes receberam ração à vontade em quatro tratos diários. O oxigênio dissolvido e temperatura foram mensurados diariamente, após a última refeição do dia, através de oxímetro e termômetro, digitais. Os valores de pH e condutividade foram mensurados por meio de peagâmetro e condutivímetro a cada 2 dias. As variáveis utilizadas para quantificar o desenvolvimento

dos alevinos foram: Peso, comprimento total, comprimento padrão, altura, consumo de ração, ganho de peso, conversão alimentar, taxa de crescimento específico, de desenvolvimento específico e de eficiência protéica. Para comparação das características bromatológicas das carcaças foram abatidos 30 peixes no início e três de cada unidade experimental ao final do período experimental. Para quantificar as características (proteína bruta, extrato etéreo, cinzas, extrato não nitrogenado e matéria seca) foi utilizada a metodologia de Silva e Queiroz (2003). Para análise estatística foi realizada a análise de regressão polinomial, como auxílio do programa SAEG. Foi identificado o efeito significativo da suplementação de fitase sobre as variáveis relacionadas ao desenvolvimento, tendo como dose máxima estimada 2303,83 UFA/Kg de ração para taxa de desenvolvimento específico e dose mínima estimada em 1540,62 para o consumo de ração. No entanto, quanto à análise bromatológica da carcaça, não foi observado nenhum resultado significativo da suplementação sobre as variáveis estudadas. Dessa forma, concluiu-se que a suplementação de fitase para alevinos de tambaqui, possibilita o melhor desenvolvimento, porém não afeta a composição bromatológica da carcaça.

**Palavras-Chave:** Fitato, energia, fósforo

## **6.2- ABSTRACT:**

This experiment aimed at collecting information on the effects phytase supplementation on the development and composition of the tambaqui fingerlings (*Colossoma macropomum*). The experiment was carried out at the aquaculture of Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) in the period of March 23<sup>rd</sup> to May 13<sup>th</sup>, a total of 50 days duration. This study used 130 fingerlings of tambaqui randomized into 20 plastic boxes of 50 L with initial average weight of  $3.12 \pm 0.05$  g and total length averaging  $5.36 \pm 0.06$  cm. The experimental design was completely randomized with five treatments (0.0, 700, 1400, 2800 ufa/kg diet) with four replicates each treatment. The experiment diets were isocaloric isonitrogenous 3100 kcal/kg with 28% CP. After pelleting the feed was dried in the shade and passed through sieve to standardize the size of the pellets. During the experimental period, the fish were fed freely four times a day.

dissolved oxygen and temperature were measured daily, after the last meal of the day through digital oximeter and thermometer. the ph and conductivity were measured by ph meter and conductivimeter every two days. the variables used to quantify the development of the juveniles were: weight, total length, standard length, height, feed intake, weight gain, feed conversion, specific growth rate, development of the specific and protein efficiency. to compare the qualitative characteristics of 30 fish carcasses were killed and three at the beginning of each experimental to the end. to quantify the characteristics (crude protein, ether extract, ash, nitrogen, and non-dm) methodology was used by sivia and queiroz (2003). statistical analysis was performed polynomial regression analysis, as an aid program saeg. identified was the significant effect of phytase supplementation on variables related to development, with estimated maximum dose 2303.83 ufa/kg daily rate development of specific and minimal dose estimated at 1540.62 for the intake. however as the chemical analyses of the carcass, there were no significant outcome of supplementation on variables related to development with estimated maximum dose 2303.83 ufa/kg feed rate variables. thus we conclude that the addition of phytase to fingerlings of tambaqui, enables better development but does not affect the chemical composition of the carcass.

**6.2.1 - Key Word:** Chemical composition, nativ fish, supplementation

### **6.3 – INTRODUÇÃO**

Dentre os setores de produção animal, a aquicultura é o que se expande com maior rapidez (SILVA et al, 2007). Trata-se de um segmento importante na produção de alimento humano, devido a algumas características do produto produzido nesse segmento como: o alto valor protéico, o baixo valor calórico e por ser uma excelente fonte de vitaminas entre outros.

Devido a esses fatores diversas técnicas têm sido estudadas com objetivo de alimentar a eficiência da produção no Brasil. Pois o país apresenta várias características favoráveis, tais como: clima, potencial hidrológico, espécies com potencial zootécnico

devido ao hábito alimentar e à aceitação no mercado, grande produtor de matéria-prima para rações e também um dos maiores produtores no mercado agroindustrial.

Mesmo com tantos fatores positivos a produção de peixes, a utilização de alimentos com baixa eficiência ainda causa transtornos à produção brasileira, pois a alimentação dos peixes gera um custo que varia de 60 a 80% da produção. Melhorias na eficiência da utilização dos nutrientes resultam em economias significativas, tornando importante o conhecimento da disponibilidade dos nutrientes nas formulações de rações para produção de dietas de baixo custo.

Entre os nutrientes que compõem as rações, a proteína é um dos mais problemáticos, devido à forma como o peixe a utiliza. Normalmente a fonte de proteína em rações para peixes é proveniente da soja e da farinha de peixe, ainda que seja de elevado custo, baixa padronização de nutrientes e excesso de minerais (Furuya et al., 2001).

Devido ao elevado valor nutritivo e pela disponibilidade, o farelo de soja é um dos principais alimentos utilizados como fonte protéica de origem vegetal na formulação de ração para peixes (SILVA et al, 2005), substituindo por várias vezes a farinha de peixe. Porém, esse ingrediente possui alguns fatores antinutricionais, destacando-se o fitato, que pode afetar negativamente o desempenho dos peixes.

De acordo com LEHNINGER et al. (1993), a maioria do fósforo nos grãos de cereais está na forma do complexo orgânico fitato. Devido ao grupo ortofosfato do fitato ser altamente ionizado, este se complexa com uma variedade de cátions (Ca, Fe, Zn, Mn) e com o grupo amina de alguns aminoácidos, tornando-se indisponível para alimentação de peixes e demais animais monogástricos, pela ausência da enzima fitase.

O fósforo é um elemento mineral que atua desempenhando diversas funções vitais no organismo animal, relacionado com o metabolismo energético e de aminoácidos, transporte de ácidos graxos, síntese de fosfolípídeos e de proteínas, além do metabolismo celular. É um nutriente essencial, e a sua deficiência acarreta redução na taxa de crescimento, na eficiência alimentar e na mineralização óssea (Furuya et al., 2001).

Nos peixes, aproximadamente 85 a 90% do fósforo estão presente nos ossos e escamas (Lovell, 1988). A deficiência de fósforo pode resultar na redução do apetite, retardo no crescimento e anemia hipocrômica microcítica. Além disso, pode causar deformidade nas vértebras e hipodensidade de minerais nas vértebras pela baixa mineralização (Helland et al., 2006).

A fitase pode melhorar o desempenho, a digestibilidade e a disponibilidade dos nutrientes da dieta, além de reduzir a excreção de fósforo. Assim, a utilização de dietas suplementadas com fitase tem-se mostrado cada vez mais importante, uma vez que favorece a criação de peixes com redução do impacto ambiental (SOUZA, 2008).

Esse trabalho tem o objetivo de fornecer mais informações sobre efeitos que a suplementação alimentar pode causar sobre o desenvolvimento e sobre a composição bromatológica das caracaças dos alevinos de tambaqui (*Colossoama macropomum*).

#### **6.4 - MATERIAL E MÉTODOS**

O presente experimento foi realizado no Brasil, estado do Rio de Janeiro, na cidade de Campos dos Goytacazes, na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, no setor de aquicultura. O período de duração do experimento foi de 23 de março a 13 de maio de 2010, totalizando 50 dias de experimentação.

Para realização do experimento foram utilizados 130 alevinos com peso inicial médio de  $3,12 \pm 0,05$ g e comprimento total médio inicial de  $5,36 \pm 0,06$ . Os alevinos foram distribuídos aleatoriamente, em 20 aquários experimentais de volume útil 40L. O sistema de circulação da água nos aquários experimentais era do tipo circulação fechado, equipado com filtro biológico, aquecedores com termostatos para manutenção da temperatura d'água.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado (DIC), com cinco tratamentos, quatro repetições, totalizando 20 unidades experimentais. Cada unidade experimental foi composta por um aquário com 5 alevinos de tambaqui, com entrada e saída d'água independentes.

Os tratamentos foram constituídos de cinco dietas isoprotéicas e isocalóricas (28% de proteína e 3100kcal de ED/kg de dieta), suplementadas com quatro níveis de fitase exógena (700; 1400; 2100 e 2800 UFA/kg de dieta) mais uma sem suplementação. A adição de fitase às dietas, foi realizada durante a mistura dos ingredientes, para fabricação das dietas.

**Tabela 1:** Composição percentual da ração experimental:

<b>Ingredientes</b>	<b>Proteína Bruta 28%</b>
Farinha de peixe	32,28
Farelo de soja	13,83
Fubá de milho	46,65
Farelo de trigo	2,00
Óleo de soja	5,03
Mistura vitamínica <sup>1</sup>	0,10
Mistura mineral <sup>2</sup>	0,10
BHT	0,01
<b>Total (%)</b>	<b>100</b>
<b>Composição Nutricional</b>	
Proteína Bruta (%) <sup>4</sup>	27,98
Extrato etéreo (%) <sup>4</sup>	9,37
Matéria mineral (%) <sup>4</sup>	9,31
Energia metabolizável (kcal EM/kg) <sup>4</sup>	3.101
Cálcio (%) <sup>3</sup>	2,04
Fósforo (%) <sup>3</sup>	1,03
Metionina (%) <sup>3</sup>	0,71
Metionina + Cistina (%) <sup>3</sup>	1,09
Lisina (%) <sup>3</sup>	2,02
Triptofano (%) <sup>3</sup>	0,36
Arginina (%) <sup>3</sup>	1,87

1 – Rovimix Aves inicial (Roche): níveis de garantia por Kg de produto: Vitaminas A – 12.000 UI; D3 – 2.500 UI; E – 30.000 UI; B1 – 2,0 G; B6 – 3,0 G; Pantoténico de Cálcio – 10,0 g; Cloreto de Colina – 100,0 g; BHT – 5,0 g; Vitamina B12 – 15.000 mcg; Olaquinox – 5,0 g; Selênio – 0,120 g.

2 – Rologomix Aves (Roche): Níveis de garantia por Kg do produto: Manganês – 160,0; Ferro – 100,0 g; Zinco – 100,0 g; Cobre – 20,0 g; Cobalto – 2,0 g; Iodo – 2,0 g.

3 – Calculada a partir de dados tabelados (ROSTAGNO et al., 1983)

4 – Calculado a partir de dados tabelados (VIDAL JUNIOR, 1995)

O produto utilizado para suplementação de fitase (Natuphos® 5000, BASF, Germany) apresenta concentração de 10.000 uf/g do produto. Ressalta-se que uma unidade de fitase ativa (uf) é a quantidade de fitase que libera fósforo inorgânico do fitato

de sódio (5,1 mM) a uma taxa de 1  $\mu\text{mol}/\text{min}$  em pH 5,5 e temperatura de 37°C (KORNEGAY, 1999).

O período pré-experimental, para a adaptação dos juvenis às condições de laboratório, foi de cinco dias, durante os quais todos receberam a ração experimental sem adição de fitase, fornecidas quatro vezes por dia.

Para a confecção das rações os alimentos foram finalmente moídos em moinho de martelo, com peneira de 0,5mm, depois colocados em misturador industrial tipo Y. A mistura então foi umedecida e peletizada. Após a peletização a ração foi seca à sombra e passada em peneira para padronização no tamanho dos peletes, os quais foram adequados ao tamanho da boca dos peixes. As rações foram acondicionadas em embalagens plásticas, identificadas e armazenadas sob refrigeração.

O oxigênio dissolvido e temperatura foram mensurados diariamente, após a última alimentação do dia, através de oxímetro e termômetro, digitais. Os valores de pH foram mensurados com auxílio de um peagâmetro digital com duas casas decimais e a condutividade com condutivímetro digital, ambos a cada dois dias.

A sobrevivência foi acompanhada diariamente e a cada dez dias três alevinos foram pesados e medidos individualmente para avaliação do peso, para adequação das taxas alimentares, até completar os 50 dias de experimentação. O desempenho produtivo foi avaliado pela conversão alimentar aparente, taxa de eficiência protéica, taxa de crescimento específico.

**Conversão alimentar aparente** = (peso final (g) – peso inicial (g))/alimento consumido no período (g);

**Taxa de eficiência protéica** = (peso final (g) – peso inicial (g))/total de proteína ingerida (g);

**Taxa de crescimento específico** =  $[(\log \text{ peso final} - \log \text{ peso inicial})/n^{\circ} \text{ de dias experimentais}] \times 100$ .

**Taxa de desenvolvimento específico** =  $[(\log \text{ CT final} - \log \text{ CT inicial})/n^{\circ} \text{ de dias experimentais}] \times 100$ .

No início do experimento trinta peixes foram anestesiados e posteriormente abatidos. Ao final do período experimental os peixes que compunham cada repetição também foram anestesiados e abatidos para posterior evisceração e escamação. Esses peixes e os peixes abatidos no início do experimento foram moídos e posteriormente secos em estufa de 55°C com ventilação forçada.

Após secos, as massas devidamente identificadas foram moídas em moinho de bola e posteriormente utilizadas para realização das análises bromatológicas segundo método de Silva e Queiroz (2003) adaptado às condições do Laboratório de Zootecnia e Nutrição Animal da UENF.

Para cada variável mensurada no experimento foi realizada uma ANOVA geral, onde observou-se a existência ou não do efeito do tratamento sobre as variáveis mensuradas. Após observação positiva foi feita a análise de regressão polinomial de cada variável. Todos os cálculos foram realizados com auxílio do programa estatístico SAEG, v 9.0.

## 6.5. - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores dos parâmetros relacionados à qualidade d'água, ao oxigênio dissolvido (O<sub>2</sub>D), temperatura (T<sup>°</sup>C) da água, pH e condutividade elétrica (COND.), mensurados durante o período experimental, estão na tabela 2.

**Tabela 2:** Parâmetros de qualidade de água do experimento com suplementação de fitase.

Parâmetros	Tratamentos (UAF/Kg de ração)				
	0	700	1400	2100	2800
pH	5,9	5,8	5,7	5,8	5,8
Oxigênio dissolvido (mg/L)	5,5	5,8	5,2	5,9	5,4
Temperatura (°C)	28,6	28,8	28,7	29,0	28,8
Condutividade (µS/cm)	466	403	435	436	448

O teor médio de oxigênio dissolvido, durante o período experimental, foi de 5,75mg/L. Segundo ARAUJO-LIMA e GOMES (2005), o tambaqui tem seu crescimento

normal em níveis de oxigênio acima de 3mg/L, portanto os valores obtidos no experimento descrito, atendem a exigência do tambaqui. Da mesma forma, as médias dos valores de pH mantiveram-se dentro dos padrões recomendados por ARIDE *et al.*, (2004), entre 5,0 e 6,5. A temperatura dos aquários experimentais mostrou-se adequada para espécies de clima tropical, apresentando média de 28,0°C durante as aferições.

Com relação aos resultados obtidos com a biometria realizada no presente trabalho, foram observadas maiores respostas quanto às variáveis, ao comprimento total (CT), comprimento padrão (CP) e peso final, nos tratamentos com suplementação de fitase (tabela 3).

**Tabela 3:** Variáveis primárias relacionadas ao desenvolvimento dos alevinos de tambaqui (*Colossoma macropomum*) submetidos a diferentes níveis de UFA/Kg de ração.

Variáveis	Tratamentos (UFA/Kg de ração)				
	0	700	1400	2100	2800
P (g)	18,04	20,39	21,77	21,77	21,84
CT (cm)	9,45	9,82	9,96	9,92	9,99
CP (cm)	7,90	8,21 <sup>b</sup>	8,36	8,29	8,39
H (cm)	4,19	4,32	4,45	4,53	4,47
Sobre. (%)	100	100	100	100	100

Para variável sobrevivência do presente trabalho não foi observada influência dos tratamentos sobre a resposta, demonstrando com isso que a suplementação de fitase não possui efeito significativo sobre essa variável, assim como foi percebido por Rocha *et al.*, (2007), o mesmo foi observado por Furuya *et al.* (2001, 2004 e 2008) para juvenis de tilápias do Nilo, para tilapia do Nilo em fase de reversão e para juvenis de pacu respectivamente, além desses trabalhos também não foi observado efeito da suplementação de fitase sobre a sobrevivência no trabalho realizado por Vielma *et al.* (2000) para truta arco-iris e segundo Bock *et al.* (2007), apesar de ocorrer mortes nos tratamentos com suplementação de 1000 e 1500UF/Kg de ração, essas não foram provenientes da suplementação e sim de confrontos agonísticos entre os peixes.

Pode-se observar na tabela 3 que as melhores respostas estão sempre acima da dose de 1400 de UFA/Kg de ração (T3). O que pode ser confirmado através da análise de regressão realizada com intuito de estimar a dose de fitase que dará melhor resposta em desenvolvimento. No caso do presente trabalho para as variáveis citadas na tabela 3 as equações que representaram melhor estas variáveis apresentaram o comportamento quadrático ( $P < 0,05$ ), sendo elas descritas da seguinte forma: Peso Final ( $Y = 18,114 + 0,00371102x - 0,000000867070x^2$ ,  $R^2_{ajust.} = 0,97$ ); CT ( $Y = 9,4764 + 0,000490857x - 0,000000114286x^2$ ,  $R^2_{ajust.} = 0,87$ ), CP ( $Y = 7,92086 + 0,000415408x - 0,0000000940233x^2$ ,  $R^2_{ajust.} = 0,84$ ) e H ( $Y = 4,17464 + 0,000288163x - 0,0000000641399x^2$ ,  $R^2_{ajust.} = 0,95$ ).

Para as quadro variáveis citadas acima, foram estimados os pontos de máxima de cada parábola descrita pela regressão. Sendo que todos apresentaram valores superiores de suplementação com 2000 UFA (2139,98, 2147,49, 2209,07 e 2246,36 UFA/Kg de ração) para as seguintes variáveis, peso final, comprimento total, comprimento padrão e altura, respectivamente.

Estes valores de suplementação estimados no presente trabalho são superiores aos valores encontrados por Furuya et al., (2001), que trabalhando com alevinos de tilápia (*Oreochromis niloticus*) estimaram uma dose máxima de 700 UFA/kg de ração, assim como Rocha et al., (2007), que trabalhando com alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) concluíram que a suplementação com fitase até 1500UAF/Kg de ração apresenta efeito positivo sobre variáveis de desenvolvimento e Furuya et al., (2008) que trabalharam com alevinos de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e encontraram valores máximos para o desenvolvimento de 433,33UF/Kg de ração.

Estes resultados mostram que a suplementação de fitase em dietas para peixes em fase inicial de vida pode variar bastante entre espécies diferentes. No entanto, a variação encontrada no presente trabalho, que estima uma dose superior às doses apresentadas em outros trabalhos, pode ser explicada devido à utilização de ração peletizada e a base da ração não ser especificamente vegetal.

De acordo com Silva et al., (2005), a suplementação de fitase não afeta a digestibilidade dos nutrientes da dieta fornecida a alevinos de tilápia nilótica, assim como Sajjadi e Carter (2004) também não verificaram efeitos positivos da

suplementação de fitase sobre a digestibilidade da dieta fornecida para salmão do atlântico. Quando uma ração passa pelo processo de extrusão, as moléculas dos nutrientes desta ração expandem, principalmente o amido, devido à alta pressão combinada com a elevada temperatura e umidade, resultando em uma ração com melhor digestibilidade. Uma vez que a ração utilizada no presente trabalho não foi extruzada e sim peletizada, provavelmente não melhorou nem alterou a digestibilidade dessa ração e conseqüentemente causou uma maior necessidade de suplementação com fitase, para se obter bons resultados.

Por outro lado, pode-se sugerir que a base da ração também possa ter influenciado a resposta da suplementação no presente trabalho, pois segundo Bock et al., (2007) em estudos com alevinos de tilápia do Nilo perceberam que dietas com baixos níveis de fósforo disponível restringiram a utilização da proteína dietética. Como a ração base para o presente trabalho não tinha uma base vegetal e sim uma base mista, a mesma provavelmente apresenta uma pequena porcentagem de fósforo disponível, conseqüentemente diminuindo a utilização da proteína dietética e causando um aumento na suplementação de fitase para melhorar a utilização do fósforo não disponível (fitato) e conseqüentemente melhorar o desempenho dos alevinos de tambaqui.

As variáveis relacionadas ao desenvolvimento dos alevinos de tambaqui como, taxa de crescimento específico, ganho de peso, conversão alimentar aparente, taxa de eficiência protéica e outras, utilizadas no presente trabalho estão na tabela 4. As variáveis apresentaram um comportamento quadrático, determinado através da análise de regressão polinomial.

**Tabela 4:** Valores das variáveis secundárias: consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar aparente (CAA), taxa de crescimento específico (TCE), taxa de desenvolvimento específico (TDE) e taxa de eficiência protéica (TEP) obtidas no presente experimento.

Variáveis	Tratamentos (UAF/Kg de ração)				
	0	700	1400	2100	2800
GP	14,88	17,29	18,65	18,60	18,75
CR	15,22	17,17	19,58	19,19	20,12
CAA	1,02	1,00	1,06	1,03	1,08
TCE	3,49	3,77	3,88	3,86	3,91
TDE	1,14	1,21	1,24	1,22	1,25
TEP	3,49	3,60	3,40	3,47	3,33

Para as variáveis, consumo de ração (CR), conversão alimentar aparente (CAA) e taxa de eficiência protéica (TEP), os valores de suplementação de fitase na ração que correspondem de forma mais eficiente são; 1540,62, 1796,90 e 1760,35, respectivamente.

Esses valores foram estimados através das seguintes equações: para o CR  $Y=26,0098-0,00526505X+0,00000170874X^2$  ( $R^2_{ajust.}= 0,63$ ), para a CAA  $Y=1,74383-0,000652834X+0,000000181656X^2$  ( $R^2_{ajust.}= 0,60$ ) e para taxa de eficiência protéica  $Y=2,17359+0,00109536X-0,00000031112X^2$  ( $R^2_{ajust.}= 0,55$ ).

Souza (2008) observou uma piora na conversão alimentar dos peixes que receberam dietas com fitase em comparação aos que consumiram dieta com fosfato bicálcico, o mesmo foi observado para a truta arco-íris (Vielma et al., 2004) e para a tilápia do Nilo quando as dietas foram suplementadas com fitase em níveis de 500 a 1250 UFA/kg de dieta (Liebert & Portz, 2005). Estudo com a carpa comum, realizado por Nwanna & Schwarz (2007), indicou que a fitase estimula o apetite dos peixes levando à piora na conversão alimentar.

Contradizendo estes resultados, o presente trabalho através da coleta de dados e da análise estatística estimou que a suplementação de fitase melhorou significativamente a conversão alimentar atingindo seu ápice na dose de 1796,90 UFA/Kg de ração, o mesmo foi observado para outras espécies em outros trabalhos como o de Jackson et al. (1996) com juvenis de catfish, por Furuya et al. (2001) para a

tilápia do Nilo, por Debnath et al. (2005a) com alevinos de *P. pangasius* e por Baruah et al. (2007) com o *L. rohita*.

Esses valores de suplementação de fitase estimados para essas três variáveis (CR, CAA e TEP) estão bem próximos ao valor utilizado pelo tratamento 3 (1400UAF/Kg de ração). Também estão bem próximos aos valores encontrados por Bock et al., (2007), que obtiveram maior valor absoluto em resposta ao tratamento com 1500 UF/Kg de ração para alevinos de tilápia, dentre os tratamentos que continham a suplementação dessa enzima. Entretanto, Furuya et al. (2008) observaram efeito quadrático dos níveis de fitase sobre a taxa de eficiência protéica, em que o maior valor da variável foi estimado com 425 UF/kg de ração bem inferior ao obtido no presente trabalho.

A maior retenção de proteína pelos peixes que receberam as rações com maior inclusão de fitase provavelmente está relacionada com a maior disponibilidade do fósforo (YOO *et al.*, 2005) nas rações que foram suplementadas com fitase. Segundo Denstadli et al. (2007), a fitase aumenta a disponibilidade do fósforo na matéria-prima utilizada para formulação de rações e conseqüentemente a digestibilidade da proteína. A fitase ainda aumenta a digestibilidade dos aminoácidos (SUGIURA *et al.*, 2001), e alguns minerais zinco, magnésio, cobre e ferro (MASUMOTO *et al.*, 2001).

Pode-se observar valores próximos entre a resposta da TEP para o tratamento sem suplementação e os tratamentos acima de 1400 UFA/Kg de ração. Vários estudos relatam a eficiência da suplementação de enzimas ou complexos enzimáticos sobre o desenvolvimento dos peixes como Vielma et al., 1998; Furuya et al., 2004b; Gonçalves et al., 2004; Sajjadi & Carter, 2004; Bock et al., 2006; Furuya et al., 2006; Silva et al., 2007b; Rocha et al., 2008). Entretanto, existem trabalhos que mostram que nem sempre a suplementação com fitase ou complexo enzimático afeta o desenvolvimento ou digestibilidade de alguns ingredientes que fazem parte da composição de uma ração.

Exemplo disso é o trabalho de Gonsalves et al. (2007), onde os autores observaram que a suplementação ou não de fitase na ração em nível de 1000 e 2000 UF/kg de ração não afetou a digestibilidade do farelo de trigo e do farelo de algodão. Furuya et al. (2005) também não observaram diferença entre a suplementação ou não

de fitase para as variáveis taxa de eficiência protéica, peso final, conversão alimentar e sobrevivência utilizando ração com 25% de proteína bruta e para variável rendimento de carcaça com ração contendo 28% de proteína bruta.

Além desses trabalhos mencionados acima existem outros como o de Signor et al. (2010) que concluem afirmando que a utilização de 0,066% de complexo enzimático que contém fitase, em dietas para juvenis de tilápia-do-nylo não interfere no desempenho dos peixes. Outro trabalho que não obteve diferença com a suplementação de fitase na ração para peixes foi o de Bock et al. (2007), onde os autores trabalharam com tilapias na fase de crescimento e não acharam diferença estatística para as variáveis CA e TEP quando suplementada com 1000, 1500 e 2000 uf/kg de ração.

Os menores valores observados em relação à taxa de eficiência protéica dos peixes alimentados sem suplementação ou com excesso de suplementação de fitase possivelmente estão associados à possível inibição da  $\beta$ -oxidação dos ácidos graxos, que resultou em menor utilização dos lipídios como fonte de energia, sendo utilizada a proteína como fonte alternativa de energia, o que reduziu a utilização da proteína (ROY e LALL, 2003). Por outro lado, a menor utilização da proteína pelos peixes que receberam dietas com altos valores de fitase na ração, pode estar relacionada com o maior valor de fósforo disponível, que pode ter inibido a utilização de minerais como: cálcio, zinco, magnésio e ferro (FURUYA et al. 2008).

Além da TEP, do CR e da CAA, outra variável que é afetada diretamente devido à utilização de proteína pelo peixe é o ganho de peso (GP), a taxa de crescimento específico (TCE) e a taxa de desenvolvimento específico (TDE). Essas variáveis demonstraram um comportamento quadrático com o máximo de resposta a suplementação com fitase, quando a dose de suplementação chega a 2145,77; 2170,67 e 2303,83 UFA/ Kg de ração, respectivamente.

Esses valores máximos foram estimados a partir das seguintes equações GP  $Y=14,9791+0,00371622X-0,000000865942X^2$  ( $R^2_{ajust.}= 0,96$ ); TCE  $Y= 3,50879+0,000375008X-0,000000181656X^2$  ( $R^2_{ajust.}= 0,90$ ) e para a TDE a equação foi  $Y= 1,14528+0,000086819X-0,000000188423X^2$  ( $R^2_{ajust.}= 0,81$ ) .

O comportamento quadrático das variáveis mencionadas acima está relacionado aos efeitos positivos e negativos que pode ter a suplementação de fitase quando é feita de forma excessiva. Esta pode afetar a digestibilidade da proteína e a disponibilidade de minerais, o que podem favorecer ou não a absorção intestinal (ROCHA et al. 2007).

Os resultados do presente experimento diferem dos observados por HUGUES & SOARES (1998), que avaliaram a suplementação de diferentes níveis de fitase (0, 800, 1.300 e 2.400FTU kg<sup>-1</sup> dieta) e fósforo inorgânico (K<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), não encontrando efeito dos níveis de fitase sobre o ganho de peso entre os tratamentos para o *striped bass* (*Morone saxatilis*).

Assim como Souza (2008) observou que o uso de dietas com fitase não afetou (P>0,05) o ganho de peso e a sobrevivência do matrinxã ao final do período experimental, estando de acordo com o observado para juvenis de salmão do Atlântico (Sajjadi & Carter, 2004; Denstadli et al., (2007), para juvenis de “Korean rock fish” *Sebastes schlegeli* (Yoo et al., 2005) e para juvenis de tilápia do Nilo (Furuya et al., 2006).

Entretanto, uma melhora no ganho de peso dos peixes que receberam dietas suplementadas com fitase foi relatada por Vielma et al. (2004) com truta-arco-íris, Furuya et al. (2001) com a tilápia do Nilo e Debnath et al. (2005a) com o *Pangasius pangasius*, Nwanna et al. (2007) com a carpa comum e Nwanna & Schwarz (2007) utilizaram, para a carpa comum, dieta sem fitase e com Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> x 2H<sub>2</sub>O como fonte de fósforo (controle positivo), e outra sem nenhuma fonte de fósforo inorgânico sem e com fitase (1000, 2000 e 4000 UFA/kg) e observaram que o ganho de peso dos peixes que receberam a dieta controle positivo foi superior que os demais tratamentos.

Ao contrario dessas respostas negativas a suplementação com fitase Jackson *et al.* (1996) concluíram que a utilização de 500 UFA/kg de ração foi suficiente para o máximo ganho de peso de juvenis de bagre-do-canal. Já para tilapia do Nilo, Furuya et al. (2001) observaram um melhor GP com níveis estimados de 890 UFA/kg de ração, valores bem abaixo do encontrado no presente trabalho. O que pode ser explicado devido ao nível de fósforo nas dietas testadas, os trabalhos mencionados anteriormente usaram ração formulada apenas com ingredientes de origem vegetal, tendo como base a proteína do farelo de soja, provavelmente a exigência de fósforo das espécies foi

alcançada e a ação da fitase potencializada devido à quantidade de fitato na ração e conseqüentemente trazendo o nível de suplementação bem abaixo do encontrado no presente trabalho.

Cerca de 67% do fósforo total presente nas sementes de oleaginosas, grãos de cereais e seus subprodutos encontra-se na forma de fitato, de baixa disponibilidade para os peixes (NRC, 1993). A adição de fitase resulta em aumento 58,82% na disponibilidade do fósforo do farelo de soja integral (SILVA et al, 2005).

Os efeitos positivos da suplementação de fitase sobre a utilização do fósforo fítico já foram demonstrados em estudos realizados com a truta arco-íris por Lanari et al. (1998) e Vielma et al. (2000). O aumento na disponibilidade do fósforo do farelo de canola suplementado com fitase também foi obtido por Richie e Brown (1996) e Forster (1999), em trabalho realizado com essa mesma espécie.

Já em trabalhos realizados por Rodehutschorde Pfeffer (1995), Lanari et al. (1998) com a truta arco-íris, os maiores valores de ganho de peso foram obtidos pelos peixes que consumiram ração com 1000 UFA/kg de ração. Outro trabalho realizado com truta arco-íris foi o de Vielma *et al.* (1998), em que observaram maior valor desta variável no tratamento que recebeu ração contendo 1500 UF/kg de dieta, sendo inferior também ao valor determinado pelo presente trabalho, porém bem mais próximo.

Já o valor estimado para suplementação de fitase para a variável GP, está próximo ao encontrado por Furuya et al. (2008), que observaram resposta linear a suplementação de fitase na ração para alevinos de pacu, com o maior valor de suplementação testado equivalente a 2000 UFA/Kg de ração, sobre o ganho de peso. Sendo uma resposta linear, pode-se esperar que a dose máxima para essa variável fique acima de 2000 UFA/Kg de ração. Além desses autores, outros como Biswas et al. (2007), que trabalharam com juvenis de red sea bream (*Pagrus major*), estimaram o valor de suplementação com fitase equivalente a 2000 UFA/Kg de ração, para a máxima resposta em ganho de peso e Portz & Liebert (2004) para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) que até o nível de 2000 UFA/Kg de ração, esses autores observaram aumento no GP, TCE, no fator de condição e na taxa de eficiência protéica.

A taxa de desenvolvimento específico (TDE) e a taxa de crescimento específico (TCE), são variáveis que demonstram como o animal evolui em comprimento e em peso

durante os dias do experimento, respectivamente. A TCE encontrada na tabela 3 difere dos resultados obtidos por Mendonça et al. (2009) , que também trabalharam com alevinos de tambaqui e encontraram valores ainda menores em relação à taxa de crescimento específica para os tratamentos com diferentes fotoperíodos (1,13; 1,26; 1,24 e 1,45). Porém, os animais desse trabalho não foram alimentados com ração balanceada para a espécie e nem suplementada com nenhum tipo de substância promotora de crescimento. Isso pode explicar os valores tão abaixo dos encontrados nesse presente trabalho.

Valores de TCE abaixo dos apresentados são descritos por Santos et al. (2010), que trabalharam com níveis de proteína após período de privação alimentar para alevinos de tambaqui e observaram que a medida que aumentava os níveis protéicos, maior era o valor da TCE, sendo a maior resposta com ração contendo 36% de proteína bruta. Valor este de proteína superior ao utilizado no presente trabalho (28% de proteína bruta).

Já, Signor et al. (2010) trabalharam com suplementação de complexo enzimático para juvenis de tilapia do Nilo com peso médio inicial de  $14,57 \pm 1,24$ g, que também continha enzima fitase, não observaram diferença significativa entre os valores de TCE obtidos com as suplementações.

Rocha et al. (2007) através de análise de regressão polinomial observaram efeito linear para a taxa de crescimento específico (TCE) dos alevinos de jundiá até o nível de 1.500 FTU/kg de ração. O aumento linear observado por Rocha et al. (2007) na TCE com o incremento dos níveis de fitase na dieta pode estar relacionado com os efeitos positivos da fitase sobre a digestibilidade protéica e a disponibilidade de minerais, favorecendo sua absorção intestinal. O mesmo foi observado por Portz & Liebert (2004) para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) até o nível de 2.000FTU/kg de ração.

O fósforo geralmente é o nutriente mais limitante em grãos de cereais usados na elaboração de dietas para peixes. É um nutriente essencial e sua deficiência leva a uma redução na taxa de crescimento, redução na eficiência alimentar, baixa mineralização óssea (Furuya et al., 2001a). A fitase é uma enzima endógena amplamente utilizada em rações para aves e suínos para aumentar a disponibilidade do fósforo. Além disso,

sua suplementação contribui para o aumento da disponibilidade dos aminoácidos e minerais como o cálcio, zinco, magnésio, cobre e ferro (Sugiura et al., 2001).

Vários estudos têm sido realizados para avaliar os efeitos da enzima fitase sobre o desempenho e a disponibilidade dos minerais, principalmente o fósforo. Os efeitos da suplementação de fitase sobre a digestibilidade da energia bruta e dos nutrientes foram demonstrados em trabalhos realizados com a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) por Lanari et al. (1998) e Forster (1999), com salmão do Atlântico (*Salmo salar*) por Sajjadi e Carter (2004), com “striped bass” (*Morone saxatilis*) por Papatryphon e Soares (2001) e com a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) por Furuya et al. (2001a).

Bock et al. (2007), trabalharam com níveis de suplementação variando de 1000 a 2000UF/kg na dieta da tilápia-do-nilo e não melhoraram o desempenho produtivo, apesar de reduzirem os níveis de fósforo nas fezes. Nwanna e Schwarz (2007) testaram a inclusão de três níveis de fitase (1000, 2000 e 4000UF/kg) na dieta da carpa comum e não observaram efeito sobre o desempenho. Esses autores sugeriram níveis maiores de fitase para uma possível melhora no desempenho produtivo.

A taxa de atividade de hidrólise da enzima na temperatura do presente trabalho pode ter influenciado a resposta da suplementação, uma vez que a temperatura manteve-se em 28°C. E a temperatura e o pH ideal para atividade de hidrólise da fitase é superior aos 30°C e 5,3, respectivamente (Sugiura et al., 2001).

Baruah et al. (2007) relataram que, em peixes carnívoros, o baixo pH estomacal facilita a ação de enzimas digestivas, inclusive a fitase. Em peixes onívoros, esse mecanismo é reduzido, devido ao valor do pH do estômago dessas espécies. Como alternativa, poderiam ser utilizados ácidos orgânicos ou acidificantes na dieta para melhorar a atividade enzimática (Li et al., 2008). Segundo Baruah et al. (2005), a adição de 3% de ácido cítrico e de 500UF/kg na dieta melhora a disponibilidade e a retenção óssea de minerais para juvenis de carpa indiana (*Labeo rohita*). Para Cao et al. (2008), o pré-tratamento da ração com 1000UF/kg pode aumentar a disponibilidade do fósforo de 1,5g/kg para 4,01g/kg em dietas à base de vegetais.

O pré-tratamento das dietas com fitase, ou a inclusão de ácidos orgânicos, pode ser uma alternativa para melhorar o efeito desta enzima em peixes onívoros (Rocha ET AL. 2010). É importante mencionar, também, que a ação e o resultado dos níveis de

fitase empregados estão relacionados com o valor biológico dos alimentos, a natureza e a quantidade de ácido fítico que estes possam conter (Gonçalves et al., 2004).

Além das questões relacionadas com o desenvolvimento dos juvenis alimentados com dietas suplementadas ou não com fitase existe ainda uma outra vertente relacionada ao efeito dessa enzima sobre as características bromatológicas da carcaça, o que diz respeito ao depósito de minerais e principalmente à gordura. O excesso de gordura na carcaça é, atualmente, uma característica indesejável, devendo manter-se em nível que não afete as características organolépticas da carne e auxilie na manutenção da sua qualidade durante o período de congelamento (MEURER et al., 2002). Além disso, a utilização de fitase melhora a digestibilidade dos aminoácidos (MCCAUIg et al., 1972) e aumenta a disponibilidade de diversos outros minerais (STOREBAKKEN et al., 1998).

Os resultados obtidos no presente estudo com relação às características bromatológicas dos juvenis de tambaqui suplementados ou não com a enzima fitase, estão na tabela 5.

**Tabela 5:** Composição bromatológica da carcaça de juvenis de tambaqui tratados com diferentes níveis de fitase na ração.

Variáveis	Tratamentos (UAF/Kg de ração)				
	0	700	1400	2100	2800
UR%	66,49	66,73	66,27	66,57	66,85
MS%	33,51	33,27	33,73	33,43	33,15
PB%	52,73	53,21	53,47	52,16	53,56
EE%	26,74	27,49	27,47	27,69	27,93
MM%	15,87	15,91	16,71	15,97	16,34
ENN%	4,67	3,39	2,35	4,18	2,16

A suplementação de fitase na ração não influenciou ( $P < 0,05$ ) os conteúdos de extrato etéreo da carcaça dos juvenis de tambaqui. Esses resultados encontrados no presente trabalho concordam também com os obtidos por Souza (2008) com piavuçu (*Leporinus macrocephalus*), Bock et al. (2007) e Silva et al. (2007) com juvenis de

tilapia do nilo (*Oreochromis niloticus*), com Yoo et al. (2005), Baruah et al. (2007); Biswas et al. (2007a) que não observaram efeito da fitase sobre a percentagem de extrato etéreo na carcaça de “Korean rock fish”, *L. rohita* e “Red seabream”, respectivamente.

Também concordam com Vielma et al. (2000), segundo os quais a adição de 1.000 UFA/Kg de ração não afetou o extrato etéreo corporal de trutas arco-íris (*O. mykiss*). E também dos resultados obtidos por Oliva-Teles et al. (1998), trabalho em que a suplementação de 1.000 e 2.000 UFA kg<sup>-1</sup> na dieta de juvenis de seabass (*Dicentrarchus labrax*) não resultou diferença significativa no extrato etéreo corporal. Sendo que o mesmo resultado foi observado por Furuya et al. (2008) para juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*).

Possivelmente, o estágio de desenvolvimento dos alevinos, no presente estudo, não possibilite a deposição de gordura na carcaça, já que a energia disponibilizada pela fitase pode ter sido gasta no metabolismo de formação dos tecidos estruturais.

O fato de não ter ocorrido menor deposição de gordura na carcaça em peixes alimentados com a ração sem fitase e com provável diminuição do nível de fósforo disponível, discorda dos resultados obtidos por Sakamoto e Yone (1978) com “red sea bream”, Eya e Lovell (1997) com o bagre-do-canal e Roy e Lall, (2003) com a truta arco-íris, que observaram maior teor de lipídios na carcaça de peixes alimentados com rações deficientes em fósforo. De acordo com esses autores, o maior teor de gordura em peixes alimentados com rações deficientes em fósforo está relacionado com a inibição do ciclo do ácido cítrico e acúmulo de acetil-CoA para a biossíntese de lipídios.

Porém, existem estudos que relatam o efeito da suplementação de fitase em dietas experimentais sobre os níveis de extrato etéreo da carcaça.

Como no trabalho de Souza (2008) com matrinxã, onde foi observado incremento ( $P < 0,05$ ) na percentagem de extrato etéreo nos peixes quando estes foram alimentados com dietas sem fosfato bicálcico, independente da presença da fitase ou não. Este comportamento pode estar relacionado com o fato de que a deficiência de fósforo nas dietas acelera a síntese de ácidos graxos, via citrato, a partir dos aminoácidos (Rodehutschord & Pfeffer, 1995).

Por outro lado, Vielma et al. (1998) observaram aumento de extrato etéreo corporal na truta arco-íris quando estas receberam dietas com 1500 UFA/kg. Estes resultados diferem dos obtidos por Denstadli et al. (2007), que relataram redução no extrato etéreo do salmão do Atlântico com o uso de fitase na dieta. Reduções nos níveis de extrato etéreo corporal também foram observadas por Biswas et al. (2007b), que utilizaram dietas com fitase para camarões.

Além desses outros trabalhos como o de Rocha et al. (2010) para alevinos de carpa húngara, Pezzato et al. (2006) e Furuya et al. (2008) também verificaram redução no teor de extrato etéreo na carcaça da tilápia do nilo em função de níveis crescentes de fósforo disponível na dieta. Zhang et al. (2006) também relataram redução linear da porção lipídica da carcaça de juvenis de seabass japonês (*Lateolabrax japonicus*), alimentados com níveis crescentes de fósforo na dieta. Silva et al. (2007) observaram efeito quadrático dos níveis de fitase sobre o extrato etéreo na carcaça da tilápia do nilo, e o efeito máximo foi atingido com 647UF/kg. Para alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*), níveis de 500 a 1500UF/kg reduziram linearmente a deposição de gordura corporal da carcaça (Rocha et al., 2007).

No caso desses trabalhos provavelmente a maior disponibilidade de fósforo favoreceu o metabolismo energético dos ácidos graxos ( $\beta$ -oxidação), pois esse mineral participa como constituinte da molécula de adenosina trifosfato (ATP).

Não se observou efeito da suplementação de fitase sobre a umidade da carcaça dos juvenis de tambaqui. Resultados semelhantes ao obtido neste estudo foram observados por Bock et al. (2007) e Silva et al. (2007) trabalhando com juvenis de tilápia do Nilo e Signor et al. (2010) trabalhando com alevinos de carpa húngara, Yoo et al. (2005) que forneceram dietas sem e com fitase (1000 e 2000 UFA/kg) para o "Korean rock fish" e não observaram efeitos da enzima sobre a umidade corporal dos juvenis.

Este mesmo efeito ainda foi observado por Denstadli et al. (2007) em estudos com salmão do Atlântico alimentados com dietas suplementadas com 2900 UFA/kg de ração. E resultados relatados por Forster et al. (1999), Weerd et al. (1999), e Biswas et al. (2007b) que não observaram efeito dos diferentes níveis de fitase sobre a porcentagem de umidade na carcaça da truta arco íris, bagre-africano *Clarias*

gariiepinus e “red sea bream” *Pagrus major*, respectivamente. Além dos relatos de Vielma et al. (2000) sobre truta Arco-Iris e por Baruah et al. (2007) com juvenis de *L. rohita*, que não observaram efeitos da suplementação de fitase na ração sobre a percentagem de umidade na carcaça.

Entretanto, Debnath et al (2005b) relataram aumento da proteína corporal do *P. pangasius* com a adição de fitase (150 a 2000 UFA/kg) nas dietas. A proteína corporal dos peixes que receberam a dieta com fosfato bicálcico não diferiu ( $P>0,05$ ) da dos peixes que receberam as dietas sem fitase e com 500 UFA/kg.

No presente estudo também não foi observado efeito significativo sobre a suplementação de fitase sobre a porcentagem de proteína bruta na carcaça. O que concorda com o observado por Weerd et al. (1999) com o catfish africano (*Clarias gariepinus*), Forster et al. (1999) com a truta arco-íris, Vielma et al. (2000), também com a truta arco-íris, Masumoto et al. (2001) com o “flounder japonês”, Sajjadi & Carter (2004) para o salmão do Atlântico, Liebert & Portz (2005) com a tilápia do Nilo, Yoo et al. (2005) com juvenis de “Korean rock fish”, Bock et al. (2007) para tilapia do nilo, Biswas et al. (2007a) com “Red seabream” *Pagrus major*, Denstadli et al. (2007) com o salmão do Atlântico, Souza (2008) com alevinos de matrinxã (*Brycon cephalus*) e alevinos de piavuçu (*Leporinus macrocephalus*) e Rocha et al. (2010) para alevinos de carpa húngara.

O efeito dos níveis de fitase sobre as características de carcaça de peixes provavelmente tenha maior relevância sobre a deposição mineral, em decorrência da maior disponibilidade de fósforo livre suplementar. Essa maior disponibilidade de fósforo relacionada à suplementação de fitase, pode causar um aumento dos níveis de minerais na carcaça. Segundo Zhang et al., (2006), a mineralização óssea é uma variável representativa do “status” de fósforo em peixes. Devido à importante função na formação da estrutura óssea, um aumento no teor de fósforo em rações de peixes resulta em aumento no conteúdo de fósforo nos ossos, levando a um concomitante aumento nos teores de diversos minerais nos ossos (ZHANG et al. 2006;).

Porém, no presente trabalho não foi observado efeito significativo da suplementação de fitase sobre porcentagem de matéria mineral da carcaça de juvenis de tambaqui. Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Rocha et al. (2007),

onde a variável matéria mineral não demonstrou ser afetada pelos níveis de fitase utilizados. O mesmo foi relatado por Vielma et al. (2000), que não observaram efeito sobre a porcentagem de matéria mineral à adição de 1.000 UFA/Kg de ração na dieta à base de farelo de soja para truta arco-íris. Concordam também com os resultados obtidos por Forster et al. (1999), que, avaliando a adição de diferentes níveis de fitase para truta arco-íris (0, 500, 1.500 e 4.500 UFA/Kg de ração), em dieta à base de farelo de canola, não observaram diferença na matéria mineral da carcaça.

Outros estudos que mostram não ter influência na suplementação de fitase sobre a porcentagem de matéria mineral foram o de Weerd et al., (1999), para catfish africano, Sajjadi & Carter (2004) com salmão do Atlântico, o de Debnath et al., (2005b), para *P. pangasius*, de Yoo et al. (2005) para o “Korean rock fish”, e Biswas et al. (2007a) para o “Red seabream”, Biswas et al., (2007b) para “red sea bream” e o de Souza (2008) com alevinos de matrinxã (*Brycon cephalus*).

Os peixes variam suas necessidades nutricionais de acordo com alguns fatores como: Espécies, época do ano e estádios de vida e sabe-se que a composição corporal em minerais e as exigências de fósforo variam com o aumento do peso dos peixes (RONSHOLDT, 1995; SHEARER, 1995), o que pode explicar a não influência da suplementação de fitase para os juvenis de tambaqui, uma vez que a suplementação pode ter sido alcançada ou não, com ou sem a suplementação de fitase.

Porém, segundo Furuya et al. (2008), os efeitos positivos da adição da fitase sobre o desempenho produtivo e retenção de minerais na carcaça possivelmente estão relacionados com a maior disponibilidade do fósforo, como foi demonstrado por Vielma et al. (1998), em estudo realizado com a truta arco-íris, que avaliaram rações sem e com 1500 UF/kg de ração para a truta arco-íris (*Oncorhynchus mikiss*) e observaram que a utilização de fitase elevou a disponibilidade do fósforo da ração sem fitase de 44,5% para 69,7%.

Os efeitos da suplementação de fitase nas dietas experimentais sobre a porcentagem de matéria mineral na carcaça dos peixes também foram observados por Sugiura et al. (2001), que observaram aumento na porcentagem de cinzas da carcaça de truta arco-íris, por Souza (2008) que percebeu diferença significativa para os níveis

de cinzas na carcaça de alevinos de piavuçu e para Liebert & Portz (2005) com juvenis de tilápia do Nilo.

Devido ao fósforo ser um importante mineral constituinte do tecido esquelético (ROY & LALL, 2003), sua deficiência pode reduzir o crescimento e a deposição de minerais nos ossos (LALL, 2002) e pode causar deformidades ósseas em diversas regiões do corpo dos peixes (SUGIURA et al., 2001; CHENG et al., 2005).

Durante todo o período experimental, bem como durante o abate e coleta de material, não foram observados sinais externos de deformidades ósseas nos peixes. Este fato pode estar relacionado com uma baixa exigência de fósforo pelos peixes, ou até mesmo com o tempo a que os peixes foram submetidos a dietas experimentais.

Segundo Hughes & Soares Jr. (1998), o fornecimento de dietas deficientes em fósforo por dez semanas provoca escoliose em juvenis de *Morone saxatilis*. De acordo com Yang et al. (2006), a ocorrência de anormalidades externas, em peixes alimentados com dietas com deficiência de fósforo, está relacionada com a duração do experimento. Para Roy & Lall (2003), a ocorrência ou não de deformidades ósseas, além de estar relacionada com a duração do experimento, pode ser influenciada por diversos fatores relacionados com a água, o peixe e a dieta utilizada.

## 6.6 - CONCLUSÃO

A fitase influenciou o desenvolvimento dos juvenis de tambaqui, entretanto não demonstrou efeitos sobre as características bromatológicas da carcaça dos mesmos nesse trabalho.

## 6.7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAUJO-LIMA, C.A.R.M., Gomes, L.C. (2005). Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: Baldisserotto, B. Gomes, L.C. (ed) *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. 1ª ed. Santa Maria. Ed. da UFSM. p. 468
- ARIDE, P.H.R., ROUBACH, R. E VAL, A.L. (2004), Water pH in central Amazon and its importance for tambaqui (*Colossoma macropomum*) culture. *World Aquaculture*. Baton Rouge , v.35, p.24-27.

- BARUAH, K.; PAL, A.K.; SAHU, N.P. et al. Dietary protein level, microbial phytase, citric acid and their interactions on bone mineralization of *Labeo rohita* (Hamilton) juveniles. *Aquaculture Research*, v.36, n.8, p803-812, 2005.
- BARUAH, K.; SUHU, N.P.; PAL, A.K. et al. Dietary microbial phytase and citric acid synergistically enhances nutrient digestibility and growth performance of *Labeo rohita* (Hamilton) juveniles at sub-optimal protein level, *Aquaculture Research*, v.38, n.2, p.109-120, 2007.
- BISWAS, A.K.; KAKU, H.; JI, S.C. et al. Use of soyben meal and phytase for partial replacement of fish meal in the diet of red sea bream, *Pagrus major*. *Aquaculture*. v.267, n.1-4, p.284-291, 2007a.
- BISWAS, A.k.; kAkU, H.; JI, S.g.; SEOkA, M.; TAKII, K. 2007 Use of meat and phytase for partial replacement of fsh meal in the diet of red sea bream, *Pagrus major*. *Aquaculture*, 265: 253-260.
- BISWAS, P.; PAL, A.K.; SAHU, N.P. et al. Lysine and/or phytase supplementation in the diet of *Penaeus monodon* (Fabricius) juveniles: Effect on growth, body composition and lipid profile. *Aquaculture*. v.265, n.1-4, p. 253-260, 2007b.
- BOCK, C.L.; PEZZATO, L.E.; CANTELMO, O.A. et al. Fitase e digestibilidade aparente de nutrientes de rações por tilápias do Nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.35, n.5, p.2197-2202, 2006.
- BOCK, C.L., PEZZATO, L.E., CANTELMO, O.A., BARROS, M.M. (2007). Fitase em rações para tilápia-do-nilo na fase de crescimento. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.36, n.5, p.1455-1461,
- C.B. Rocha, J.L.F. Pouey, S.R.N. Piedras, D.B.S. Enke, J.M. Fernandes, (2010). Fitase na dieta de alevinos de carpa húngara: desempenho e características de carcaça. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.62, n.6, p.1462-1468.
- CAO, L.; YANG, Y.; WANG, W.M. (2008). Effects of pretreatment with microbial phytase on phosphorous utilization and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquacult. Nutrit.*, v.14, p.99-109.
- CHENG, A.C.; WU, J.D.; YANG, S.D. et al. Dietary phosphorus requeriment of juvenile Malabar grouper (*Epinephelus malabaricus*). *Journal of Fish Society Taiwan*, v.32, p.41-52, 2005.

- DEBNATH, D.; PAL, A.K.; SAHU, N.P. et al. Effect of dietary microbial phytase supplementation on growth and nutrient digestibility of *Pangasius pangasius* (Hamilton) fingerlings. *Aquaculture Research*, v.36, n.2, p.180-187, 2005a.
- DEBNATH, D.; SAHU, N.P.; PAL, A.K. et al. Mineral status of *Pangasius pangasius* (Hamilton) fingerling in relation to supplemental phytase: absorption, whole-body and bone mineral content. *Aquaculture Research*, v.36, n.4, p.326-335, 2005b.
- DENSTADLI, V.; STOREBAKKEN, T.; SVIHUS, B.; SKREDE, A. 2007 A comparison of online phytase pre-treatment of vegetable feed ingredients and phytase coating in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) reared in cold water. *Aquaculture, Volume 269, Issues 1-4, Pages 414-426*.
- EYA, J.C.; LOVELL, R.T. (1997) Available phosphorus requirements channel catfish (*Ictalurus punctatus*) diets in ponds of food-size fed practical. *Aquaculture*, v.154, p.283-291.
- FORSTER, I., (1999). A note on the method of calculating digestibility coefficients of nutrients provided by single ingredients to feeds of aquatic animals. *Aquacult. Nutr.*, Oxford, v. 5, p. 143-145,.
- FORSTER, I.; HIGGS, D.A.; DOSANJH, B.S. Potential for dietary phytase to improve the nutritive value of canola protein concentrate and decrease phosphorus output in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) held in 11°C fresh water. *Aquaculture*, v.179, n.1-4, p.109-125, 1999.
- FURUYA, W.M.; SANTOS, V.G.; BOTARO, D. et al. (2005). Níveis de proteína e fitase em rações de terminação para a tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). *Arq. Cien. Vet. Zool. Unipar*, v.8, p.11-17.
- FURUYA, W.M.; BOTARO, D.; SILVA, L.C.R. da et al. (2006) Fitase em dietas para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (175 a 327 g). *Archivos de Zootecnia*, v.55, n.210, p.161-170.
- FURUYA, W.M.; GONÇALVES, G.S.; FURUYA, V.R.B.; HAYASHI, C. (2001) Fitase na Alimentação da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.): Desempenho e Digestibilidade. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 30: 924-929.
- FURUYA, W.M.; MICHELATO M.; SILVA L C.R.; SANTOS L.D.; SILVA, T.S.C.; SCHAMBER, C.R.; VIDAL, L.V.O.; FURUYA, V. R.B. (2008). Fitase em rações para Juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *B. Inst. Pesca*, São Paulo, 34(4): 489 – 496.

- FURUYA, W.M.; NEVES, P.R.; SILVA, L.C.R. et al. Fitase na alimentação da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o período de reversão de sexo. *Acta Scientiarum*, v.26, n.3, p.299-303, 2004b.
- GONÇALVES, G.S.; PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M. (2004). Digestibilidade aparente e suplementação de fitase em alimentos vegetais para tilápia-do-nilo. *Acta Sci. Anim. Sci.*, v.26, p.313-321.
- GONÇALVES, G.S.; PEZZATO, L.E.; PADILHA, P. et al. (2007) Disponibilidade aparente do fósforo em alimentos vegetais e suplementação da enzima fitase para tilápia-do-nilo. *Rev. Bras. Zootec.*, v.36, p.1473-1480.
- HELLAND, S.; DENSTADLI, V.; WITTEN, P.E.; et al. Hyperdense vertebrae and mineral content in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed diets with graded levels of phytic acid. *Aquaculture*, v.261, n.2, p.603-614, 2006.
- HUGHES K.P.; SOARES JR., J.H. (1998) Efficacy of phytase on phosphorus utilization in practical diets fed to striped bass *Morone saxatilis*. *Aquaculture Nutrition*, v.4, p.133-140.
- HUGHES, K.P., SOARES JR, J.H. Efficacy of phytase on phosphorus utilization in practical diets fed to striped bass *Morone saxatilis*. *Aquaculture Nutrition*, v.4, p.133-140, 1998.
- JACKSON, L.S., LI, M.H., ROBINSON, E.H. 1996. Use of microbial phytase in channel catfish *Ictalurus punctatus* diets to improve utilization phytate phosphorus. *J. World Aquacult. Soc.*, 27(3):309-313.
- KORNEGAY, E.T. (1999) Feeding to reduce nutrient excretion: effects of phytase on phosphorus and other nutrients. *Biotechnology in the Feed Industry*, v. único, p.461-489.
- LALL, S.P. The minerals, In: HALVER, J. E.; HARDY, R. W. *Fish Nutrition*, 3<sup>rd</sup> ed. San Diego: Academic Press, 2002. p.260-308.
- LANARI, D.; D'AGARO, E.; TURRI, C. 1998 Use of nonlinear regression to evaluate the effects of phytase enzyme treatment of plant protein diets of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 161: 345-356.
- LEHNINGER, A. L. *Princípios de Bioquímica*. São Paulo: Sarvier, 1993, 725p.

- LI, J.S.; LI, J.L, WU, T.T.( 2008) Effects of non-starch polysaccharides enzyme, phytase and citric acid on activities of endogenous digestive enzymes of tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*). *Aquacult. Nutr.*, v.15, p.415-420.
- LIEBERT, F.; PORTZ, L. Nutrient utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed plant based low phosphorus diets supplemented with graded levels of different sources of microbial phytase. *Aquaculture*, v.248, n.1-4, p.111-119, 2005.
- LOVELL, T. (1988) *Nutrition and Feeding of fish*. Auburn: Auburn University,
- MASUMOTO, T.; TAMURA, B.; SHIMENO, S. 2001 Effects of phytase on bioavailability of phosphorus in soybean meal-based diets for Japanese common carp *Paralichthys olivaceus*. *Fisheries Science*, 67: 1075-1080.
- Mendonça, P. P.; Ferreira, R. A.; Vidal Junior, M. V.; Andrade, D. R.; Santos, M. V. B.; Ferreira, A. V.; Rezende, F. P. (2009). Influência do fotoperíodo no desenvolvimento de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) *Archivos de Zootecnia*, vol. 58, núm. 223, septiembre, pp. 323-331.
- MEURER, F. et al. Lipídeos na alimentação de alevinos revertidos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.2, p.566-573, 2002.
- NRC-National Research Council - *Nutritional Requirements of fishes*. Washington: Academic Press. 1993.
- NWANNA, L.C.; SCHWARZ, F. Effect of supplementation with phytase on growth, phosphorus digestibility and bone mineralization of common carp (*Cyprinus carpio* L.) *Aquaculture Research*, v.38, n.10, p.1037-1044, 2007.
- OLIVIA-TELES, A.; PEREIRA, J.P.; GOUVEIA, A. et al. Utilization of diets supplemented with microbial phytase by seabass. *Aquatic Living Resources*, v.11, n.4, p.225-259, 1998.
- PAPATRYPHON, E.; SOARES, J.H. (2001) The effect of phytase on apparent digestibility of four practical plant feedstuffs fed to striped bass *Morone saxatilis*. *Aquacult. Nutr.*, Oxford, v. 7, p. 161-167.
- PEZZATO, L.E.; ROSA, M.J.S.; BARROS, M.M. et al. (2006) Exigência em fósforo disponível para alevinos de tilápia-do-nilo. *Cienc. Rural*, v.36, p.1600-1605.
- PORTZ, L.; LIEBERT, F. Growth, nutrient utilization and parameters of mineral metabolism in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) fed plant-based

- diets with graded levels of microbial phytase. *Jornal Animal Physiology and Animal Nutrition*, v.88, p.311-320, 2004.
- RICHIE, M.; BROWN, P.B. (1996) Availability of phosphorus from feedstuffs to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 142, n.34, p. 269-282.
- Rocha, C.B., Pouey, J.L.O., Enke, D.B.S., Xavier, E.G., Almeida, D.B. (2007) Suplementação de fitase microbiana na dieta de alevinos de jundiá: efeito sobre o desempenho produtivo e as características de carcaça. *Ciência Rural*, v.37, n.6, nov-dez,
- ROCHA, C.B.; POUHEY, J.L.O.F.; LOPES, P.R.S. et al. Suplementação da enzima fitase e o desempenho e retenção mineral em juvenis de jundia (*Rhamdia quelen*). *Boletim do Instituto de Pesca*, v.34, n.1, p.153-159, 2008.
- ROCHA, C.B., POUHEY, J.L.F., PIEDRAS, S.R.N., ENKE, D.B.S., FERNANDES J.M. (2010). Fitase na dieta de alevinos de carpa húngara: desempenho e características de carcaça. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.62, n.6, p.1462-1468,
- RODEHUTSCORD M.; PFEFFER, E. (1995) Effects of supplemental microbial phytase on phosphorus digestibility and utilization in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Water Science & Technology*, v.31, n.10, p.143-147.
- RONSHOLDT, B. (1995) Effect of fish size, age and feed composition on body composition and phosphorus content of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Water Science and Technology*, 31: 137-141.
- ROY, P.K.; LALL, S.P. Dietary phosphorus requirement of juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.). *Aquaculture*, v.221, n.1-4, p.451-468, 2003.
- SAJJADI, M.; CARTER, C.G. Dietary phytase supplementation and the utilization of phosphorus by Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed a canola-meal-based diet. *Aquaculture*, v.240, n.1-4, p.417-431, 2004.
- SAKAMOTO, S.; YONE, Y. (1978) Effect of dietary phosphorus level on chemical composition of red sea bream. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*. 44: 227-229.
- Sandra Regina de Souza (2008). FITASE EM DIETAS PARA MATRINXÃ *Brycon cephalus* E PIAVUÇU *Leporinus macrocephalus*. Tese doutorado. Universidade estadual de Maringá – PR. P.74

- SANTOS, L., PEREIRA FILHO, M., SOBREIRA C., ITUASSÚ D., FONSECA F.A.L., (2010). Exigência protéica de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) após privação alimentar. *Acta amazônica*, vol. 40(3) p.597 – 604.
- SHEARER, k.D. 1995 The use of factorial modeling to determine the dietary requirements for essential elements in fishes. *Aquaculture*, 133: 57-72.
- Signor, A.A., Boscolo, W.R., Bittencourt, F., Feiden, A., Gonçalves, G.S., Freitas, J.M.A. (2010). Desempenho de juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com rações contendo complexo enzimático. *Revista Brasileira Zootecnia*. v.39, n.5, p.977-983.
- SILVA, J.A.M.; FIALHO, M.P; CAVERO, B.A.S. et al. Digestibilidade aparente de nutrientes e energia de ração suplementada com enzimas exógenas para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier, 1818). *Acta Amazônica*, v.37, n.1, p.157-164, 2007a.
- SILVA, T.S.C.; FURUYA, W.M.; SANTOS, L.D. et al. Fitase líquida em dieta extrusada para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Acta Scientiarum*, v.29, n.4, p.449-455, 2007b.
- SILVA, T.S.C.; FURUYA, W.M.; SANTOS, V.G.; BOTARO, D.; SILVA, L.C.R.; SALES, P.J.P.; HAYASHI, C.; SANTOS, L.D.; FURUYA, V.R.B. (2005). Coeficientes de digestibilidade aparente da energia e nutrientes do farelo de soja integral sem e com fitase para a tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*). *Acta Sci. Anim. Sci. Maringá*, v. 27, n. 3, p. 371-376, July/Sept.
- STOREBAKKEN, T., SHEARER, k.D.; ROEM, A.J. 1998 Availability of protein, phosphorus and other elements in fish meal, soy protein concentrate and phytase treated soy protein based diets to Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture*, 161: 365-379.
- SUGIURA, S.H.; GABAUDAN, J.; DONG, F.M. et al. (2001). Dietary microbial phytase supplementation and the utilization of phosphorus, trace minerals and protein by rainbow trout [*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)] fed soybean meal-based diets. *Aquacult. Res.*, v.32, p.583-592.
- SUGIURA, S.H.; GABAUDAN, J.; DONG, F.M. et al., 2001 Dietary microbial phytase supplementation and the utilization of phosphorus, trace minerals and protein by rainbow trout [*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)] fed soybean meal-based diets. *Aquacult. Res.*, v.32, p.583-592.
- VIELMA, J.; LALL, S.P.; KOSKELA, J. et al. Effects of dietary phytase and cholecalciferol on phosphorus bioavailability in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).

- Aquaculture, v.163, n.3, p.309-323, 1998.
- VIELMA, J.; MÄKINEN, T.; EKHOLM, P. et al. Influence of dietary soy and phytase levels on performance and body composition of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and algal availability of phosphorus load. *Aquaculture*, v.183, n.3-4, p.349-362, 2000.
- VIELMA, J.; RUOHONEN, K.; GABAUDAN, J. et al. Top-spraying soybean meal-based with phytase improves protein and mineral digestibilities but not lysine utilization in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, v.35, n.10, p.955-964, 2004.
- WEERD, J.H.; KHALAF, K.H.A.; AARTSEN, F.J. et al. Balance trials with African catfish *Clarias gariepinus* fed phytase-treated soybean meal-based diets. *Aquaculture Nutrition*, v.5, n.2, p.135-142, 1999.
- YANG, S.; LIN, T.; LIU, F. et al. Influence of dietary phosphorus levels on growth, metabolic response and body composition of juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture*, v.253, n.1-4, p.592-601, 2006.
- YOO, G.; WANG, X.; CHOI, S. et al. Dietary microbial phytase increased the phosphorus digestibility in juvenile Korean rockfish *Sebastes schlegeli* fed diets containing soybean meal. *Aquaculture*, v.243, n.1-4, p.315-322, 2005.
- ZHANG, C.; MAI, K.; AI, Q.; ZHANG, W.; DUAN, Q.; TAN, B.; MA, H.; XU, W.; LIUFU, Z.; WANG, X. (2006) Dietary phosphorus requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture*, 255: 201-209.

## **7 - CAPITULO II : SUPLEMENTAÇÃO ALIMENTAR DE L-CARNITINA PARA ALEVINOS DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*).**

### **7.1 - RESUMO**

O presente experimento teve como objetivo levantar informações sobre os efeitos da suplementação de L-carnitina sobre o desenvolvimento e a composição bromatológica de alevinos de tambaqui (*Colossoma macropomum*). O experimento foi realizado no setor de Aqüicultura da Universidade estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), no período de 23 de março a 13 de maio, totalizando 50 dias de duração. Neste experimento foram utilizados 130 alevinos de tambaqui, distribuídos aleatoriamente, em 20 caixas plásticas de 50L, com peso médio inicial de  $3,13 \pm 0,06$ g. O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com cinco tratamentos (0,0; 400,0; 800,0; 1200; 1600 mg de L-carnitina/Kg de ração), e quatro repetições cada tratamento. Foram utilizadas dietas isocalóricas 3100Kcal de ED e isoproteicas 28% de PB. Durante o período experimental, os peixes receberam ração à vontade em quatro tratos diários. Após a peletização a ração foi seca à sombra e passada em peneira para padronização no tamanho dos peletes. O oxigênio dissolvido e temperatura foram mensurados diariamente, após a última refeição do dia, através de oxímetro e termômetro, digitais. Os valores de pH e condutividade foram mensurados por meio de peagâmetro condutivímetro a cada dois dias. As variáveis utilizadas para quantificar o desenvolvimento dos alevinos foram: Peso final, comprimento total, comprimento padrão, altura, consumo de ração, ganho de peso, conversão alimentar, taxa de crescimento específico, de desenvolvimento específico e de eficiência protéica. Para comparação das características bromatológicas das carcaças foram abatidos 30 peixes no início e três de cada unidade experimental ao final do período experimental. Para quantificar as características (proteína bruta, extrato etéreo, cinzas, extrato não nitrogenado e matéria seca) foi utilizada a metodologia de Silva e Queiroz (2003). Para análise estatística foi realizada a análise de regressão polinomial, como auxílio do programa SAEG. Foi identificado o efeito significativo da suplementação de L-carnitina sobre as variáveis relacionadas ao desenvolvimento, tendo como doses máxima estimada 1440,70 mg de L-carnitina/Kg de ração para consumo de ração e dose

mínima estimada em 1054,76 para conversão alimentar aparente. No entanto, quanto à análise bromatológica da carcaça, não foi observado nenhum resultado significativo da suplementação sobre as variáveis estudadas. Dessa forma, concluiu-se que a suplementação de L-carnitina para alevinos de tambaqui, possibilita o melhor desenvolvimento, porém não afeta a composição bromatológica da carcaça.

**Palavras-Chave:**  $\beta$ -oxidação, energia, proteína

## 7.2 - ABSTRACT:

The present study gather information on the effects of l-carnitine supplementation on the development and composition on the tambaqui fingerlings .the experiment was carried out at the aquaculture state university of norte fluminense drcy ribeiro (uenf) in the period of march 23 to may 13, a total of 50 days duration. this study used 130 fingerlings of tambaqui, randomizes into 20 plastic boxes of 50 lts with initial average of  $3.13 \pm 0.06g$ . the experimental design was completely randomized with 5 treatments ( 0.0, 400.0, 800.0, 1200, 1600 mg l-carnitina/kg diet) and four replications per treatment. diets used were isocaloric and isonotrogenous, 3100 kcal me ed 28% cp. during the experimental period, fish received feed freely into four treatment daily. after pelleting, the feed was dried in the shade and passed through sieve to standardize the size of the pellets. dissolved oxygen and temperature were measured daily, after the last meal of the day with digital oxymeter and thermometer. the ph and conductivity were measured by means of conductivity phmeter every two days. the variables used to quantify the development of the fingerlings were: final weight, total length, standard length, height, feed intake, weight gain, feed conversion, specif growth rate, development and specific protein efficiency.to compare the characteristics of carcasses bromatological, 30 fish were killed at the beginning and three of each experimental unit at the end of the trial period. to quantify the characteristics( crude protein, ether extract, extract no nitrogen, dry matter) the methodology of silva and queiroz was used. statistical analysis was performed polynomial regression analysis, as supported by software saeg. it was identified the significant effect of l-carnitine supplementation on variables related on development, with estimated maximum dose of 1440.70 mg/l carnitina/kg of feed for feed consumption and minimum dose estimated at 1054.76 for feed conversion.

however as the chemical analysis of the carcass was not observed any significant result of supplementation on this variables. so we conclude that supplementation of l-carnitine for fingerlings of tambaqui, can get better the development but does not affect the chemical composition of the carcass.

**7.1.1 KEY WORDS:**  $\beta$ -oxidation, energy, protein.

### 7.3 - INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores de proteína de origem animal, suínos, aves, bovinos e também peixes. A produção de peixes nas últimas décadas tem aumentado de forma significativa e o país tem correspondido a esse aumento através de ações públicas que incluem aberturas de cursos superiores na área, implementação do filé de peixe na merenda escolar, criação de um ministério voltado somente para os assuntos relacionados à aquicultura e incentivos para elaboração de novas pesquisas através das empresas públicas e privadas de ensino, extensão e pesquisa.

Dessa forma, a aquicultura e principalmente a piscicultura, que corresponde à maior parte de produtos gerados pela aquicultura, vai precisar crescer ainda mais para suprir uma demanda por peixes que cresce a cada ano. Isso significa que todos os setores que estão envolvidos na produção de peixe, deverão aumentar principalmente sua eficiência.

O uso de substâncias que ajudam no melhor desenvolvimento animal deverá chegar às rações industriais, para que os animais de produção demonstrem seus melhores índices zootécnicos. Os aditivos são utilizados na produção animal com os objetivos de aumentar as taxas de crescimento e sobrevivência, melhorar a saúde do trato gastrintestinal e a eficiência alimentar, poupar energia e reduzir as cargas patogênicas e a produção de dejetos, minimizando o impacto ambiental pela redução da transmissão de patógenos via alimentos (GODOI *et al.* 2008).

Existem várias substâncias que podem entrar na lista de incorporação para rações comerciais, entretanto nem todas possuem uma gama de efeitos benéficos aos

organismos alvo, e muitas trazem alguns problemas para o processo de fabricação das rações. Segundo Godoi *et al.* (2008), os prebióticos, probióticos e simbióticos, são alternativas para a manutenção dos índices de produção alcançados. Além desses existem outras substâncias como a L-carnitina, coenzima Q<sub>10</sub>, ácido  $\alpha$ -lipóico, colina e taurina que têm merecido uma atenção crescente nos últimos tempos (PRATES & MATEUS, 2002).

Segundo (Hathcock e Shao, 2006), a L-carnitina é uma amina quaternária que desempenha um papel biológico fundamental no transporte de ácidos graxos de cadeias média (C12-C14) e longa (C16-C24) através da membrana mitocondrial, para sofrerem  $\beta$ -oxidação no interior da matriz mitocôndrial, na formação dos corpos cetônicos e na termogênese (Woollard et al, 1999). O fato de transportar as longas cadeias de ácidos graxos para o interior da matriz mitocondrial na forma de acil-L-carnitina, é essencial para oxidação e produção de ATP nos tecidos periféricos (Gulçin, 2006). Além disto, é responsável pela translocação de resíduos de acil para o exterior da matriz mitocondrial. Sendo assim, a L-carnitina desempenha uma função indispensável no metabolismo dos ácidos graxos.

Esse transporte de ácidos graxos para  $\beta$ -oxidação realizado pela L-carnitina afeta diretamente o uso da proteína contida na ração, uma vez que a geração de energia fica por conta das moléculas de carboidratos e ácidos graxos, deixando a proteína da dieta para formar outros tecidos, principalmente músculos. Esse processo vai afetar diretamente a eficiência de produção e diminuir os custos da mesma.

A diminuição do custo de produção leva a preços mais competitivos no mercado, aumenta o consumo do produto. Para piscicultura isso é muito importante, pois ela está inserida em um cenário onde a população brasileira não tem o hábito de consumir peixe e com menor preço o peixe pode se tornar mais atrativo, uma vez que um quilo de filé de tilápia custa 18 reais, se equiparando ao preço da picanha bovina.

Além da tilápia existem outros peixes que possuem grande potencial de produção e são nativos, o que não cria problema com relação à introdução de espécies, como o pintado, dourado e os redondos (tambaqui, pacu, pirapitinga e

híbridos) que já estão inseridos no mercado.

Assim, a utilização de substâncias que ajudam os peixes melhorarem seus índices produtivos e podem também ajudar a consolidar a atividade cada vez mais no cenário nacional e internacional é de bastante relevância, ainda mais quando esta associada a uma espécie como o tambaqui que já tem mercado.

#### **7.4 - MATERIAIS E MÉTODOS**

O presente experimento foi realizado no Brasil, estado do Rio de Janeiro, na cidade de Campos dos Goytacazes, na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, no setor de aquicultura. O período de duração do experimento foi de 23 de março a 13 de maio de 2010, totalizando 50 dias de experimentação.

Para realização do experimento foram utilizados 130 alevinos de tambaqui com peso inicial médio de  $3 \pm 0,06$ g e comprimento total médio inicial de  $5,35 \pm 0,04$ cm. Os alevinos foram distribuídos aleatoriamente, em 20 aquários experimentais de volume útil 40L, com abastecimento de água proveniente de um sistema de circulação fechado, equipado com filtro biológico, aquecedores com termostatos para manutenção da temperatura d'água.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado (DIC), com cinco tratamentos, quatro repetições, totalizando 20 unidades experimentais. Cada unidade experimental foi composta por um aquário com 5 alevinos de tambaqui, com entrada e saída d'água independentes.

Os tratamentos foram constituídos de cinco dietas isoprotéicas e isocalóricas (28% de proteína e 3100kcal de ED/kg de dieta), suplementadas com quatro níveis de L-carnitina (400, 800, 1200, 1600mg/kg de dieta) mais uma sem suplementação. A adição de L-carnitina nas dietas, foi realizada durante a mistura dos ingredientes para fabricação das dietas.

**Tabela 1:** Composição percentual da ração experimental:

<b>Ingredientes</b>	<b>Proteína Bruta 28%</b>
Farinha de peixe	32,28
Farelo de soja	13,83
Fubá de milho	46,65
Farelo de trigo	2,00
Óleo de soja	5,03
Mistura vitamínica <sup>1</sup>	0,10
Mistura mineral <sup>2</sup>	0,10
BHT	0,01
<b>Total (%)</b>	<b>100</b>
<b>Composição Nutricional</b>	
Proteína Bruta (%) <sup>4</sup>	27,98
Extrato etéreo (%) <sup>4</sup>	9,37
Matéria mineral (%) <sup>4</sup>	9,31
Energia metabolizável (kcal EM/kg) <sup>4</sup>	3.101
Cálcio (%) <sup>3</sup>	2,04
Fósforo (%) <sup>3</sup>	1,03
Metionina (%) <sup>3</sup>	0,71
Metionina + Cistina (%) <sup>3</sup>	1,09
Lisina (%) <sup>3</sup>	2,02
Triptofano (%) <sup>3</sup>	0,36
Arginina (%) <sup>3</sup>	1,87

1 – Rovimix Aves inicial (Roche): níveis de garantia por Kg de produto: Vitaminas A – 12.000 UI; D3 – 2.500 UI; E – 30.000 UI; B1 – 2,0 G; B6 – 3,0 G; Pantoténico de Cálcio – 10,0 g; Cloreto de Colina – 100,0 g; BHT – 5,0 g; Vitamina B12 – 15.000 mcg; Olaquinox – 5,0 g; Selênio – 0,120 g.

2 – Rologimix Aves (Roche): Níveis de garantia por Kg do produto: Manganês – 160,0; Ferro – 100,0 g; Zinco – 100,0 g; Cobre – 20,0 g; Cobalto – 2,0 g; Iodo – 2,0 g.

3 – Calculada a partir de dados tabelados (ROSTAGNO et al., 1983)

4 – Calculado a partir de dados tabelados (VIDAL JUNIOR, 1995)

O período pré-experimental, para a adaptação dos alevinos às condições de laboratório, foi de cinco dias, durante os quais todos receberam a ração experimental sem adição de L-carnitina, fornecidas quatro vezes por dia.

Para a confecção das rações os alimentos foram finamente moídos em moinho de martelo, com peneira de 0,5mm e homogeneizados em misturador industrial tipo Y. A mistura então foi umedecida e peletizada. Após a peletização a ração foi seca à sombra e passada em peneira para padronização no tamanho dos peletes, os quais foram adequados ao tamanho da boca dos peixes. As rações foram acondicionadas em embalagens plásticas, identificadas e armazenadas sob refrigeração.

O oxigênio dissolvido e temperatura foram mensurados diariamente, após a última alimentação do dia, através de oxímetro e termômetro digitais. Os valores de pH foram mensurados com auxílio de um peagâmetro digital com duas casas decimais.

A sobrevivência foi acompanhada diariamente e a cada dez dias três alevinos foram pesados e medidos individualmente para avaliação do peso, para adequação das taxas alimentares, até completar os 50 dias de experimentação. O desempenho produtivo foi avaliado pela conversão alimentar aparente, taxa de eficiência protéica, taxa de crescimento específico.

**Conversão alimentar aparente** = (peso final (g) – peso inicial (g))/alimento consumido no período (g);

**Taxa de eficiência protéica** = (peso final (g) – peso inicial (g))/total de proteína ingerida (g);

**Taxa de crescimento específico** =  $[(\log \text{ peso final} - \log \text{ peso inicial})/n^{\circ} \text{ de dias experimentais}] \times 100$ .

**Taxa de desenvolvimento específico** =  $[(\log \text{ CT final} - \log \text{ CT inicial})/n^{\circ} \text{ de dias experimentais}] \times 100$ .

No início do experimento trinta peixes foram anestesiados e posteriormente abatidos. Ao final do período experimental os peixes que compunham cada repetição também foram anestesiados e abatidos para posterior evisceração e escamação. Esses peixes e os peixes abatidos no início do experimento foram moídos e posteriormente secos em estufa de 55 °C com ventilação forçada.

Após secos, as massas devidamente identificadas foram moídas em moinho de bola e posteriormente utilizadas para realização das análises bromatológicas segundo método de Silva e Queiroz (2003) adaptado às condições do Laboratório de Zootecnia e Nutrição Animal da UENF.

### **Análise estatística**

Para cada variável mensurada no experimento foi realizada uma ANOVA geral, onde observou-se a existência ou não do efeito do tratamento sobre as variáveis

mensuradas. Após observação positiva foi feita a análise de regressão polinomial de cada variável. Todos os cálculos foram realizados com auxílio do programa estatístico SAEG. v 9.1.

## 7.5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período experimental os valores obtidos para as variáveis relacionadas com a qualidade de água do trabalho não demonstraram resultados que possam interferir nos efeitos da suplementação de L-carnitina sobre os juvenis de tambaqui. Estes valores estão apresentados na tabela2

**Tabela 2:** Parâmetros de qualidade de água do experimento com suplementação de L Carnitina.

Parâmetros	Tratamentos (mg/Kg de ração)				
	0	400	800	1200	1600
pH	6,0	5,8	6,2	5,4	5,8
Oxigênio dissolvido (mg/L)	5,6	5,3	5,9	5,4	5,3
Temperatura (°C)	28,7	28,5	28,3	28,1	28,7
Condutividade (µS/cm)	437	487	455	426	448

O teor médio de oxigênio dissolvido, durante o período experimental, foi de 5,75mg/L. Segundo ARAUJO-LIMA e GOMES (2005), o tambaqui tem seu crescimento normal em níveis de oxigênio acima de 3mg/L, portanto os valores obtidos no experimento ora descrito, atendem perfeitamente a exigência do tambaqui. Da mesma forma, as médias dos valores de pH mantiveram-se dentro dos padrões recomendados por ARIDE et al., (2004), entre 5,0 e 6,5. A temperatura dos aquários experimentais mostrou-se adequada para espécies de clima tropical, apresentando médias entre 28,0°C durante as aferições.

As variáveis consideradas diretas, pois provem resultados diretos da biometria realizada ao final do experimento estão na tabela 3.

**Tabela 3:** valores das variáveis diretas: peso (P), comprimento total (CT), comprimento padrão (CP), altura (H) e sobrevivência (Sobre.) obtidas no presente experimento.

Parâmetros	Tratamentos (mg/Kg de ração)					CV
	0	400	800	1200	1600	
P (g)	19,03	21,81	21,87	22,24	22,82	6,81
CT (cm)	9,65	10,01	10,00	10,03	10,14	1,86
CP (cm)	8,05	8,32	8,36	8,41	8,46	1,92
H (cm)	4,28	4,47	4,46	4,50	4,53	2,20
Sobre. (%)	100	100	100	100	100	0,00

Com relação às variáveis presentes na tabela 3, pode-se perceber maiores valores absolutos no tratamento com maior suplementação de L-carnitina, entretanto para variável sobrevivência não foi observado diferença entre os tratamentos com ou sem suplementação, esse resultado se assemelha ao obtido por Ma *et al.* (2008), que trabalharam com juvenis de Black sea bream (*Sparus macrocephalus*) e Schlechtriem *et al.* (2004), que trabalharam com um híbrido de tilápia proveniente do cruzamento de *Oreochromis niloticus* com *Oreochromis aureus*.

Apesar de perceber uma tendência de crescimento à medida que aumenta a suplementação de L-carnitina na dieta, a análise estatística demonstrou um comportamento quadrático para todas as variáveis da tabela 3 exceto a sobrevivência. Esse resultado mostra que após uma determinada dose de suplementação de L-carnitina a resposta apesar de ser superior não demonstra um acréscimo significativo, podendo até mesmo com doses muito maiores que as testadas, demonstrarem uma redução nos valores das variáveis mensuradas.

As equações que demonstram esse comportamento estatístico, mencionado no parágrafo anterior, para as variáveis: Peso (P), Comprimento total (CT), comprimento padrão (CP) e altura (H), no presente trabalho são: Peso Final  $\hat{Y} = 19,3667 + 0,00493052 X - 0,00000182937 X^2$  ( $R_{2 \text{ Ajust.}} 0,77$ ); CT  $\hat{Y} = 9,70143 + 0,000566607X - 0,000000198661X^2$  ( $R_{2 \text{ Ajust.}} 0,66$ ); CP  $\hat{Y} = 8,07771 + 0,000522679X - 0,000000185268X^2$  ( $R_{2 \text{ Ajust.}} 0,87$ ) e H  $\hat{Y} = 4,298 + 0,0003325X - 0,000000125X^2$  ( $R_{2 \text{ Ajust.}} 0,75$ ), respectivamente.

Tal análise permite que além de definir se existe uma diferença estatisticamente

comprovada ou não, com 1, 5 e 10% de probabilidade, sendo no caso do presente trabalho ( $P < 0,05$ ), como fazem os testes de médias, a análise de regressão também possibilita que seja estimada uma dose que possivelmente levará a uma resposta máxima da variável. No caso do presente trabalho as doses estimadas para as seguintes variáveis são: Peso final 1347,60 mg/Kg de ração; comprimento total 1426,07 mg/Kg de ração; comprimento padrão 1410,60 mg/Kg de ração e altura 1330,00 mg/Kg de ração.

Essas variáveis também foram mensuradas por outros autores que visualizaram o efeito positivo da suplementação com a L-carnitina como Ronald *et al.* (1999), quando trabalharam com Suplementação de L-carnitina para híbridos de striped bass, provenientes do cruzamento de (*Morone saxatilis* male x *M. chrysops* female); por Becker (1999) com híbridos das tilápias *Oreochromis niloticus* X *Oreochromis aureus*; Focken (1997) com a carpa comum (*Ciprinus carpius*) com dosagens que não excederam os 400mg/kg de ração. No entanto, em experimentos com tilápia do Moçambique e red sea bream, Jayaprakas *et al.* (1996) e Chatzifotis *et al.* (1996), respectivamente, obtiveram crescimento significativo quando os peixes receberam dietas suplementadas com níveis de 900 e entre 1087 e 2088 mg/kg de L-carnitina. Esses níveis estão muito próximos das suplementações estimadas para as variáveis da tabela 4.

O desenvolvimento do peixe quantificado através dos índices zootécnicos como o consumo de ração, o ganho de peso, a conversão alimentar entre outros, é um fator de grande importância para os piscicultores e merece uma atenção principalmente ao que diz respeito aos custos de produção de uma da piscicultura. Muitos pesquisadores atribuem os efeitos da suplementação com L-carnitina em dietas para peixes ao aumento da utilização de energia, como resultado do aumento da oxidação lipídica pela mitocôndria (Turini, 2008 e Pereira, 2009). Bilinski e Jonas (1970) demonstraram *in vitro* que a oxidação dos ácidos graxos de cadeia longa em mitocôndrias isoladas do músculo vermelho de trutas foi aumentada após a administração de L-carnitina. Entretanto, esse efeito ainda gera insegurança, pelo desconhecimento real da ação dessa substância no metabolismo dos peixes e como ela é aceita pelo animal após suplementação.

Em virtude do desconhecimento da absorção e efeitos da suplementação nos níveis endógenos da L-carnitina nos peixes tem-se muitas repostas diferentes quando suplementa essa substância na dieta. Alguns autores já relataram a ausência de resultados quando suplementaram a L-carnitina na dieta de algumas espécies de peixe como por Ji et al. (1996) no salmão do Atlântico; por Chatzifotis et al. (1997) na truta; por Gaylord e Gatlin (2000) em híbridos de robalo-muge; por Dzikowski et al. (2001) em guppys (*Poecilia reticulata*); Dias et al. (2001) no robalo; por Ozorio (2001) e Ozorio et al. (2001a, b) no catfish africano; por Schlechtriem et al. (2004) na tilápia híbrida (*O. Niloticus* x *O. Aureus*); por Burkert (2007) trabalhando com alevinos de pacu (*Piaractus mesopotamicus*); por Turini (2008) com pregado (*Scophthalmus maximus*) e por Pereira (2009) com trutas arco-íris (*Oncorhynchus-mykiss*).

Outros pesquisadores relatam resultados opostos aos trabalhos anteriores, demonstrando o efeito significativo da suplementação de L-carnitina na dieta, como Santulli D'Amelio (1986a), no robalo europeu; Twibell e Brown (2000) em híbridos de robalo-muge; Torreele et al. (1993), no catfish africano; Chatzifotis et al. (1995) no goraz; Keshavanath e Renuka (1998), no beiçudo; Jayaprakas et al. (1996) na tilápia mossambicana; Becker et al. (1999) na tilápia híbrida (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*); Ozório et al. (2005) para bagre-africano (*Clarias gariepinus*) e Gonçalves et al. (2010), com juvenis de turbot. No presente trabalho também foi verificado o efeito significativo da suplementação de L-carnitina na ração para alevinos de tambaqui.

Muitos índices zootécnicos relacionados à produção de animais domésticos são variáveis secundárias. As variáveis secundárias são aquelas que existem a partir de outras, sendo necessário a mensuração de uma variável primária para a quantificação de uma variável secundária. Todas as variáveis secundárias que poderão ser quantificadas no presente trabalho e estão relacionadas ao desenvolvimento dos alevinos de tambaqui utilizados no experimento estão na tabela 4.

**Tabela 4:** Valores das variáveis secundárias: consumo de ração (CR), ganho de peso (GP), conversão alimentar aparente (CAA), taxa de crescimento específico (TCE), taxa de desenvolvimento específico e taxa de eficiência protéica (TEP) obtidas no presente experimento.

Parâmetros	Tratamentos (mg/Kg de ração)				
	0	400	800	1200	1600
CR (g)	22,00	19,23	20,39	18,60	21,04
GP (g)	15,85	18,64	18,79	19,14	19,69
CAA (g)	1,39	1,03	1,09	0,98	1,08
TCE (%)	3,58	3,86	3,91	3,94	3,96
TDE (%)	1,18	1,26	1,25	1,26	1,27
TEP (%)	2,67	3,59	3,42	3,84	3,48

A interpretação dos resultados de diversos trabalhos relacionados à suplementação de L-carnitina na dieta é bastante complexa, pois a diversidade de hipóteses criadas e de questionamentos levantados nas comparações entre resultados distintos é muito grande, pois segundo alguns autores existem diversos fatores que podem influenciar a resposta da suplementação de L-carnitina na dieta para peixes, como por exemplo a idade dos animais, as condições ambientais e de cultivo (por exemplo, situações de stress) e a composição da dieta, principalmente os teores de gordura, lisina e metionina (Dias et al., 2001; Harpaz, 2005), requerimentos metabólicos das espécies em estudo (Ozório, 2001), a quantidade a ser utilizada na suplementação (Burker, 2007), a espécie alvo dos estudos (Turini, 2008) e o tempo de duração dos trabalhos (Pereira, 2009), são alguns dos questionamentos encontrados em trabalhos mais recentes.

Com relação ao tempo do presente trabalho, 50 dias, foi o suficiente para detectar através da análise de regressão a influência significativa da suplementação com L-carnitina. Ma *et al.*, (2008) precisaram de 56 dias para determinar o efeito significativo da suplementação sobre a menor deposição de gordura na carne, já Gonçalves *et al.* (2010) que trabalharam com juvenis de turbot (*Scophthalmus maximus*) utilizaram um período total de 75 dias e não visualizaram respostas positivas referentes ao desenvolvimento. Outro trabalho que obteve uma resposta significativa foi o de Ozório *et al.*, (2005), que testaram dois níveis de L-carnitina, suplementados durante 75 dias, sobre a reserva energética e a fadiga do bagre-africano.

Já Schlechtriem *et al.*,(2004) não observaram efeito significativo sobre o crescimento com também 54 dias de tratamento. Outro autor que não obteve resultado significativo para o crescimento foi Turini (2008) após trabalhar por 75 dias com diferentes suplementações de L-carnitina na dieta, assim como Pereira (2009) também não observou efeito da suplementação de L-carnitina no crescimento de trutas arco-iris (*Oncorhynchus mykiss*) após 60 dias de trabalho.

No presente trabalho os níveis utilizados para suplementação conseguiram ultrapassar a dose máxima estimada para todas as variáveis mensuradas, que ficaram entre 1054,76 a 1440,70 mg de L-carnitina/kg de ração, sendo que o único trabalho encontrado com uma espécie próxima foi o de Burket, (2007), o qual trabalhou com alevinos de pacu e suplementou os mesmos com doses bem abaixo das estipuladas no presente trabalho variando de 0 a 400 mg de L-carnitina/kg de ração, tendo como resposta a não influência das doses nas variáveis do trabalho.

O presente trabalho conseguiu atingir o nível máximo estipulado para uma resposta. Através da análise de regressão, foi observado que as variáveis da tabela 4 demonstraram também um comportamento quadrático, assim como as variáveis expostas na tabela 4. E as equações que podem demonstrar esse comportamento são as seguintes: CR  $\hat{Y} = 16,8306 + 0,00491072X - 0,00000170428X^2$  ( $R_{2 \text{ Ajust.}}=0,31$ ); GP  $\hat{Y} = 16,1774 + 0,00510325X - 0,00000191356X^2$  ( $R_{2 \text{ Ajust.}}=0,79$ ); CAA  $\hat{Y} = 1,35482 - 0,000698763X + 0,000000331242X^2$  ( $R_{2 \text{ Ajust.}}=0,65$ ); TCE  $\hat{Y} = 3,60449 + 0,000596001X - 0,000000239537X^2$  ( $R_{2 \text{ Ajust.}}=0,89$ ); TDE  $\hat{Y} = 1,18815 + 0,000132497X - 0,0000000546522X^2$  ( $R_{2 \text{ Ajust.}}=0,51$ ); TEP  $\hat{Y} = 2,74615 + 0,00187349X - 0,00000087993X^2$  ( $R_{2 \text{ Ajust.}}=0,63$ ), para o consumo de ração, ganho de peso, taxa de crescimento específico, taxa de desenvolvimento específico e taxa de eficiência protéica, respectivamente.

As doses utilizadas em muitos trabalhos também variam bastante indo desde doses muito baixas como a utilizada no trabalho de Ronald *et al.*(2000); Ozório *et al.* (2005); Sarica *et al.* (2005); Turini (2008); Pereira (2009), com uma suplementação mínima de 2,1; 15; 30; 40 e 15 mg de L-carnitina por kg de ração experimental, até doses que estão bem próximas à do presente estudo como as doses máximas utilizadas por Keshavanath e Renuka, (1998); Ozório *et al.* (2005) e Pereira (2009), que foram

também respectivamente 1000; 1000 e 530 mg de L-carnitina por Kg de ração experimental. No entanto, em experimentos com tilápia do Moçambique e red sea bream, JAYAPRAKAS et al. (1996) e CHATZIFOTIS et al. (1995), respectivamente, obtiveram crescimento significativo quando os peixes receberam dietas suplementadas com níveis de 900 e entre 1087 e 2088 mg/kg de carnitina.

Mesmo assim, o presente trabalho traz valores de doses estimados superiores aos mencionados nesses trabalhos, e exemplo disso é a dose estimada pela equação da variável consumo de ração que foi equivalente a 1440,70 mg de L-carnitina por kg de ração, já as doses estimadas para a conversão alimentar aparente e a taxa de eficiência protéica do presente trabalho foram 1054,76 e 1064,56 mg de L-carnitina por kg de ração, respectivamente. E as doses estimadas para outras variáveis secundárias são: 1333,44 mg de L-carnitina por kg de ração para a variável ganho de peso, 1244,07 mg de L-carnitina por kg de ração para variável taxa de crescimento específico e 1212,18 mg de L-carnitina por kg de ração para variável taxa de desenvolvimento específico.

Essas altas doses podem explicar de forma bem clara o efeito significativo obtido nesse trabalho frente à ausência de efeitos em outros trabalhos. Pois uma boa parte dos trabalhos que utilizaram suplementações baixas, não encontrou efeito dos tratamentos sobre as variáveis. Assim como Gonçalves (2010), trabalhando com alevinos de turbot de 75,6 gramas, o mesmo foi observado por Ma et al., (2008), onde não foi observada diferença significativa para as variáveis, peso final, conversão alimentar, sobrevivência, taxa de eficiência protéica e Índice hepatossomático. Outro trabalho que não verificou efeito foi o de Ronald et al., (2000), que trabalharam com Alevinos de híbridos de striped bass e não observaram diferenças significativas para eficiência alimentar, sobrevivência e total de lipídios no fígado.

A quantidade de L-carnitina presente na dieta, a sua reabsorção e a biossíntese (que ocorre principalmente no fígado) são os principais fatores que ditam os possíveis efeitos metabólicos da L-carnitina, dentre eles os efeitos no crescimento e na composição corporal dos indivíduos (Turini, 2008). Além disso, o efeito da L-carnitina é mais visível em peixes com maior acúmulo de gordura (Ozório, 2001), o que é outra possível explicação para a observação do efeito significativo da suplementação de L-carnitina sobre o crescimento dos juvenis de tambaqui do presente trabalho.

Em um trabalho desenvolvido por Rebouche (1991), foi demonstrado que até 87% de toda a L-carnitina ingerida pode ser absorvida. Entretanto, a absorção de L-carnitina pelo intestino é inversamente proporcional ao teor de L-carnitina dietética (Heo et al, 2000), o que significa que o excesso da L-carnitina presente na dieta pode estar sendo excretada diretamente; ajudando a explicar o comportamento quadrático determinado no presente trabalho.

Um outro aspecto importante a ser considerado é a idade dos peixes utilizados nos experimentos, muitos dos estudos que concluem que a dieta com L-carnitina se revelou benéfica para o desempenho do crescimento foram realizados com formas larvais e com juvenis muito pequenos, alevinos (Santulli e D'Amelio, 1986b; Torreele et al., 1993; Chatzifotis et al., 1995, 1996; Keshavanath e Renuka, 1998). Fato que ajuda a explicar os resultados positivos do presente trabalho, uma vez que os alevinos utilizados neste trabalho tinham um peso médio inicial equivalente a  $3,13 \pm 0,06$ g. No entanto, em estudos realizados em animais maiores (15-45g) os efeitos positivos da alimentação com L-carnitina tornam-se menos evidentes, como confirmam alguns estudos (Santulli e D'Amelio, 1986a; Chatzifotis et al., 1996, Pereira, 2009).

Isso acontece provavelmente porque o tamanho inicial do peixe testado desempenha um papel importante no resultado do crescimento, uma vez que a taxa de crescimento diminui com o aumento de tamanho (Harpaz, 2005), ou seja, os animais pequenos crescem mais rápido do que os animais mais velhos, apresentando necessidades energéticas relativamente maiores (Ozório, 2009). Para sustentar essas taxas de crescimento elevadas uma quantidade relativamente maior de L-carnitina é necessária, de forma a transportar os ácidos graxos de cadeia longa mais rapidamente para o local da  $\beta$ -oxidação (Pereira, 2009).

Existe ainda o fato de que larvas, pós-larvas e alevinos de peixes podem apresentar um déficit na produção de L-carnitina endógena, conseqüentemente, os requisitos de L-carnitina destes animais podem exceder a sua capacidade de síntese, levando a uma exigência adicional de suplementação de L-carnitina dietética (Ozório, 2009). Assim, a deficiência em L-carnitina poderia ser mais facilmente expressa em juvenis que também requerem mais alimento por unidade de peso corporal (Harpaz, 2005).

Isto pode provavelmente explicar a contradição nos resultados obtidos por Torreele et al. (1993), que mostraram os efeitos positivos no crescimento de juvenis de peixe-gato Africano de peso inicial de 5g, enquanto tal efeito não foi detectado por Ozório (2001), que analisou a mesma espécie de peixe, mas com um peso médio inicial de 23g.

Entretanto, a L-carnitina não atua somente sobre características relacionadas ao desenvolvimento dos peixes, ela possui grande influência sobre características pertinentes a composição proximal da carcaça dos peixes, uma vez que tem papel fundamental sobre o transporte de ácidos graxos de cadeia longa para  $\beta$ -oxidação.

Diferente do que foi observado para as variáveis relacionadas ao desenvolvimento, as variáveis mensuradas para composição bromatológica da carcaça dos alevinos de tambaqui do presente trabalho não demonstraram diferença estatística ( $P>0,05$ ) após realização da análise de variância para regressão. Os valores das variáveis mensuradas no presente experimento sobre características bromatológicas estão apresentados na tabela 5.

**Tabela 5:** Valores das variáveis bromatológicas da carcaça de tambaqui (*Colossoma macropomun*) submetidos a diferentes níveis de L-carnitina obtidas no presente experimento.

Parâmetros	Tratamentos (mg/Kg de ração)				
	0	400	800	1200	1600
Matéria Seca (%)	33,64	33,55	34,19	34,30	34,09
Proteína Bruta (%)	52,87	52,34	52,16	52,91	53,21
Extrato Etereo (%)	28,11	30,34	29,89	28,88	29,22
Cinzas (%)	16,96	16,02	16,31	16,41	16,59
Extrato não nitrogenado (%)	2,06	1,30	1,64	1,80	0,98

Os valores da composição corporal dos alevinos de tambaqui do presente trabalho não diferiram dos encontrados por Terrazas et al (2002) e por Mendonça, (2007) para mesma espécie e também encontrados por Souza et al. (2002), Burkert (2007), Abimorad et al. (2007) para o pacu, filogeneticamente ao tambaqui, o que pode confirmar a ausência de ação da suplementação da L-carnitina sobre as características bromatológicas

da carcaça e dando mais força aos valores apresentados nesse estudo.

Ozório et al. (2001b) descrevem a hipótese de que a L-carnitina pode aumentar a mobilização dos ácidos graxos de cadeia longa viabilizando sua maior oxidação. Dessa forma, não contribuiria para o aumento de ganho de peso, mas potencializaria a modificação do perfil dos ácidos graxos provenientes da dieta e depositados na carcaça, causando uma modificação provável no teor de extrato etéreo dos animais submetidos à suplementação com essa substância.

A ação da L-carnitina sobre o metabolismo das gorduras pode acarretar em uma melhoria no desempenho e modificação das concentrações de proteína e gordura no corpo dos peixes (Burkert, 2007). Deste modo, segundo Bilinski e Jonas (1970), a oxidação dos ácidos graxos seria aumentada pela administração de L-carnitina, reduz a acumulação de lípidos nos tecidos. Assim, os animais alimentados com maiores quantidades de L-carnitina, em dietas com um teor de gordura considerável, se beneficiariam desta função e passariam a direcionar a energia proveniente da proteína para o crescimento, entretanto essa ação da L-carnitina ainda é controversa (Harpaz, 2005).

Contudo, existe uma grande variabilidade de respostas quanto ao efeito que a administração de L-carnitina pode ter no metabolismo lipídico dos peixes. Alguns trabalhos realizados, como por exemplo no robalo Europeu (Santulli e D'Amelio, 1986a; Santulli et al., 1988, 1990), no peixe gato Africano (Torreele et al., 1993; Ozório et al., 2001a, b), como no caso do catfish americano *Ictalurus punctatus* estudado por Burtle e Liu (1994), no salmão do Atlântico (Ji et al., 1996) e no "rohu" (Keshavanath e Renuka, 1998) comprovaram o efeito benéfico da suplementação de L-carnitina dietética na redução do teor lipídico corporal, bem como no músculo, fígado e vísceras.

Em contrapartida, existem trabalhos em que a suplementação de L-carnitina não reduziu o índice lipídico na composição corporal e centesimal de diversos tecidos (músculo, fígado, vísceras e gónadas), como descrito para o catfish africano (Torreele et al, 1993), a dourada Japonesa (Chatzifotis et al., 1996), a truta arco-íris (Chatzifotis et al., 1997 e Pereira, 2009), a carpa (Focken et al., 1997), a tilápia híbrida (Becker et al., 1999), o robalo híbrido (Twibell e Brown, 2000), o robalo Europeu (Dias et al., 2001), o

juvenil de black sea bream (Ma et al., 2008) e o juvenil de Turbot (*Scophthalmus maximus*) (Gonçalves et al. 2010). Em boa parte desses trabalhos a ausência de efeito da suplementação de L-carnitina também ocorreu para as outras variáveis relacionadas à composição bromatológica de outros tecidos, o que está de acordo com os resultados do presente trabalho, no qual não se observou qualquer efeito da suplementação de L-carnitina dietética no teor matéria seca, cinzas, proteína e extrato não nitrogenado, nos juvenis de tambaqui suplementados ou não com L-carnitina.

## 7.6 - CONCLUSÃO

Concluiu-se que a utilização de altas doses de L-carnitina na ração melhorou o desenvolvimento dos alevinos de tambaqui do presente trabalho. Entretanto, não afetou a composição bromatológica da carcaça.

## 7.7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIMORAD, E.G.; CARNEIRO, D.J.; URBINATI, E.C. (2007). Growth and metabolism of pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887) juveniles fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. *Aquaculture Research*. 38, 36-44.
- ARAUJO-LIMA, C.A.R.M., Gomes, L.C. (2005). Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: Baldisserotto, B. Gomes, L.C. (ed) *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. 1ª ed. Santa Maria. Ed. da UFSM. p. 468
- ARIDE, P.H.R., ROUBACH, R. E VAL, A.L. (2004), Water pH in central Amazon and its importance for tambaqui (*Colossoma macropomum*) culture. *World Aquaculture*. Baton Rouge , v.35, p.24-27.
- BECKER, K.; SCHREIBER, S.; ANGONI, C.; BLUM. R. (1999). Growth performance and feed utilization response of *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus* hybrids to L-carnitine measured over a full fattening cycle under commercial conditions. *Aquaculture*, 174, 313-322.
- Bilinski E and Jonas REE. (1970). Effect of coenzyme A and carnitine on fatty acid oxidation by rainbow trout mitochondrial. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*. 27: 857-864.
- BURKERT DENILSON (2007). Avaliação do uso de carnitina e de duas fontes de metionina no desempenho e na composição corporal do pacu, *piaractus mesopotamicus holmberg, 1887*. Tese da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 49pg.

- BURTLE, G.J.; LIU, Q. (1994) Dietary carnitine and lysine affect channel catfish lipid and protein composition. *Journal of World Aquaculture Society*, 25, 169-174.
- CHATZIFOTIS, S., TAKEUCHI, T., SEIKAI, T. (1996). The effect of dietary L-carnitine on growth of red sea bream *Pagrus major* fingerlings at two levels of dietary lysine. *Aquaculture*, 147: 235-248.
- Chatzifotis, S., Takeuchi, T., Seikai, T., (1995). The effect of dietary L-carnitine on growth performance and lipid composition in red sea bream fingerlings. *Fish. Sci.* 61, 1004–1008.
- Chatzifotis, S., Takeuchi, T., Watanabe, T., Satoh, S., (1997). The effect of dietary carnitine supplementation on growth of rainbow trout fingerlings. *Fish. Sci.* 63, 321-322.
- Dias, J., Arzel, J., Corraze, G., Kaushik, S.J., 2001. Effects of dietary L-carnitine supplementation on growth and lipid metabolism in European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquac. Res.* 32, 206- 215.
- Dzikowski, R., Hulata, G., Karplus, I., Harpaz, S., 2001. Effect of temperature and dietary L-carnitine supplementation on reproductive performance of female guppy (*Poecilia reticulata*). *Aquaculture* 199, 323-332.
- FOCKEN, U.; BECKER, K.; LAWRENCE, P. (1997). A note on the effects of L-carnitine on the energy metabolism of individually reared carp, *Cyprinus carpio* L. *Aquaculture Nutrition*, 3, 261-264.
- Gaylord, T.G., Gatlin, D.M., 2000. Dietary lipid level but not L-carnitine affects growth performance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*). *Aquaculture* 190, 237- 246.
- Gonçalves José Fernando Magalhães; Turini Bruno Graziano da Silva; Ozório Rodrigo Otávio de Almeida (2010). Performance of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) fed varying dietary L-carnitine levels at different stocking densities. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*, v.67, n.2, p.151-157, March/April.
- Gulçin, I., 2006. Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. *Life Sciences* 78 803-811.
- Harpaz S. 2005. L-carnitine and its attributed functions in fish culture and nutrition - A Review. *Aquaculture*. 249: 3-21.
- Heo, K.N., Odle, J., Han, I.K., 2000. Effects of dietary L-carnitine and protein level on plasma L-carnitine, energy and L-carnitine balance, and L-carnitine biosynthesis of 20 kg pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Science* 13, 1568-1575.
- JAYAPRAKAS, V.; SAMBHU, C.; SUNIL KUMAR, S., (1996). Effect of dietary L-carnitine

- on growth and reproductive performance of male *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Fisheries Technology*, 33, 84- 90.
- Ji, H., Bradley, T.M., Tremblay, G.C., 1996. Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed L-carnitine exhibit altered intermediary metabolism and reduce tissue lipid, but no change in growth rate. *Journal of Nutrition* 126, 1937-1950.
- Keshavanath, P., Renuka, P., (1998). Effect of dietary l-carnitine on growth and body composition of fingerling rohu, *Labeo rohita* (Hamilton). *Aquac. Nutr.* 4, 83 - 87.
- MA J.J., Z.R. XU, Q.J. SHAO, J.Z. XU, SILAS S. O. HUNG, W.L. HU & L.Y. ZHUO (2008). Effect of dietary supplemental L-carnitine on growth performance, body composition and antioxidant status in juvenile black sea bream, *Sparus macrocephalus*. *Aquaculture Nutrition*
- Ozório Rodrigo; Ginneken Vincent Van; Thillart Guido van den; Verreth Martin Versteegen; Johan (2005). Dietary carnitine maintains energy reserves and delays fatigue of exercised african catfish (*clarias gariepinus*) fed high fat diets. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*, v.62, n.3, p.208-213, May/June.
- Ozorio, R.O.A., (2001). Dietary L-carnitine and energy and lipid metabolism in African catfish (*Clarias gariepinus*) juveniles. *Dissertação PhD 3092*. Wageningen University, Hollanda.
- Ozorio, R.O.A., Uktoseja, J.L.A., Huisman, E.A., Verreth, J.A.J., (2001b). Changes in fatty acid concentrations in tissues of African catfish *Clarias gariepinus* Burchell, as a consequence of dietary carnitine, fat and lysine supplementation. *Brit. J. Nutr.* 86, 623-636.
- Ozorio, R.O.A., Van Eekeren, T.H.B., Huisman, E.A., Verreth, J.A.J., (2001a). Effects of dietary carnitine and protein energy: nonprotein energy ratios on growth, ammonia excretion and respiratory quotient in African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell) juveniles. *Aquac. Res.* 32, 406-414.
- PEREIRA CLAUDIA DE FÁTIMA ESCÓRCIO (2009). Suplementação de L-carnitina na dieta de trutas arco-íris (*Oncorhynchus-mykiss*): Estudo comparativo entre indivíduos diplóides e triplóides. *Dissertação de Mestrado em Ciências do Mar - Recursos Marinhos*. Universidade do Porto. 110 pg
- Prates, J. A. M., Mateus, C. M. R. (2002). Componentes com actividade fisiológica dos alimentos de origem animal *Revista Portuguesa de Ciências Veterinária* v.97 (541) p. 3-12).
- Rebouche, C. J., 1991. Quantitative estimation of absorption and degradation of a carnitine supplement by human adults. *Metabolism-Clinical and Experimental* 40, 1305-1310.
- Ronald G. Twibell, Paul B. Brown (2000) Effects of dietary carnitine on growth rates and body composition of hybrid striped bass (*Morone saxatilis* male x *M. chrysops* female)

- Aquaculture vol.187 p.153–161.
- Santulli, A., D'Amelio, V., 1986a. The effects of carnitine on the growth of sea bass *Dicentrarchus labrax* L. fry. *J. Fish Biol.* 28, 81- 86.
- SANTULLI, A.; MODICA, A.; CURATOLO, A.; D'AMELIO, V. (1988). L-Carnitine administration to sea bass *Dicentrarchus labrax* L. during feeding on a fat diet: modification of plasma lipid levels and lipoprotein pattern. **Aquaculture**, vol.68, pg.345-351.
- SARICA, S., CORDUK, M., KILINC, K., (2005). The effect of dietary L-Carnitina supplementation on growth performance, carcass traits, and composition of edible meat in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). **Poultry Science**.vol. 14 pg. 709-715.
- Schlechtriem, C., Bresler, V., Fishelson, L., Rosenfeld, M., Becker, K., (2004). Protective effects of dietary L-carnitine on tilapia hybrids (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*) reared under intensive pond-culture conditions. *Aquac. Nutr.* 10, 55- 63.
- SILVA, D.J. (1990). *Análise de Alimentos (Métodos químicos e biológicos)*. Viçosa: Editora UFV, 165P.
- SOUZA, V.L.; URBINATI, E.C.; GONÇALVES, D.C.; SILVA, P.C. (2002). Composição corporal e índices biométricos do pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes, Characidae) submetido a ciclos alternados de restrição alimentar e realimentação. *Acta Scientiarum, Maringá*, v. 24, n. 2, p. 533-540.
- TERRAZAS, W.D., PEREIRA-FILHO, M., OLIVEIRA-PEREIRA, M.I. (2002). Efeito da farinha de resíduo de peixe e de frango no desempenho e na composição corporal de juvenis de tambaqui *Collossoma macropomum* (CUVIER, 1818). *Acta Amazonica* vol.32 (1): pg. 155-162
- Torreele, E., Van Der Sluiszen, A., Verreth, J., (1993). The effect of dietary L-carnitine on the growth performance in fingerlings of the African catfish (*Clarias gariepinus*) in relation to dietary lipid. *Br. J. Nutr.* 69, 289- 299.
- Turini Bruno Graziano da Silva (2008). Os efeitos da carnitina no crescimento e na composição corporal do pregado (*Scophthalmus maximus*) mantido sobre diferentes densidades de estabulação. Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, Universidade do Porto. 76 pg
- Twibell, R.G. e Brown, P.B., (2000). Effects of dietary carnitine on growth rates and body composition of hybrid striped bass (*Morone saxatilis* male x *M. chrysops* female). *Aquaculture*, 187, 153-161.
- WOOLLARD, D.C., INDYK, H.E. e WOOLLARD, G.A. (1999). Carnitine in milk: a survey of content, distribution and temporal variation. *Food Chemistry*, 66, 121-127.