

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

EXIGÊNCIAS DIETÉTICAS DE ARGININA E ISOLEUCINA  
PARA TILÁPIAS DO NILO

Autor: Dacley Hertes Neu  
Orientador: Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya  
Coorientador: Prof. Dr. Wilson Rogério Boscolo

Maringá  
Estado do Paraná  
Dezembro– 2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

EXIGÊNCIAS DIETÉTICAS DE ARGININA E ISOLEUCINA  
PARA TILÁPIAS DO NILO

Autor: Dacley Hertes Neu  
Orientador: Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya  
Coorientador: Prof. Dr. Wilson Rogério Boscolo

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de Concentração: Produção Animal.

Maringá  
Estado do Paraná  
Dezembro – 2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

N477e Neu, Dacley Hertes  
Exigências dietéticas de arginina e isoleucina para tilápias do Nilo / Dacley Hertes Neu. -- Maringá, 2013.  
xv, 98 f. : il. color., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya.  
Coorientador: Prof. Dr. Wilson Rogério Boscolo.  
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2013.

1. Aminoácidos essenciais. 2. Aquicultura. 3. Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) - Crescimento muscular. 4. Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) - Composição de carcaça. 5. Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) - Desempenho produtivo. 6. Nutrição de peixes. 7. Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) - Parâmetros sanguíneos. I. Furuya, Wilson Massamitu, orient. II. Boscolo, Wilson Rogério, coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. IV. Título.

CDD 21.ed. 639.3774

AMMA-001253



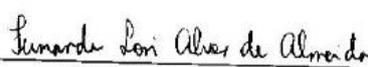
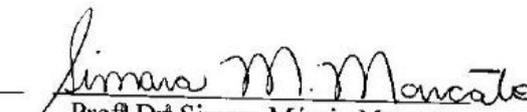
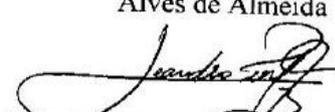
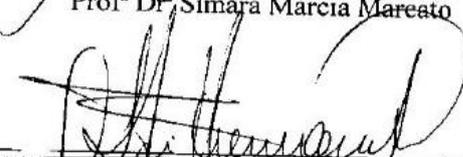
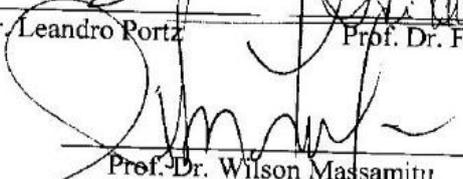
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**EXIGÊNCIAS DIETÉTICAS DE ARGININA E  
ISOLEUCINA PARA TILÁPIAS DO NILO**

Autor: Dacley Hertes Neu  
Orientador: Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya

TITULAÇÃO: Doutor em Zootecnia - Área de Concentração Produção  
Animal

APROVADA em 19 de dezembro de 2013.

 Prof. <sup>a</sup> Dr. <sup>a</sup> Fernanda Losi Alves de Almeida	 Prof. <sup>a</sup> Dr. <sup>a</sup> Simara Márcia Mareato
 Prof. Dr. Leandro Portz	 Prof. Dr. Fábio Bittencourt
 Prof. Dr. Wilson Massamitu Furuya (Orientador)	

*“Todo mundo é ignorante, só que em assuntos diferentes”*

(Benjamin Franklin)

Aos meus pais Gilda Forte Neu e Valdir Neu,

por todo apoio, carinho, incentivo, confiança, por acreditarem não só em mim, mas nesse projeto de vida que custou a ausência em muitas horas, por todos os ensinamentos que passaram ao longo de toda minha vida, e hoje são meus alicerces. Obrigado por ser o exemplo e espelho para todas essas conquistas. Meu eterno respeito, gratidão, admiração e amor. Esse título é de vocês;

A minha esposa Daniele Woguel Neu,

pelo apoio incondicional, amor, carinho, dedicação e paciência durante todos esses anos. Nada disso seria possível sem sua contribuição. Obrigado por me acompanhar nessa etapa. Isso foi muito mais gratificante com sua presença. Te Amo!

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por permitir que vivenciasse todos esses momentos;

À Universidade Estadual de Maringá (UEM), ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (PPZ) e ao Departamento de Zootecnia (DZO);

À CAPES, pelo auxílio da bolsa;

Aos meus pais mais uma vez, Gilda Forte Neu e Valdir Neu, os quais sem a presença ativa, nada disso teria acontecido;

À minha esposa Daniele Woguel Neu, por todo carinho e amor ofertado, que foi meu porto seguro durante todas essas etapas;

À minha irmã e meu cunhado Aciany Adele Neu Meyer e William Mark Branco Meyer, por todo incentivo e aos meus sobrinhos Lívia Meyer, que chegou para abrilhantar ainda mais nossas vidas, Laís Meyer e Lucas Meyer, por todas as alegrias;

Ao Professor, orientador e amigo, Dr. Wilson Massamitu Furuya, pela confiança em meu trabalho, pelos ensinamentos que levarei para minha vida e profissão, pela amizade e incentivo;

Ao Professor, coorientador e amigo, Dr. Wilson Rogério Boscolo, por todas as dicas, credibilidade, exemplo de profissionalismo, ensinamentos e incentivo na pesquisa.

À Professora Dra. Fernanda Losi Alves de Almeida, por todo empenho, dedicação, paciência e colaboração neste trabalho;

Ao Professor Dr. Fabio Bittencourt, pela amizade, leituras e correções dos artigos e por todas as horas de descontração;

Ao Professor Dr. Arcangelo Augusto Signor, por todas as horas de estudo, pela amizade e toda contribuição durante este trabalho;

Aos Professores Dr. Aldi Feiden e Altevir Signor, pelo auxílio, apoio e confiança nesse trabalho;

Aos Professores Ricardo Pereira Ribeiro, Alice Eiko Murakami e Maria Luiza Rodrigues de Souza, pelas valiosas críticas e sugestões durante a qualificação;

Aos professores Claudete Regina Alcalde e Ivan Moreira, pelos ensinamentos durante as disciplinas cursadas;

Às Técnicas Eurides e Maria dos Anjos, pelo apoio, atenção e ajuda na Histologia.

Ao Pesquisador Dr. Giovani Sampaio Gonçalves, pelo envio da farinha de sangue;

Aos amigos do Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura, Alex Grazioli Bonami, Alis Bittarello, Arlindo Fabrício Correia, Cesar Sary, Deividy Miranda, Dihego Romenig Alves Fernandes, Diogo Yamashiro, Douglas Jardelino de Camargo, Evandro Bilha Moro, Fabiana Dieterich, Marcia Luzia Ferarrezze Maluf, Jackeline Marcante Dallagnol, Jaina Mara Pigosso Coelho, Jhonis Erwin Pessini, Joana Karin Finkler, Juliana Alice Lösch, Junior Antonio de Carli, Ligiele Anne Roque, Michele Zaminham, Odair Diemer, Pedro Moreira, Sidnei Klein, Tatiane Andressa Lui, Thêmis Sakaguti Graciano, Thibério Carvalho, Vanessa Lewandowski e Vinícius Pimenta Sividanis, pela ajuda durante a realização dos trabalhos;

Aos amigos Daniel Campelo, Lorena Batista de Moura, Luiz Vítor de Oliveira Vidal e Tadeu Orlandi Xavier, pela ajuda na logística, análises e preocupações divididas;

Ao amigo Ronan Roger Rorato (*in memoriam*) que por um certo tempo alegrou nosso ambiente de trabalho, mas foi convocado para outra missão...

À Ajinomoto do Brasil Indústria e Comércio de Alimentos LTDA – Divisão *Animal Nutrition*, pela parceria na realização deste projeto, em especial ao Edgar Ishikawa e Marianne Kutschenko;

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste, *campus* Toledo, pela estrutura disponibilizada e ao *campus* de Marechal Cândido Rondon, pela liberação do micrótomo;

Ao Hospital Veterinário da Pontíficia Universidade Católica – PUC *campus* Toledo, pela liberação do uso do microscópio, em especial a secretária Márcia;

Aos Piscicultores Werner Rekowski e Adilson Mendes, pela doação dos peixes para os experimentos.

MUITO OBRIGADO...

## **BIOGRAFIA**

Dacley Hertes Neu, filho de Gilda Forte Neu e Valdir Neu, nasceu em Boa Vista da Aparecida – PR, no dia 14 de janeiro de 1985.

Em março de 2004, ingressou no curso de Engenharia de Pesca da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *campus* Toledo. Em dezembro de 2008, concluiu a graduação obtendo título de Engenheiro de Pesca.

Em fevereiro de 2009, ingressou no Programa de Pós-Graduação nível mestrado em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca da Universidade Estadual do Oeste do Paraná *campus* Toledo, sendo que em fevereiro de 2011 obteve o grau de Mestre.

Em março de 2011, iniciou no curso de Pós-Graduação nível Doutorado em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá. Em novembro de 2013, obteve a qualificação, e nesta data, submeteu-se à banca examinadora para defesa da tese de doutorado e obtenção do título de Doutor em Zootecnia, com área de concentração em Produção Animal pela Universidade Estadual de Maringá – UEM.

## SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	vii
LISTA DE TABELAS .....	ix
LISTA DE FIGURAS .....	xi
RESUMO .....	xii
ABSTRACT .....	xiv
I. INTRODUÇÃO GERAL .....	1
1.0 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
1.1 Tilápia do Nilo .....	3
1.2 Proteína e aminoácidos na nutrição de peixes .....	4
1.3 Digestão de proteínas e absorção de aminoácidos .....	6
1.4 Metabolismo dos aminoácidos.....	8
1.5 Excreção nitrogenada .....	11
1.6 Arginina .....	12
1.7 Isoleucina .....	19
1.8 Hematologia em peixes .....	22
1.9 Músculo estriado esquelético .....	25
1.10 Arginina e musculatura dos peixes.....	29
1.11 Referências bibliográficas.....	30
2.0 OBJETIVOS .....	46
2.1 GERAL.....	46
2.2 ESPECÍFICOS .....	46
3.0 Capítulo I .....	47
Desempenho produtivo, respostas hematológicas e bioquímicas e crescimento muscular de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com diferentes níveis de arginina	47
Resumo .....	47
Abstract: .....	48
Introdução.....	48
Material e Métodos .....	49
Resultados.....	56
Discussão.....	62
Referências .....	68
4.0 Capítulo II.....	76

Desempenho produtivo, respostas hematológicas, bioquímicas e crescimento muscular de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com níveis crescentes de isoleucina.....	76
Resumo.....	76
Abstract.....	76
Introdução.....	77
Material e Métodos.....	78
Resultados.....	84
Discussão.....	88
Referências.....	92
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	98

## LISTA DE TABELAS

### Revisão de Literatura

Tabela 1. Aminoácidos essenciais (AAE) e não essenciais (AANE) para mamíferos, peixes e aves .....	6
Tabela 2. Exigência de arginina de diferentes espécies de peixes .....	18
Tabela 3. Exigência de isoleucina de diferentes espécies de peixes.....	22
Tabela 4. Concentrações de alguns parâmetros bioquímicos do sangue de peixes ....	23

### Capítulo I

#### **Desempenho produtivo, respostas hematológicas, bioquímicas e crescimento muscular de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com diferentes níveis de arginina**

Tabela 1. Composição percentual (%) das rações experimentais com diferentes níveis de arginina para juvenis de tilápias do Nilo .....	51
Tabela 2. Composição proximal (%) das rações experimentais com diferentes níveis de arginina para juvenis de tilápias do Nilo .....	52
Tabela 3. Desempenho produtivo dos juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de arginina .....	56
Tabela 4. Composição corporal de juvenis de tilápias do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de arginina .....	57
Tabela 5. Composição corporal de aminoácidos essenciais (g por 16g de N) de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de arginina.....	58
Tabela 6. Retenção corporal de aminoácidos essenciais (%) de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de arginina .....	59
Tabela 7. Parâmetros bioquímicos e hematológicos dos juvenis de tilápias alimentados com dietas contendo níveis crescentes de arginina .....	60
Tabela 8. Valores médios de leucócitos, trombócitos e diferencial de linfócitos, neutrófilos e monócitos de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de arginina .....	61
Tabela 9. Frequência de distribuição das fibras musculares em três classes de diâmetros (<20 µm, entre 20 e 50 µm e >50 µm) em juvenis de tilápia do Nilo alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de arginina .....	62

### Capítulo II

#### **Desempenho produtivo, respostas hematológicas, bioquímicas e crescimento muscular de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com níveis crescentes de isoleucina**

Tabela 1. Composição (g.kg <sup>-1</sup> ) das rações experimentais com diferentes níveis de isoleucina para juvenis de tilápias do Nilo .....	79
Tabela 2. Composição proximal (g.kg <sup>-1</sup> ) das rações experimentais com diferentes níveis de isoleucina para juvenis de tilápias do Nilo .....	80

Tabela 3. Desempenho zootécnico dos juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de isoleucina .....	84
Tabela 4. Composição corporal dos juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de isoleucina .....	84
Tabela 5. Parâmetros bioquímicos e hematológicos dos juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de isoleucina .....	85
Tabela 6. Valores médios de leucócitos, trombócitos e diferencial de linfócitos, neutrófilos e monócitos dos juvenis de tilápias alimentados com dietas contendo níveis crescentes de isoleucina .....	86
Tabela 7. Composição de aminoácidos essenciais corporais (g por 16g de N) e retenção de aminoácidos essenciais corporais (%) de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de isoleucina .....	87
Tabela 8. Frequência de distribuição das fibras musculares em três classes de diâmetros (<20 µm, entre 20 e 50 µm e > 50 µm) em juvenis de tilápia do Nilo alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de isoleucina .....	88

## LISTA DE FIGURAS

### Revisão de Literatura

Figura 1. <i>Turnover</i> de aminoácidos nos peixes .....	9
Figura 2. Catabolismo dos aminoácidos nos mamíferos.....	10
Figura 3. Fórmula estrutural da arginina e suas interconversões.....	13
Figura 4. Arginina como um eixo metabólico .....	14
Figura 5. Ciclo da ureia .....	17
Figura 6. Fórmula estrutural da isoleucina .....	19
Figura 7. Catabolismo dos aminoácidos de cadeia ramificada.....	20
Figura 8. Estrutura dos miômeros do músculo lateral.....	26
Figura 9. Fotomicrografia do tecido muscular de tilápia do Nilo ( <i>Oreochromis niloticus</i> ).....	27
Figura 10. Mecanismos de crescimento muscular por hiperplasia e hipertrofia em peixes.....	28

### Capítulo II

#### Desempenho produtivo, respostas hematológicas, bioquímicas e crescimento muscular de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com diferentes níveis de arginina

Figura 1. Ganho em peso de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de arginina .....	57
---	----

## RESUMO

Dois experimentos foram conduzidos para determinar as exigências dietéticas de arginina e isoleucina para juvenis de tilápia do Nilo por meio do desempenho produtivo, parâmetros bioquímicos e hematológicos e crescimento muscular. Em ambos experimentos, os peixes foram alimentados com dietas extrusadas até saciedade aparente. No primeiro experimento, com duração de 85 dias, foram utilizados 300 juvenis de tilápia do Nilo ( $2,95 \pm 0,79$  g), distribuídos em 20 aquários de fibra de vidro com capacidade de 500 litros cada. Foram elaboradas cinco dietas extrusadas isoproteicas (28% proteína bruta) e isonergéticas ( $3160 \text{ kcal.kg}^{-1}$ ) e 0,95; 1,10; 1,25; 1,40 e 1,55% de arginina. Baseado na análise de regressão quadrática, os melhores resultados de ganho em peso, conversão alimentar, taxa de eficiência proteica e retenção de proteína foram estimados em peixes que receberam dietas com 1,36; 1,34; 1,36 e 1,37% de arginina, respectivamente. Os melhores valores de retenção corporal de aminoácidos foram estimados em peixes que receberam dietas contendo 1,31 a 1,37% de arginina. Em peixes que receberam 0,95% de arginina, o crescimento muscular ocorreu, principalmente, por hiperplasia, enquanto nos peixes que receberam dietas com 1,1 a 1,55% de arginina ocorreu redução no tempo de hiperplasia e início da hipertrofia. Peixes alimentados com diferentes níveis de arginina não apresentaram diferenças sobre a composição corporal em proteína, gordura e aminoácidos e respostas hematológicas e bioquímicas. Determinou-se exigência dietética de 1,36% de arginina para juvenis de tilápia do Nilo. No segundo experimento, foram utilizados 300 juvenis de tilápia do Nilo ( $18,09 \pm 0,11$  g), distribuídos em 20 aquários de fibra de vidro com capacidade de 500 litros cada. Foram elaboradas cinco dietas isoproteicas (28,0 % de proteína bruta) e isoenergéticas ( $3000 \text{ kcal.kg}^{-1}$ ) e 0,70; 0,81; 0,93; 1,05 e 1,17 % de isoleucina. Não foram observadas diferenças ( $P > 0,05$ ) para os parâmetros de desempenho produtivo, hematológicos e bioquímicos, composição centesimal, composição corporal de aminoácidos e crescimento muscular. A retenção corporal de isoleucina reduziu

linearmente com o aumento de isoleucina na dieta. Concluiu-se que dieta com 0,70 % de isoleucina atende as exigências de tilápia do Nilo.

**Palavras-chave:** aminoácidos essenciais, aquicultura, crescimento muscular, nutrição de peixes, parâmetros sanguíneos

## ABSTRACT

Two studies were carried out to determine the dietary arginine and isoleucine requirement for juvenile Nile tilapia through growth performance, biochemical and hematological parameters and muscle growth. In both experiments, the fish were fed *ad libitum* with extruded diets. In the first experiment, which lasting 85 days, three-hundred Nile tilapia juveniles ( $2.95 \pm 0.79$  g) were distributed into 20 fiberglass aquaria (500-L each). Five extruded diets, isonitrogenous (28.0% crude protein) and isocaloric (3160 kcal.kg<sup>-1</sup> digestible energy), with 0.95; 1.10; 1.25; 1.40 and 1.55% of arginine were elaborated. Based on second order regression analysis, the best results of weight gain, feed conversion rate, protein efficiency rate and protein retention were estimated by fish fed diets containing 1.36; 1.34; 1.36 and 1.37% of arginine, respectively. The maximum amino acid body retention was estimated in fish fed diets containing 1.31 to 1.37% of arginine. In fish fed 0.95% of arginine the muscle growth occurred mainly, by hyperplasia, while fish fed 1.1 to 1.55% arginine showed decreased in the time of hyperplasia and promoted initialization of hypertrophy. Fish fed with arginine levels did not show differences on body crude protein, fat and amino acid composition, biochemical and hematological parameters. A dietary requirement of 1.36% arginine was determined for juvenile Nile tilapia. In the second study, three-hundred Nile tilapia juveniles ( $18.09 \pm 0.11$  g) were distributed into 20 fiberglass aquaria of 500-L each. Five extruded diets, isonitrogenous (28.0 % crude protein) and isocaloric (3160 kcal.kg<sup>-1</sup> digestible energy) with 0.70; 0.81; 0.93; 1.05 and 1.17 % of isoleucine were elaborated. No significant difference ( $P > 0.05$ ) on growth performance, hematological and biochemical parameters, whole body composition, amino acid in body composition and muscle growth were observed. The body amino acid retention had an effect only for body isoleucine that decreased according to increasing dietary isoleucine levels. It was

concluded that diet containing 0.70 % isoleucine meets the requirement for Nile tilapia juveniles.

**Key words:** essential amino acids, aquaculture, muscle growth, fish nutrition, blood parameters.

## I. INTRODUÇÃO GERAL

A aquicultura brasileira, assim como a mundial cresce em ritmo acelerado, superando outras atividades agropecuárias (MPA, 2010). No Brasil, esse crescimento ocorreu principalmente pela produção de tilápias, tanto em tanques rede como em viveiros escavados, que representou cerca de 46% de toda a produtividade aquícola continental no ano de 2011 (MPA, 2013).

A tilápia se destaca pelas características de qualidade de carne. Como a alimentação é responsável pelos altos custos de produção, os estudos sobre avaliação de alimentos e determinação das exigências nutricionais são importantes para elaborar dietas de mínimo custo e que permitam o máximo desempenho e saúde dos peixes. Devido a grande variedade de alimentos utilizados, variáveis também em composição e valor nutritivo, é importante considerar o balanceamento de todos os nutrientes para as atividades de manutenção e produção, considerando não somente o desempenho mas a saúde dos peixes. Assim, além da lisina, metionina e treonina, é necessário considerar o balanceamento da arginina e isoleucina, que podem estar presente em dietas reduzidas em proteína.

A arginina, um aminoácido básico é importante na síntese proteica e do óxido nítrico, ureia, poliaminas, prolina, glutamato, creatina e agmatina (Wu e Morris, 1998; D'Mello, 2003a). Ainda, sua suplementação está relacionada com a redução de gordura corporal (Fernandes, 2007), além de estar envolvida na expressão do hormônio de crescimento (Adrião et al., 2004).

A isoleucina é um aminoácido neutro que compõe o grupo dos aminoácidos ramificados, relacionada à manutenção dos parâmetros imunológicos dos animais (Calder, 2006). Junto com os demais aminoácidos ramificados (leucina e valina), atua no desenvolvimento dos tecidos esqueléticos (Khan e Abidi, 2007) e na síntese de glutamina e alanina (Wu, 2009).

Determinar as exigências dos aminoácidos permite a formulação de dietas para peixes de forma mais precisa, reduzindo a necessidade de dietas formuladas com o excesso de alguns aminoácidos para atender as exigências de aminoácidos limitantes (Portz e Furuya, 2013). Embora existam poucas informações disponíveis sobre as exigências de arginina, fenilalanina, isoleucina, leucina, triptofano e valina para tilápias, a inclusão de arginina junto com lisina, metionina e treonina em dietas para esta espécie, pode assegurar a redução da proteína nas rações. A arginina e a isoleucina são importantes, pois, além de garantir o crescimento, peixes submetidos a estresse ou patógenos possuem maior resistência quando os mesmos são fornecidos de forma balanceada

## 1.0 REVISÃO DE LITERATURA

### 1.1 Tilápia do Nilo

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma espécie originária do continente africano (Pinheiro et al., 2006), com ampla distribuição por todo globo terrestre, em razão da sua adaptação aos diversos ambientes. No Brasil, os primeiros relatos de tilápias datam da década de 1950 quando a *Tilapia rendalli* foi introduzida pela Secretaria de Agricultura do Estado de São Paulo (Castagnolli, 1992; Tavares-Dias e Moraes, 2003) para reduzir a proliferação de algas e macrófitas aquáticas em represas (Boscardin, 2008).

Desde a década de 1930, o Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS) introduziu cerca de 42 espécies de peixes e crustáceos exóticos (Attayde et al., 2007) para povoamento dos açudes públicos da região nordeste brasileira. Uma das espécies foi a *O. niloticus*, introduzida em 1971 (Figueredo Júnior e Valente Júnior, 2008), inicialmente com apenas sete exemplares provenientes da Costa do Marfim, que foram importadas com a finalidade de incentivar a produção e consumo de proteínas de alto valor biológico pelos habitantes daquela região.

A partir da década de 1980, a tilapicultura se tornou uma atividade empresarial, com destaque para os primeiros frigoríficos especializados no abate da espécie (Kubitza, 2003), localizados nos municípios de Toledo e Assis Chateaubriand, no Paraná. Contudo, foi a partir dos anos 1990 que realmente houve avanço na criação de peixes, surgindo os primeiros resultados de estudos técnicos sobre a viabilidade econômica da criação de tilápias (Figueredo Júnior e Valente Júnior, 2008).

Em 1996, 20.000 exemplares de tilápia do Nilo (variedade Chitralada) originadas da Tailândia foram distribuídas em algumas regiões nos estados do Paraná e Rio Grande

do Sul, em que foram introduzidas novas técnicas de reprodução e deram novo impulso à produção deste peixe no Brasil (Zimmermann e Fitzsimmons, 2004). A partir daí, iniciou-se a criação de tilápias em diversas partes do país.

Dentre os fatores que proporcionaram a disseminação da tilápia do Nilo por todo o Brasil, destacam-se: boa resistência ao manejo, adaptação às variações climáticas, criação em altas densidades (Ferreira et al., 2011); facilidade para a reprodução (Gama, 2008); rápido crescimento (Lopera-Barrero et al., 2011); versatilidade para criação em tanques-rede, viveiros escavados, “raceways” ou tanques circulares (Meurer et al., 2002); consumo de ração durante todas as fases de criação, hábito alimentar onívoro com boa utilização da energia e nutrientes de alimentos de origem vegetal (Takishita et al., 2009). Além disso, o filé não possui espinhas em “Y” (Vieira e Silva et al., 2009), e a carne é conhecida e apreciada pelos consumidores (Furuya et al., 2005).

Em virtude de todas essas características, a criação de tilápias vem crescendo ao longo de todo mundo (Appleyard et al., 2001), inclusive no Brasil, onde, a partir de 2002, essa espécie de peixe superou as carpas (Boscardin, 2008), e passou a ser a mais criada nas pisciculturas continentais brasileiras.

De acordo com os dados estatísticos publicados pelo Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA, 2013), referente ao ano de 2011, a produção de tilápias foi de 254 mil toneladas, correspondendo a aproximadamente 46,6% da produção de peixes de água doce, 7,19% superior ao ano de 2010 (MPA, 2012). O aumento na produtividade ocorreu pelo estabelecimento de pacotes zootécnicos decorrentes de pesquisas relacionadas com o manejo produtivo e reprodutivo, nutrição e sanidade. Atualmente, há informações específicas sobre a nutrição de tilápias disponíveis no livro “Tabelas brasileiras para nutrição de tilápias” (Furuya, 2010), elaborado com informações de pesquisas realizadas no Brasil. No entanto, ainda faltam informações sobre as exigências dietéticas de alguns aminoácidos essenciais para esta espécie.

## **1.2 Proteína e aminoácidos na nutrição de peixes**

As proteínas são os componentes orgânicos mais abundantes nos tecidos dos peixes, ocorrendo em todas as células vivas e suas organelas (Lehninger et al., 1995), totalizando aproximadamente 65 a 75% do peso seco destes animais (Wilson, 2002).

São componentes essenciais para todos os tipos celulares corporais, incluindo músculos, ossos, órgãos, tendões e ligamentos (NRC, 2011).

As proteínas e os aminoácidos são moléculas exigidas continuamente pelos organismos vivos, pois possuem importante papel estrutural e metabólico (NRC, 2011), sendo constituintes do organismo animal em todas as etapas de desenvolvimento, além de serem responsáveis pela formação de enzimas e hormônios (Pezzato et al., 2004). São constituídas por carbono (50,0 – 55,0%), hidrogênio (6,5 - 7,5%), nitrogênio (15,5 - 18,0%), oxigênio (21,5 - 23,5%) e enxofre (0,5 - 2,0%). São formadas por unidades fundamentais denominadas aminoácidos (Lovell, 1988).

Os primeiros estudos utilizando aminoácidos na nutrição de peixes foram conduzidos por John E. Halver, na década de 1950 e início dos anos 1960, utilizando o salmão (*Oncorhynchus tshawytscha*). Os aminoácidos das dietas foram calculados para simular o conteúdo da proteína do ovo (Wilson, 2003). Posteriormente, estudos foram conduzidos com carpa comum (*Cyprinus carpio*), enguia japonesa (*Anguilla japonica*) e o bagre americano (*Ictalurus punctatus*). Mais tarde, outras espécies de salmão e trutas foram estudadas (Wilson, 1985).

O valor nutritivo da proteína varia entre ingredientes, quer seja pela composição quantitativa, balanceamento de aminoácidos e disponibilidade dos mesmos (Pezzato et al., 2004). Os peixes não possuem exigências de proteína, mas sim de uma mistura balanceada de aminoácidos essenciais e não essenciais na ração (Wilson, 1985) para que ocorra a deposição de proteínas corporais (Botaro et al., 2007; Furuya, 2010). Contudo, as rações de peixes são comercializadas com base em proteína bruta, e o conteúdo pode variar de 24 a valores acima de 50% (Pezzato et al., 2004) dependendo da espécie, hábito alimentar e fase de criação. A medida em que o peixe se desenvolve, diminui a exigência dietética de proteína e aumenta a exigência de energia (Furuya, 2010).

A menor exigência dietética de energia ocorre pelo fato dos peixes não mantêm a temperatura corporal, ao contrário das aves e mamíferos, e pelo menor gasto de energia para manter sua posição no meio aquático, além do menor gasto energético para excreção dos subprodutos do metabolismo dos aminoácidos (Halver, 2002; Pezzato et al., 2004). Porém, os peixes elasmobrânquios (peixes cartilagosos como raias, tubarões, cações, entre outros) são exceções, pois são ureotélicos (Takahashi, 2005).

Os peixes, assim como outros vertebrados e muitos invertebrados, são incapazes de sintetizar certos aminoácidos, os quais devem ser fornecidos por meio da dieta (Tabela 1). Esses são denominados como essenciais (Guillaume et al., 2001). Por outro

lado, aqueles definidos como não essenciais, podem ser sintetizadas em quantidades suficientes pelo organismo (Wu, 2009). Para adequada utilização da proteína dietética, os aminoácidos devem estar presentes em quantidades e proporções adequadas para maximizar o crescimento dos peixes (Wilson, 1985).

**Tabela 1.** Aminoácidos essenciais (AAE) e não essenciais (AANE) para mamíferos, peixes e aves

Mamíferos e peixes		Aves	
AAE	AANE	AAE	AANE
Arginina	Alanina	Arginina	Alanina
Fenilalanina	Asparagina	Fenilalanina	Asparagina
Histidina	Aspartato	Glicina	Aspartato
Isoleucina	Cisteína	Histidina	Cisteína
Leucina	Glutamato	Isoleucina	Glutamato
Lisina	Glutamina	Leucina	Glutamina
Metionina	Glicina	Lisina	Serina
Treonina	Prolina	Metionina	Taurina
Triptofano	Serina	Prolina	Tirosina
Valina	Taurina	Treonina	
	Tirosina	Triptofano	
		Valina	

Fonte: Adaptado de Wu (2009).

A maioria dos animais monogástricos, incluindo os peixes, requer os mesmos dez aminoácidos essenciais: arginina, fenilalanina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptofano e valina, exigidos por outros animais de interesse zootécnico (Wilson e Halver, 1986; Lovell, 1998). Em geral, as exigências de aminoácidos dos peixes, quando expressa como porcentagem da dieta, são maiores que das aves e suínos, mas quando os aminoácidos são expressos como porcentagem da proteína, as exigências são similares (Furuya, 2010).

### 1.3 Digestão de proteínas e absorção de aminoácidos

Os processos digestivos em peixes têm início na boca e na cavidade faríngea a partir da redução mecânica do tamanho das partículas alimentares. Esse processo tem

função apenas de aumentar a superfície de contato das partículas para melhorar a digestão enzimática (Bombardelli et al., 2004).

Nos peixes que não possuem estômago funcional, o intestino anterior transporta o bolo alimentar por sua extensão e, aparentemente, secreta muco isento de componentes digestivos. Nos peixes que possuem estômago funcional, o mesmo é responsável pelo armazenamento e degradação física e enzimática inicial da dieta, pois há secreção dos elementos digestivos (Grosell et al., 2011).

Os peixes com estômago funcional secretam tanto o ácido clorídrico (HCl) quanto o pepsinogênio (baixo pH do estômago desnatura a maioria das proteínas da dieta). O HCl contribui para a digestão inicial pela desnaturação da proteína e para a conversão do pepsinogênio inativo em enzima proteolítica pepsina ativa (Ash, 1985; Lehninger et al., 1995).

O esfíncter pilórico localizado na região final do estômago é quem faz a contenção do alimento antes da passagem para o intestino delgado. A pepsina quebra principalmente ligações peptídicas, envolvendo aminoácidos aromáticos, juntamente com o ácido clorídrico que hidrolisa parcialmente as proteínas, liberando assim pequenas cadeias polipeptídicas para a digestão final no intestino (Lovell, 1998).

Os nutrientes solubilizados e moléculas menores que foram formadas durante a digestão, são posteriormente transportados ou absorvidos através da membrana apical dos enterócitos que revestem o sistema digestório pós-gástrico, e, em seguida, esses nutrientes entram no sistema circulatório (Grosell et al., 2011).

Portanto, para ocorrer a absorção de proteínas, é necessário que a mesma seja hidrolisada à aminoácidos. A absorção dos aminoácidos no intestino pode ocorrer por transporte passivo ou ativo (Ash, 1985). A absorção dos aminoácidos livres, que ocorre na membrana apical do enterócito, é realizada por meio de transportadores específicos dependentes de  $\text{Na}^+$ , de transportadores não dependentes de  $\text{Na}^+$ , e por difusão (Rotta, 2003).

A assimilação do aminoácido e do sódio não gasta energia diretamente, mas é dependente de um gradiente formado por um sistema de transporte ativo, usualmente a bomba de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ . Esta bomba cria um gradiente de sódio favorável à entrada no enterócito. Desse modo, o  $\text{Na}^+$  entra no enterócito e, como o transportador só funciona se houver um aminoácido conectado, acaba por carregar ambos para dentro da célula, levando, assim, a captação de  $\text{Na}^+$  pela célula. Do interior do enterócito, o aminoácido passa por difusão para os capilares sanguíneos existentes nas vilosidades intestinais.

Quando dois aminoácidos são absorvidos pelo mesmo transportador, a presença de grandes quantidades de um dos aminoácidos inibe a absorção do outro (Rotta, 2003).

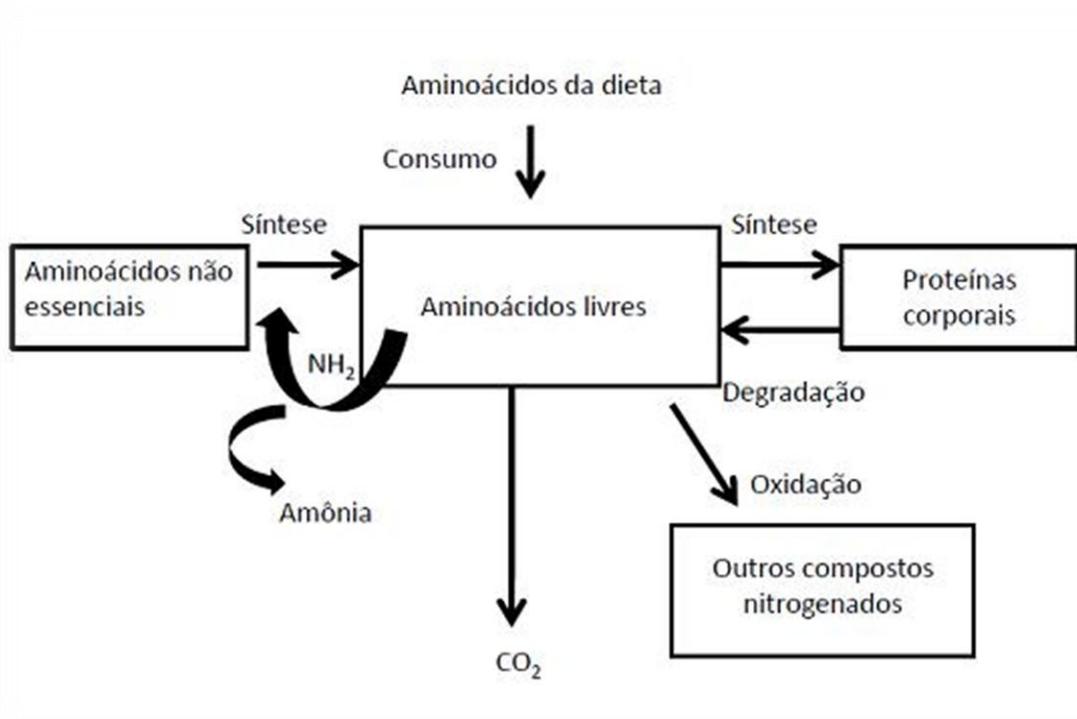
A absorção de peptídeos maiores e/ou proteínas, provavelmente por endocitose, tem sido demonstrado em regiões distais do intestino de diversos peixes (McLean e Donaldson, 1990). A absorção ocorre na porção posterior do intestino médio, independentemente do tipo de dieta e da idade do animal, sendo posteriormente hidrolisadas a aminoácidos no citosol dos enterócitos antes de entrarem na corrente sanguínea (Rotta, 2003).

#### **1.4 Metabolismo dos aminoácidos**

As proteínas da dieta são hidrolisadas no lúmen do trato digestório pela ação de proteinases e peptidases, e convertidas em aminoácidos ou peptídeos de cadeias curtas. A hidrólise completa é efetuada quando os peptídeos intracelulares chegam ao enterócito (Hepher, 1988).

Além da digestão da proteína e transporte de aminoácidos na mucosa intestinal, uma porção de aminoácidos pode ser desaminada e seu esqueleto de carbono catabolizado para a produção de energia. Porém, a maior metabolização de aminoácidos ocorre no fígado (Walton, 1985).

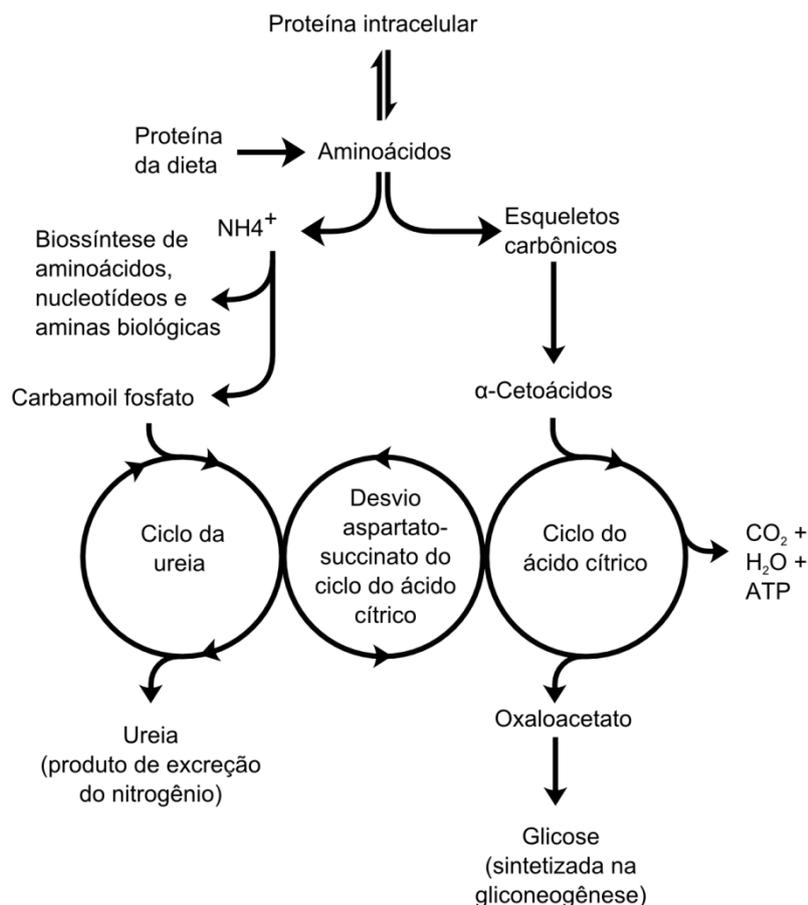
O *pool* de aminoácidos pode ser originado da proteína dietética e da mobilização da proteína corporal. Os aminoácidos são necessários para a síntese de proteínas corporais e formação de outros compostos nitrogenados, como enzimas, hormônios e anticorpos. Os aminoácidos não são armazenados e em excesso são rapidamente desaminados, liberando, amônia para excreção e outros compostos nitrogenados para oxidação e produção de energia (Walton, 1985). A Figura 1 mostra um esquema do *pool* de aminoácidos em constante rotatividade.



**Figura 1.** Turnover de aminoácidos nos peixes. Adaptado de Walton (1985).

Os aminoácidos livres possuem três possíveis origens: (a) absorção intestinal como produtos da hidrólise das proteínas alimentares; (b) síntese *de novo* e interconversões; e (c) hidrólise de proteínas corporais. Podem ser utilizados para a síntese de proteínas corporais ou componentes nitrogenados (ácido nucleicos, aminas, peptídeos, hormônios, etc.), e providenciam uma fonte de carbono para o metabolismo intermediário ou são oxidados para fornecerem energia (Lehninger et al., 1995).

Os aminoácidos livres são distribuídos e carregados pela corrente sanguínea e podem ser metabolizados em duas direções: (a) direção anabólica, que fornece a biossíntese de novas proteínas, as quais podem ser funcionais (hormônios e enzimas), estruturais (formação de novos tecidos durante o crescimento), ou na substituição de outros tecidos; e (b) a direção catabólica, que após a desaminação da molécula do aminoácido produz esqueleto de carbono que pode ser utilizado como fonte de energia ou lipogênese (Hepher, 1988). Os esqueletos carbônicos dos aminoácidos, em geral, convergem e se encaminham para o ciclo do ácido cítrico, e em alguns casos, as reações das vias são passos estreitamente paralelos àqueles dos catabolismos dos ácidos graxos (Lehninger et al., 1995), como pode ser observado na Figura 2.



**Figura 2.** Catabolismo dos aminoácidos nos mamíferos. Os grupos amino e o esqueleto de carbono, remanescente dos aminoácidos, entram em vias metabólicas separadas, mas interconectadas. Adaptado de Lehninger et al. (1995).

O metabolismo proteico ocorre em muitos órgãos do corpo. Além da mucosa intestinal, o fígado, principal local das reações metabólicas, e o músculo estriado esquelético apresentam papel importante nas vias catabólicas dos aminoácidos. A maioria das proteínas plasmáticas (albuminas, globulinas, etc.) também são sintetizadas no fígado (Hepher, 1988).

Embora a taxa do metabolismo proteico seja menor no músculo esquelético do que no fígado, a massa muscular excede o volume dos outros tecidos, então, quantitativamente, este é o local mais importante da síntese proteica no corpo do animal (Hepher, 1988). Em peixes, os maiores locais de desaminação são o fígado, rim e brânquias (Fauconneau, 1985).

As proporções de proteínas anabolizadas e catabolizadas dependem da exigência proteica dos peixes, do conteúdo de proteína da dieta e sua composição em aminoácidos, da exigência energética e da quantidade de energia disponível a partir de

outras fontes como lipídios e carboidratos. O catabolismo dos aminoácidos é favorecido pela deficiência dietética de energia. Enquanto os aminoácidos não essenciais podem ser sintetizados a partir de esqueletos de carbono fornecidos por carboidratos e amônia, a proteína da dieta é fonte de aminoácidos essenciais e não essenciais (Guillaume et al., 2001).

Como resultado da desaminação dos aminoácidos, há produção de esqueletos de carbono de duas maneiras: (a) a maioria dos aminoácidos produz  $\alpha$ -cetoácidos que podem ser prontamente convertidos a carboidratos ou participam diretamente do ciclo do ácido cítrico produzindo energia. Estes são os ácidos glicogênicos. (b) a leucina e lisina formam esqueletos de carbono que produzem metabólitos intermediários que são mais estreitamente relacionados com o metabolismo dos ácidos graxos do que a de carboidratos, tais como acetato, acetoacetato,  $\beta$ -hidroxibutirato e acetona. Eventualmente, produzem acetil-CoA, que pode ser utilizado para a síntese de ácidos graxos ou oxidado para a produção de energia no ciclo do ácido cítrico. O piruvato e os  $\alpha$ -cetoácidos fornecidos pela desaminação ou originados da glicólise dos carboidratos servem como precursores da biossíntese de novos aminoácidos (Hepher, 1988).

### **1.5 Excreção nitrogenada**

Os aminoácidos não são armazenados no corpo, e quando em excesso são rapidamente desaminados (Lovell, 1998), sendo que o grupo amino é liberado na forma de amônia para excreção (80% do catabolismo nitrogenado) (Guillaume et al., 2001), e o esqueleto de carbono é oxidado no ciclo do ácido cítrico para produção de energia ou convertido em glicose ou lipídeos (Walton, 1985).

A amônia produzida pela desaminação oxidativa não pode se acumular no sangue pois se não reutilizada por aminação se torna tóxica. Usualmente, os animais aquáticos resolvem esse problema excretando amônia no meio circundante (Baldisserotto, 2002). Em animais terrestres, a amônia tóxica é convertida em componentes não tóxicos como a ureia em mamíferos e ácido úrico em aves. A conversão de amônia em ureia nos mamíferos é realizada no ciclo da ornitina (Hepher, 1988). O ciclo da ornitina-citrulina-arginina parece não ser ativo em peixes. Contudo, algumas espécies, como os tubarões, mantêm o alto nível de ureia nos fluidos corporais por meio da osmorregulação (Lovell, 1998).

Hepher (1988) relatou a concentração de 2% de ureia nos tecidos e no sangue de elasmobrânquios. Essa concentração é muito mais elevada que a de 0,01 a 0,03% observada em teleósteos, podendo estar relacionada ao papel da osmorregulação dos peixes. O ciclo da ornitina sintetiza a ureia, e isso tem sido observado em elasmobrânquios.

A amônia está presente nas formas ionizada ( $\text{NH}_4^+$  ou amônio) e não ionizada ( $\text{NH}_3$  ou amônia). A forma não ionizável é mais tóxica e livremente difusível através das membranas biológicas, enquanto o amônio não. A excreção de amônia ocorre nas brânquias em ambas as formas, mas principalmente na forma não ionizada sendo 75% excretada pelas brânquias e 25% pela urina (Baldisserotto, 2002). Sua síntese é energeticamente mais eficiente que outros processos de excreção, ocorrendo principalmente no fígado. A amônia produzida é transportada pelo sistema circulatório até as brânquias, e, é excretada para a água (Ismiño-Orbe et al., 2003). Peixes carnívoros tendem a excretar mais amônia que peixes onívoros pela necessidade de maior quantidade de proteína em suas dietas.

A ureia excretada (cerca de 5 a 20% do nitrogênio eliminado) por peixes elasmobrânquios vem do catabolismo de purinas e arginina, e não de proteínas. Por isso, a excreção de ureia permanece baixa, em contraste com a excreção de amônia que apresenta um pico, algumas horas após a refeição (Hepher, 1988).

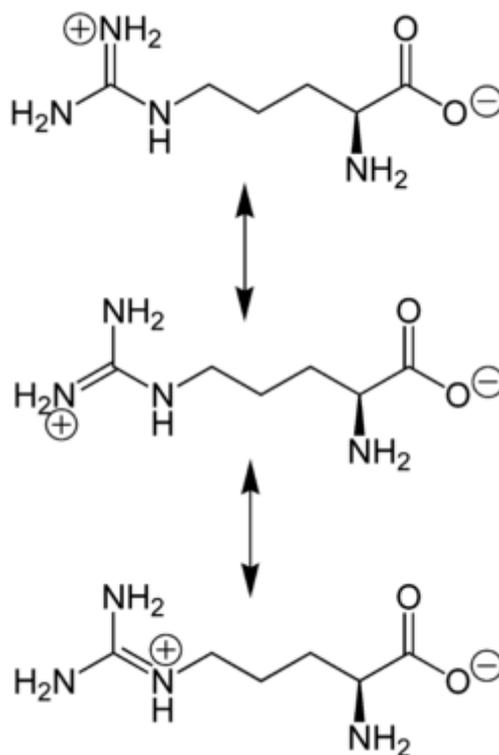
Os peixes possuem vantagens em excretar amônia, pois, este é o composto mais simples dos produtos de excreção e tem o menor peso molecular em relação ao ácido úrico e ureia. Portanto, é facilmente permeável na membrana das brânquias a um baixo custo energético. A amônia dissolve-se facilmente na água e 99% sofre dissociação iônica quando o pH do meio e do sangue estão próximos ao neutro (Hepher, 1988).

Por outro lado, a síntese de ureia demanda energia. Além disso, é necessário água para que ocorra a excreção, o que seria mais limitante em peixes de água salgada, que necessitam conservar a água corporal (Lovell, 1998).

## 1.6 Arginina

A arginina ( $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2$ ) é um  $\alpha$ -aminoácido básico (Wu et al., 2009) que possui caráter anfipático, já que parte da sua cadeia lateral é hidrofóbica mas termina num grupo guanidina, que possui carga positiva na maioria das situações fisiológicas (Rodwell e Kennelly, 2003). Esta carga positiva se encontra deslocalizada (não

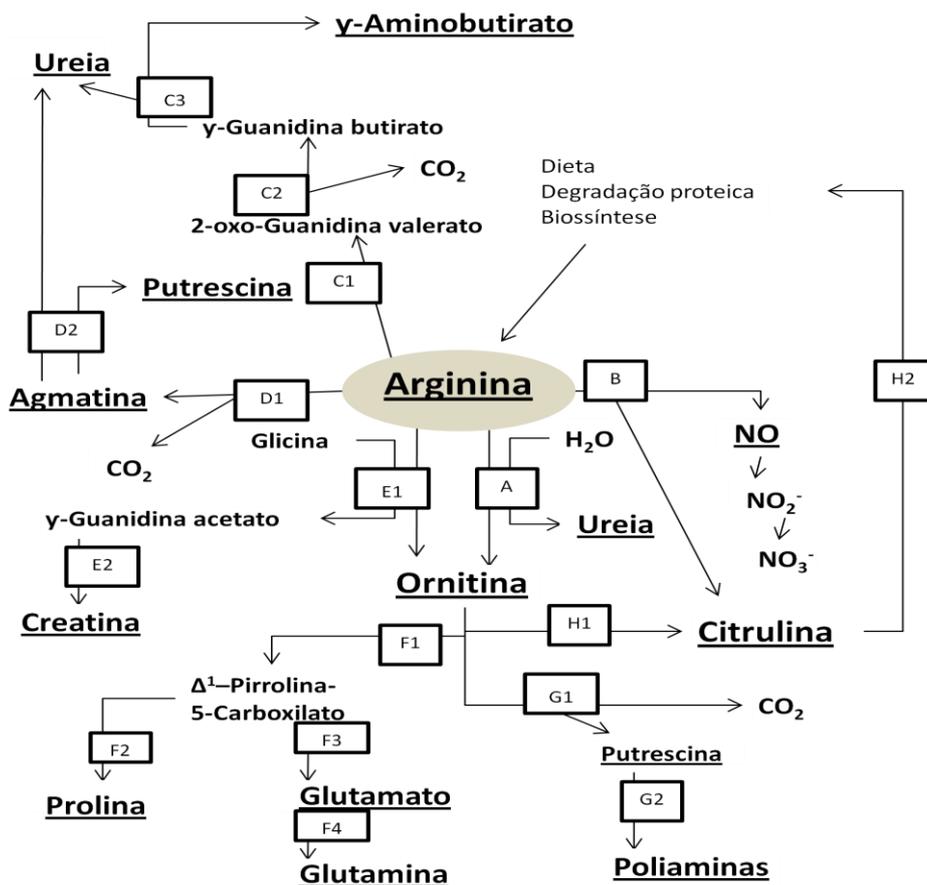
localizada em nenhum ponto específico do grupo guanidina) pela presença de um sistema conjugado entre as ligações duplas e os átomos de nitrogênio (Figura 3).



**Figura 3.** Fórmula estrutural da arginina e suas interconversões. Fonte: Rodwell e Kennelly (2003)

Alimentos de origem marinha, nozes, sementes, carnes e concentrado proteico de soja (Wu et al., 2009) possuem concentração relativamente alta em arginina. Por outro lado, baixos teores (abaixo 2%) são encontrados no milho e seus subprodutos, na quirera de arroz e levedura (Rostagno et al., 2011). A arginina representa cerca de 6% do conteúdo de aminoácidos no músculo estriado esquelético de peixes (Rodrigues et al., 2011).

A arginina é um dos aminoácidos mais versáteis em células animais (Figura 4), servindo como um precursor não somente para a síntese de proteínas, mas para a síntese do óxido nítrico, ureia, poliaminas, prolina, glutamato, creatina e agmatina (Wu e Morris, 1998; Walsh e Mommsen, 2001; D'Mello, 2003a), sendo considerado aminoácido essencial e funcional para organismos aquáticos (Wu, 2009). A arginina pode ainda estimular a secreção de hormônios, como insulina, hormônio do crescimento, glucagon e prolactina (Wu et al., 1997).



**Figura 4.** Arginina como um eixo metabólico. A entrada de arginina ocorre através da dieta, degradação proteica e ciclo da ornitina-ureia (rota H). Cinco rotas de degradação podem ser postuladas, levando a importantes intermediários e produtos finais (palavras sublinhadas). Com exceção da produção de agmatina, evidências da existência de todas as outras vias nos tecidos dos peixes têm sido apresentadas. As cinco vias de degradação são: A = reação da arginase; B = síntese do óxido nítrico (NO); C = via da  $\gamma$ -guanidina butirato; D = rota da agmatina; E = síntese de creatina. A produção de ornitina (rotas A e E) é o ponto inicial para a síntese de outros aminoácidos (rota F) ou poliaminas (rota G), enquanto a produção de óxido nítrico pode levar a produção de nitrito e nitrato. Enzimas individuais são: A = arginase; B = óxido nítrico sintase; C1 = deaminação oxidativa da arginina; C2 = 2-oxo-Guanidina valerato descarboxilase; C3 =  $\gamma$ -guanidina butirato ureia hidrolase; D1 = arginina descarboxilase; D2 = agmatina ureia hidrolase; E1 = arginina:glicina aminotransferase; E2 =  $\gamma$ -guanidina acetato metiltransferase; F1 = ornitina  $\delta$ -aminotransferase; F2 =  $\Delta^1$ -pirrolina-5-carboxilase redutase; F3 =  $\Delta^1$ -pirrolina-5-carboxilase oxidase; F4 = glutamina sintetase; G1 = ornitina descarboxilase; G2 = espermina e espermidina sintetases; H1 = ornitina carbamoil fosfato transferase; H2 = eixo do ciclo ornitina-ureia. Adaptado de Walsh e Mommsen (2001).

A arginina está relacionada como imunomodulador por possuir efeito nas células de vertebrados de grande porte (Moinard et al. 2002). Em conjunto com a glutamina está associada ao aumento na atividade fagocítica dos macrófagos, proliferação de linfócitos, produção de citocinas (grupo de moléculas envolvidas na emissão de sinais entre as células durante o desencadeamento das respostas imune), resposta de linfócitos T (as células brancas), e síntese de imunoglobulinas (Pohlenz et al., 2012a).

A suplementação dietética de arginina e glutamina pode aumentar os mecanismos específicos de defesa celular (sensibilização e transformação dos linfócitos presentes no

rim e baço, em células plasmáticas formadoras de anticorpos) e humoral (imunoglobulinas, anticorpos circulantes que reagem especificamente ao seu respectivo antígeno) e promover a imunidade do bagre do canal (*I. punctatus*) expostos a bactéria *Edwardsiella ictaluri* (Pohlenz et al., 2012b)

Em mamíferos, a glutamina pode ser utilizada para a síntese de purinas, pirimidinas e açúcares, ou pode ser destinada a diferentes vias metabólicas, dentre elas a gliconeogênese e síntese de aminoácidos, como por exemplo, a arginina (Wu, 1998). É classificada como aminoácido condicionalmente essencial, dependendo do estágio de desenvolvimento e *status* sanitário do indivíduo (Morris Jr., 2006). Em mamíferos adultos, a citrulina é liberada do intestino delgado e convertida em arginina principalmente nos rins (Wu, 2009). A síntese endógena de arginina pode fornecer mais de 50% da exigência diária de arginina (Wu et al., 1997).

A direção primária do metabolismo da arginina em mamíferos ocorre via ciclo da ureia, permitindo o escoamento do excesso de nitrogênio proveniente dos aminoácidos. Contudo, a produção de poliaminas e óxido nítrico a partir da arginina são também reconhecidas (D'Mello, 2003b). De acordo com Rodrigues et al. (2011) o ciclo da ureia não é funcional em *Psetta maxima*, a quantidade excretada está relacionada com os níveis de arginina da dieta, sendo que a hidrólise desse aminoácido é a principal via ureogênica.

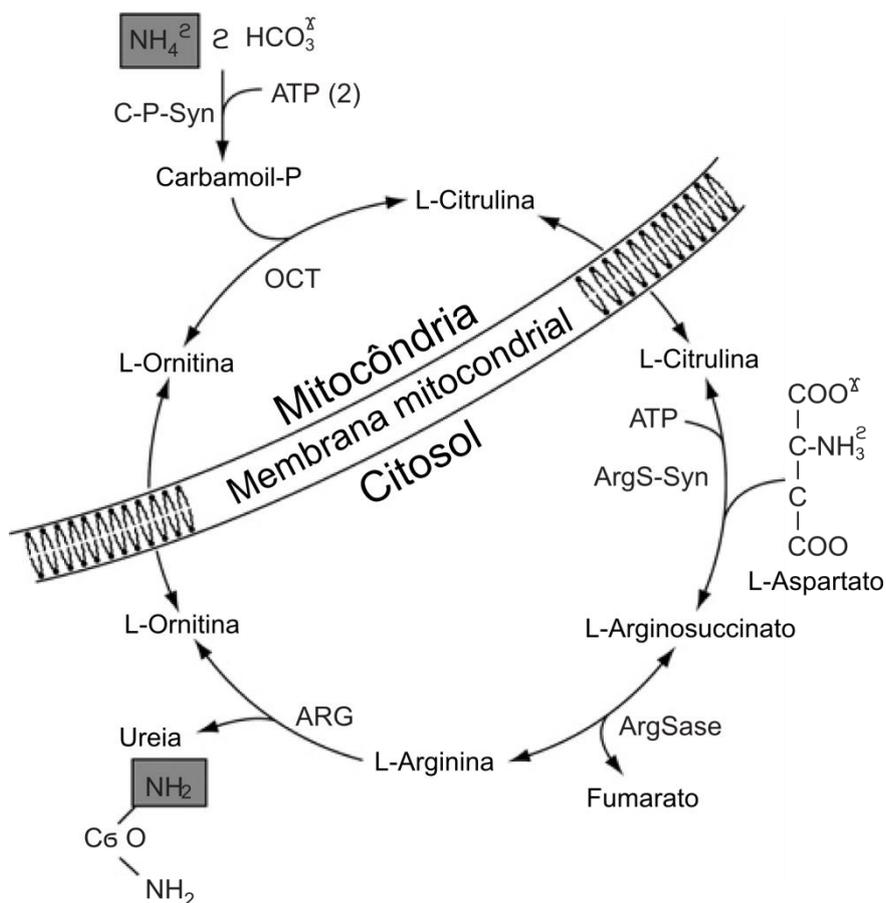
A hidrólise pela enzima arginase, leva à produção de ornitina, um precursor importante na síntese de poliaminas que estão positivamente ligadas com o crescimento dos peixes, enquanto a síntese do óxido nítrico libera óxido nítrico e citrulina (Mommsen et al., 2001). O glutamato pode prover um importante precursor para a síntese endógena em muitas espécies de animais e, portanto, pode afetar as exigências de arginina da dieta (Buentello e Gatlin III, 2000).

De acordo com Li et al. (2009), os peixes possuem alta exigência em arginina por três motivos, por ser um aminoácido abundante na proteína (cadeia de peptídeos), nos fluídos corporais (fosfoarginina, maior reservatório de ATP) e por causa da síntese *de novo* ser limitada ou ausente. De acordo com o NRC (2011), peixes e camarões devem consumir arginina da dieta, porque o ciclo da ureia é praticamente inativo. Exceção são os elasmobrânquios que são capazes de converter a carbamoil fosfatase originária da glutamina, para realizar a síntese da ureia (Anderson, 1980). De acordo com Moraes e Polez, (2004) a atividade da glutamina sintetase é funcional em peixes da família Erythrinidae (traíras) assim como a atividade da carbamoil fosfatase, entretanto, a

conversão de citrulina em arginina ocorre através das enzimas arginosuccinato sintetase e arginosuccinato liase no fígado.

Berge et al. (1997) relataram que a arginase é responsável em converter a arginina até ornitina e ureia. A ornitina pode ainda ser transaminada à prolina, que é importante na síntese de colágeno, ou descarboxilada à putrescina, que é precursora da síntese de poliaminas, moduladores da síntese proteica (Rodrigues et al., 2011). A arginina ainda está relacionada como sendo o substrato para a síntese de óxido nítrico. A reação de oxidação da arginina formando citrulina e óxido nítrico é catalisada pela enzima óxido nítrico sintase em quase todos os tecidos (Jobgen et al., 2006), incluindo adipócitos, cérebro, coração, hepatócitos, músculo-esquelético entre outros.

Nos mamíferos, o passo inicial do ciclo da ureia, que ocorre nos hepatócitos, é a formação de carbamoil fosfato na mitocôndria, a partir de um íon amônio, um íon carbonato e um ATP. Esta etapa, que está sob controle metabólico e é ativada por um aumento da concentração de arginina celular, ocorre quando há um excesso de aminoácidos nos hepatócitos. A carbamoil fosfato combina com a ornitina para formar a citrulina. Este metabólito sai da mitocôndria e combina com o aspartato para formar o arginosuccinato, que se separa em arginina e fumarato. A ureia é então liberada a partir da arginina, formando a ornitina que entra novamente na mitocôndria e o ciclo se repete (Figura 5) (Eckersall, 2008).



**Figura 5.** Ciclo da ureia. Formação de ureia a partir de precursores do aspartato, amônia e bicarbonato, com parte do ciclo em curso na mitocôndria e no citoplasma. Abreviações: C-P-Syn = carbamoil fosfato sintase; OCT = ornitina citrulina transferase; ArgS-Syn = arginosuccinato sintase; ArgSase = arginosuccinase; ARG = arginase. Adaptado de Eckersall, (2008)

Embora existam as enzimas do ciclo da ureia na maioria dos teleósteos (Moraes e Polez, 2004), a excreção de amônia predomina nessas espécies. A habilidade desses animais em produzir a arginina a partir do ciclo da ureia ainda não está totalmente esclarecida (NRC, 2011). Na Tabela 2, estão apresentados os valores de exigência de arginina para diferentes espécies de peixes.

**Tabela 2.** Exigência de arginina de diferentes espécies de peixes, baseado em percentagem da proteína

Espécie	Exigência (% proteína)	Método alimentação	Método estatístico	Fonte
<i>Bidyanus bidyanus</i>	6,8	Dieta purificada	“broken line”	Ngamsnae et al. (1999)
<i>Catla catla</i>	4,80	Dieta purificada	“broken line”	Ravi e Devaraj (1991)
<i>Ictalurus punctatus</i>	3,80	Dieta purificada	“broken line”	Buentello e Gatlin III, 2000)
<i>Chanos chanos</i>	5,25	Dieta purificada	“broken line”	Borlongan (1991)
<i>Micropterus salmoides</i>	4,16	Dieta purificada	“broken line”	Zhou et al. (2012)
<i>Oreochromis niloticus</i>	4,20	Dieta purificada	“broken line”	Santiago e Lovell (1988)
<i>Paralichthys olivaceus</i>	4,08	Dieta purificada	“broken line”	Alam et al. (2002)
<i>Salminus brasiliensis</i>	3,43	Dieta semipurificada	“broken line”	Dairiki (2009)
<i>Salmo salar</i>	4,10	Dieta semipurificada	“broken line”	Lall et al. (1994)

Com relação ao antagonismo que pode ocorrer entre arginina e lisina, o alto nível de lisina da dieta pode causar o efeito inibidor da arginina. Isso pode ocorrer porque esses dois aminoácidos são transportados pelo mesmo carreador de aminoácidos básicos e, portanto, pode haver uma competição inibindo tanto a absorção quanto o seu metabolismo (NRC, 2011).

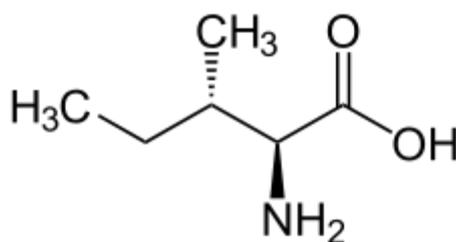
Entretanto, para diferentes espécies de peixes, ainda não há evidências sobre esse efeito, sobretudo em razão de algumas incertezas, como por exemplo, pesquisadores que observaram diminuição da arginina no plasma em resposta ao aumento do nível de lisina da dieta e outros pesquisadores não verificaram qualquer sinal de modificação no crescimento ou níveis plasmáticos (NRC, 2011).

O efeito sinérgico entre arginina e glutamina/glutamato foi verificado por diversos autores que descrevem a ação benéfica no estado sanitário e imune de peixes. Cheng et al. (2012) avaliando a arginina e a glutamina para o híbrido *striped bass* (*Morone*

*Crhysops* x *Morone saxatilis*) verificaram além do aumento no ganho em peso, variações positivas em diversos componentes do sistema imune inato e efeito benéfico da funcionalidade do intestino dessa espécie, mesmo comportamento observado por Cheng et al. (2011) para o peixe *red drum* (*Sciaenops ocellatus*).

### 1.7 Isoleucina

A isoleucina ( $C_6H_{13}NO_2$ ) é um aminoácido neutro da família alifática, ou seja, possui cadeia hidrocarbonada (Duarte, 2009) como observado na Figura 6, que contém cerca de 10,7% de nitrogênio (Kohlmeier, 2003). É essencial e necessário para a síntese de proteínas. Tem importância como combustível energético, especialmente no músculo-esquelético, e em menores concentrações no fígado, intestino e outros órgãos. As fontes de isoleucina são produtos provenientes de leite (6% da proteína), carnes e soja (5% da proteína) e cereais (3 a 4% de proteína).



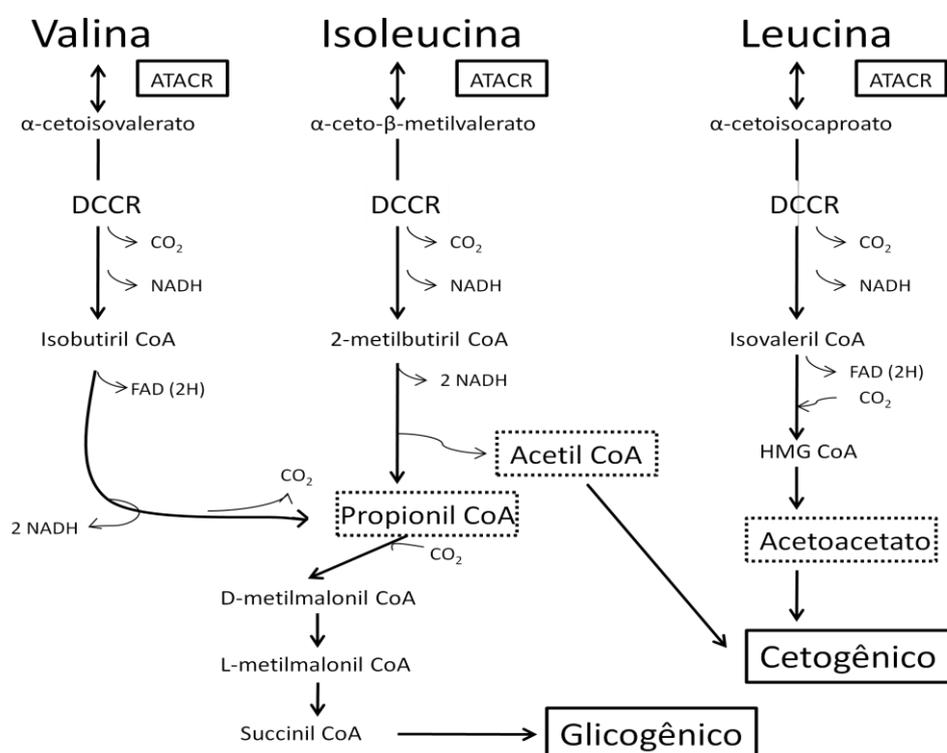
**Figura 6.** Fórmula estrutural da Isoleucina. Fonte: Rodwell (2003)

Faz parte do grupo de aminoácidos de cadeia ramificada (BCAA, *Branched-chain amino acids*), que compreende, além da isoleucina, a leucina e a valina. Este grupo contém cerca de 35% dos aminoácidos indispensáveis à proteína muscular e 40% dos aminoácidos exigidos para os mamíferos (Harper et al., 1984). Esse grupo é responsável por cerca de 50% dos aminoácidos originários da suplementação alimentar, por isso deficiências são difíceis de ser observadas.

Geralmente, em estudos avaliando a nutrição de peixes, a isoleucina aparece conjuntamente com a leucina e valina, e as avaliações são realizadas para determinar exigências desses três aminoácidos. Esses aminoácidos ramificados compreendem 14% do total presente na proteína muscular e diferem dos outros aminoácidos essenciais por serem oxidados primariamente no músculo-esquelético (Ferrando et al., 1995;

Shinomura et al., 2006), e não no fígado, como ocorre com os demais (Ahmed e Khan, 2006).

A isoleucina é considerada um aminoácido glicogênico e cetogênico (é degradada até piruvato ou acetil-coA) (Figura 7) (D'Mello, 2003). É necessária ao organismo para produzir direta ou indiretamente diversos compostos bioquímicos que contribuem para a produção de energia, e junto com os demais aminoácidos ramificados, promovem a construção dos tecidos esqueléticos. Portanto, a isoleucina desempenha um papel central na formação de vários metabólitos e é geralmente concentrada no tecido muscular esquelético (Khan e Abidi, 2007). Diretamente, atua na síntese de glutamina e alanina (Wu, 2009).



**Figura 7.** Catabolismo dos aminoácidos de cadeia ramificada. ATACR = aminotransferase de aminoácidos de cadeia ramificada; DCCR = Regulação do complexo enzimático desidrogenase de α-cetoácidos de cadeia ramificada. Adaptado de Rogero e Tirapegui (2008).

Dentre esses processos bioquímicos, pode se citar a síntese proteica, produção de energia e compartimentação do glutamato, a síntese de neurotransmissores, amina e serotonina e de catecolaminas, dopamina e norepinefrina (provenientes dos aminoácidos aromáticos: triptofano, fenilalanina e tirosina) (Fernstrom, 2005).

Esse grupo de aminoácidos ramificados é necessário para garantir a capacidade de resposta dos linfócitos e exigidos para apoiar outras funções celulares referentes à imunidade (Calder, 2006). Contudo, os estudos avaliando a capacidade da função imunológica da isoleucina, ainda não estão esclarecidos. Entretanto, quando os aminoácidos ramificados são restritos, o organismo é incapaz de sintetizar as proteínas e a ausência suprime a capacidade dos linfócitos em responder aos estímulos que lhes são empregados (Calder, 2006).

O metabolismo dos aminoácidos de cadeia ramificada difere dos demais, além do seu local de metabolização, em três importantes quesitos; 1º) ao invés de ser restrito ao fígado como a maioria dos aminoácidos essenciais, as enzimas catabólicas são distribuídas amplamente pelos tecidos, incluindo o rim, músculo e até mesmo o sistema nervoso central; 2º) os três aminoácidos possuem em comum o mesmo transportador para absorção intestinal e; 3º) o primeiro passo da oxidação de cada um desses aminoácidos é catabolizado por duas enzimas comuns (aminotransferase e desidrogenase), então o organismo metaboliza esses três aminoácidos utilizando o mesmo complexo enzimático (Brosnan e Brosnan, 2006).

Interações nutricionais e metabólicas podem ser verificadas para os três aminoácidos de cadeia ramificada nos animais de sangue quente (Robinson et al., 1984), incluindo, homem, ratos, aves e suínos. Esses mesmos autores verificaram que para o bagre do canal (*I. punctatus*) a leucina pode controlar a absorção e o catabolismo de isoleucina e valina. Isso ocorre porque os três aminoácidos competem pela mesma via metabólica de absorção e transporte ativo (Hughes et al., 1984). Chance et al. (1964) observaram que o excesso de isoleucina em dietas para alevinos de salmão (*O. tshawytscha*) reduz as taxas de crescimento quando administrada junto com uma dieta deficiente em leucina. Entretanto, no NRC (2011) estão relacionados alguns autores que não encontraram efeitos negativos com excesso de leucina na dieta, e, portanto, há o relato que o efeito antagonista não está completamente elucidado.

A maioria dos trabalhos avaliando a inclusão de isoleucina para peixes tem por objetivo determinar a exigência desse aminoácido, contudo, muitos fatores inerentes a esse nutriente ainda não são conhecidos ou totalmente esclarecidos. Na Tabela 3, estão sumarizadas algumas informações com respeito a exigência desse aminoácido para diferentes espécies de peixes.

**Tabela 3.** Exigência de isoleucina de diferentes espécies de peixes, baseado em porcentagem da proteína

Espécie	Exigência (% proteína)	Método alimentação	Método estatístico	Fonte
<i>Catla catla</i>	2,35	Dieta purificada	“broken line”	Ravi e Devaraj (1991)
<i>Chanos chanos</i>	4,00	Dieta purificada	“broken line”	Borlongan e Coloso (1993)
<i>Cirrhinus cirrhosus</i>	3,12	Dieta purificada	“broken line”	Benakappa e Varghese (2003)
<i>Cirrhinus mrigala</i>	3,8	Dieta purificada	Regressão quadrática	Ahmed e Khan (2006)
<i>Ictalurus punctatus</i>	2,96	Dieta purificada	“broken line”	Wilson et al. (1980)
<i>Labeo rohita</i>	3,8 a 3,98	Dieta purificada	Regressão quadrática	Khan e Abidi (2007)
<i>Oreochromis niloticus</i>	3,11	Dieta purificada	“broken line”	Santiago e Lovell (1988)
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	2,58	Dieta semipurificada	Função exponencial	Rodehutschord et al. (1997)

## 1.8 Hematologia em peixes

A piscicultura é uma atividade agropecuária relativamente nova e, portanto, muitos aspectos ainda são totalmente desconhecidos. Um dos desafios é entender o comportamento sanguíneo dos peixes frente a determinada dieta, que pode ter excesso ou deficiência de certo nutriente.

O sangue funciona como um meio de transporte, conduzindo nutrientes do sistema digestório para os tecidos, exceto o epitelial e o cartilaginoso. Por isso, seu estudo é estratégico e necessário para a avaliação do quadro homeostático em peixes (Satake, et al., 2009). Em virtude do grande número de espécies de peixes, dos diferentes ambientes de criação, hábitos alimentares, inexistência de padronização metodológica entre outras condições, pouco se conhece sobre as concentrações normais dos parâmetros bioquímicos e hematológicos, mesmo que alguns estudos tenham mais de 70 anos (Soldatov, 2005).

Entre os estudos que podem ser realizados a partir de coletas sanguíneas, há muitas variáveis que merecem atenção, e, de acordo com Tavares-Dias e Moraes

(2004), os parâmetros relativos a série vermelha identificam os processos anêmicos, por outro lado, o leucograma pode ser utilizado para realizar um diagnóstico dos processos infecciosos.

Entre as variáveis séricas bioquímicas, a proteína total, a glicose, os triglicerídeos, o colesterol total, o colesterol HDL (colesterol de alta densidade, *high density lipoprotein*) e LDL (colesterol de baixa densidade, *low density lipoprotein*), entre outras, parecem estar intimamente relacionadas com a dieta que é fornecida aos animais (Neu et al., 2013).

Recentemente, pesquisadores têm verificado a concentração de alguns compostos no sangue de peixes (Tabela 4), porém as diferenças relacionadas não se restringem apenas a alimentação que esses animais recebem, mas à condição em que foram criados, à espécie e possíveis patologias.

**Tabela 4.** Concentrações de alguns parâmetros bioquímicos do sangue de peixes (valores com variação de mínimo e máximo)

Espécie	Proteínas totais (g.dL <sup>-1</sup> )	Glicose (mg.dL <sup>-1</sup> )	Triglicerídios (mg.dL <sup>-1</sup> )	Colesterol total (mg.dL <sup>-1</sup> )	HDL (mg.dL <sup>-1</sup> )	LDL (mg.dL <sup>-1</sup> )
<i>Arapaima gigas</i> <sup>1</sup>	3,5	48,5	397,6	255,8		
<i>Cyprinus carpio</i> <sup>2</sup>	2,1-5,7	63-86	68-200	65-264		
<i>Oreochromis niloticus</i> <sup>3</sup>	3,9-4,4	53-68	105-171	174-221	50-78	79-143
<i>Rhamdia quelen</i> <sup>4</sup>	3,5-4,9	43-78	138-546	110-240	62-98	10-65
<i>Oncorhynchus mykiss</i> <sup>5</sup>	5,7-6,2		408-479		210-222	83-99
<i>Thunnus thynnus</i> <sup>6</sup>	3,5-7,6	54-169	19-411	101-249	38-150	12-91

<sup>1</sup>Drumond et al. (2010); <sup>2</sup>Nicula et al., (2010); <sup>3</sup>Neu et al. (2013); <sup>4</sup>Borges et al. (2004); <sup>5</sup>Kashkooli et al. (2011); <sup>6</sup>Percin e Konyalioglu (2008)

Dados referentes ao eritrograma, leucograma e trombograma são mais comuns de serem observados e possuem mais informações descritas, tanto para espécies exóticas como nativas. Tavares-Dias e Moraes (2004) realizaram um levantamento e agruparam

os dados por tipo de ambiente (natural ou cativeiro), sexo (machos e fêmeas) e relação com parasitismo para diversas espécies de peixes, tanto de água doce como marinha.

Os leucócitos fazem parte do sistema imune do organismo e os trombócitos são células com papel importante no processo de coagulação sanguínea (Correa Negrete et al., 2009). Os eritrócitos são as células mais abundantes e possuem função de transporte de oxigênio e gás carbônico. Segundo Correa Negrete et al. (2009) a diferença entre as espécies está mais relacionada com o metabolismo de cada organismo, e em geral, quanto maior o número de eritrócitos, maior o grau de especialização dos peixes (Tavares-Dias e Moraes, 2004).

A análise dos parâmetros bioquímicos pode ajudar a explicar o quadro geral de saúde dos animais (Agrahari et al., 2007), que pode ser afetado por perturbações de cunho ambiental, patogênico, ou mesmo ser relativo à espécie em questão. Intrinsecamente, podem ocorrer alterações instantâneas em algumas variáveis devido às manipulações sofridas pelos peixes (Velisek et al., 2011).

A concentração de glicose plasmática está associada ao estresse (Tavares-Dias e Moraes 2010) que o peixe pode sofrer no momento da manipulação, e a mesma é referida como uma variável secundária em resposta a essas situações, quando ocorre a canalização das ações e efeitos das catecolaminas e corticosteroides em nível sanguíneo e de tecidos, incluindo a mobilização de substratos de energia (Lima et al., 2006). A glicose é, portanto, regulada por interações complexas de hormônios como glucagon e cortisol (Agrahari et al., 2007).

O colesterol está presente em todos os alimentos de origem animal, e possui função vital no organismo, pois é essencial para as membranas celulares, sucos digestivos, vitamina D, entre outros fatores. O “colesterol bom” (HDL – colesterol de alta densidade – *high density lipoprotein*) atua no organismo carregando o colesterol dos tecidos para o fígado em que o mesmo é degradado. Por outro lado o “colesterol ruim” (LDL – colesterol de baixa densidade – *low density lipoprotein*) quando em altas quantidades, pode fazer com que ocorra a formação de placas nas paredes internas das coronárias (Brandão et al., 2005).

Os triglicerídeos são compostos por três ácidos graxos mais uma molécula de glicerol, são os principais lipídios do tecido adiposo e a forma mais importante de armazenamento de gordura corporal (Labarrère, 2011). Sua concentração no organismo pode variar de acordo com as fontes alimentares fornecidas na dieta dos peixes. Melo et al. (2006) observaram que níveis altos de proteína podem fazer com que se reduza a

concentração de triglicérides no sangue de jundiás (*Rhamdia quelen*), isso pode estar relacionado à adaptações bioquímicas na via da glicólise e gliconeogênese para manter os processos de obtenção de energia.

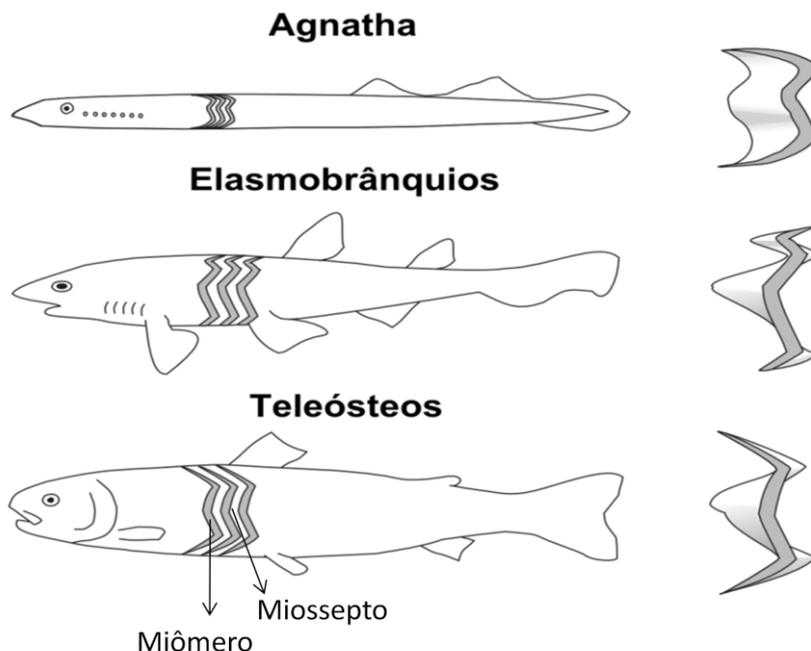
A ureia presente no sangue é uma avaliação da função renal. A ureia é um coproduto originado do metabolismo proteico pelo fígado e removido a partir do sangue pelos rins (Eckersall, 2008). Embora a maioria dos peixes excretem amônia como produto final, todos os peixes são ureogênicos.

Todos esses parâmetros auxiliam na compreensão do estado fisiológico do animal. Alguns geralmente não se modificam fortemente entre as diferentes espécies, outros, porém variam em função da alimentação recebida. Entretanto, mais informações são necessárias para que se possa determinar valores de referências de diferentes compostos no sangue de peixes.

## **1.9 Músculo estriado esquelético**

O tecido muscular estriado esquelético é formado por células especializadas, as fibras musculares, que são alongadas e multinucleadas, com núcleos periféricos, localizados abaixo da membrana plasmática (Dal Pai-Silva et al., 2005). A maior parte do sarcoplasma das fibras musculares é constituída por filamentos contráteis, as miofibrilas, que apresentam estriações transversais decorrentes da organização das proteínas e filamentos contráteis em unidades de contração, denominadas sarcômeros (Huxley, 1969).

Na maioria das espécies de peixes, a musculatura estriada esquelética está organizada em unidades morfofuncionais, os miômeros, que se repetem ao longo do corpo do animal, e são separados por bainhas de tecido conjuntivo, os miosseptos (Alexander, 1969) (Figura 8). Os miosseptos transmitem, através dos tendões, a força de contração das fibras musculares para o esqueleto axial e a nadadeira caudal, resultando na ondulação e propulsão do corpo (Sänger e Stoiber, 2001).



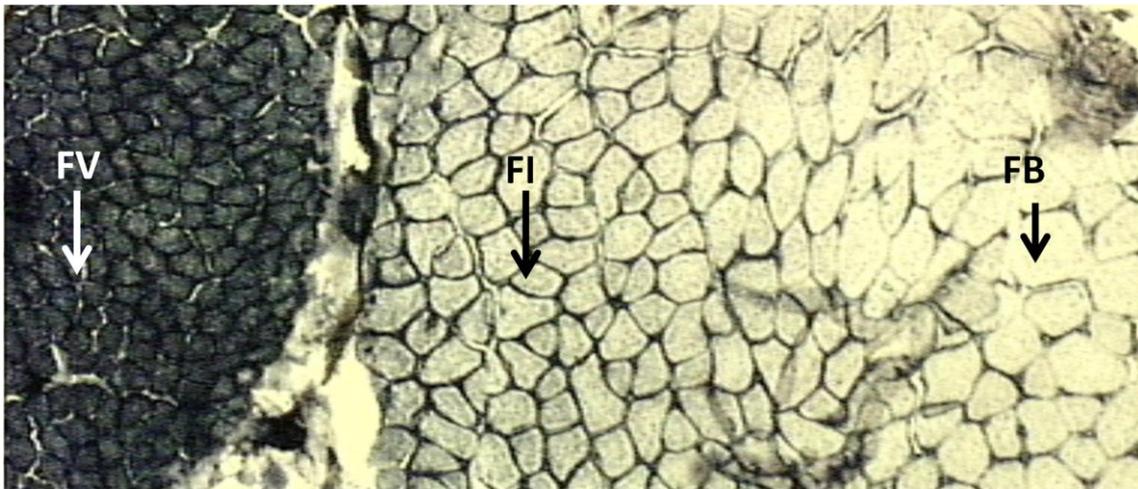
**Figura 8.** Estrutura dos miômeros do músculo lateral. No lado direito são mostrados os miômeros isolados. Adaptado de Altringhan e Ellerby (1999). O formato dos miômeros varia entre os peixes.

No músculo-esquelético dos peixes são evidenciados três tipos de fibras musculares organizadas nos compartimentos vermelho (superficial), intermediário e branco (profundo) (van Raamsdonk et al., 1978, 1980; Johnston, 1981) (Figura 9), cada um desses compartimentos possui funções e características distintas.

O compartimento vermelho, normalmente, corresponde a menos de 10% e nunca excede 30% de toda a musculatura (Greer-Walker e Pull, 1975; Sanger e Stoiber, 2001). Na maioria das especies, aparece na regiao do nervo da linha lateral, em que assume um formato triangular (Hoyle et al., 1986; Sanger e Stoiber, 2001). Esse compartimento é formado por fibras musculares vermelhas, de contraao lenta e metabolismo oxidativo. As fibras vermelhas apresentam pequeno diâmetro (entre 25 e 45  $\mu\text{m}$ ), grande quantidade de capilares sanguíneos, grande concentraao de mioglobina, grande quantidade de mitocondrias e muitas gotículas de lipídios (Bone, 1978; Johnston, 1981; Sanger e Stoiber, 2001). As fibras vermelhas sao recrutadas durante a realizaao de movimentos lentos e de sustentaao, como a migraao (Johnston et al., 1977; Bone, 1978).

O compartimento branco corresponde de 70 a 90% do volume total do tecido muscular (Weatherley e Gill, 1989; Kilariski, 1990). É formado por fibras musculares brancas, de contraao rápida e metabolismo glicolítico (Driedzic e Hochachka, 1976). Quando comparadas às fibras vermelhas, as fibras brancas apresentam maiores

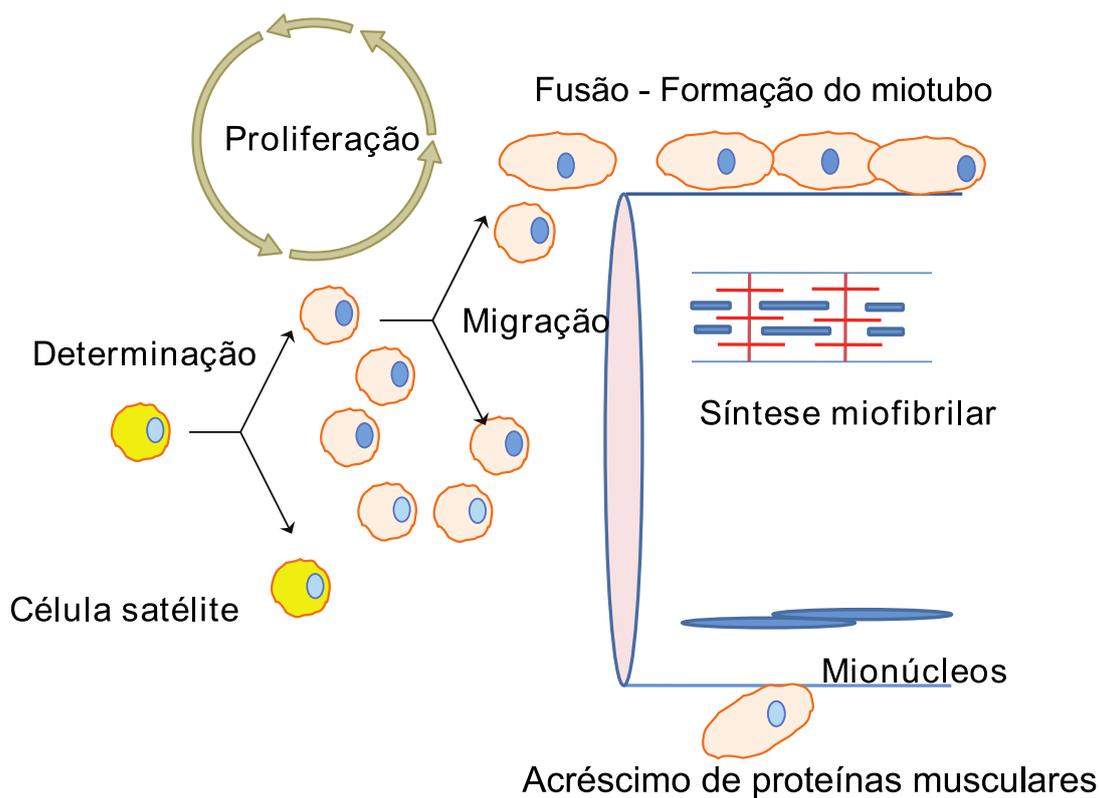
diâmetros (entre 50 e 100  $\mu\text{m}$ ), menor quantidade de capilares sanguíneos, baixa concentração de mioglobina, poucas mitocôndrias e poucas gotículas de lipídios (Driedzic e Hochachka, 1976; Bone, 1978; Sanger e Stoiber, 2001). Esse tipo de musculatura  recrutado nos movimentos bruscos de natação, como a captura de alimento e fuga de predadores (Johnston et al., 1977; Bone, 1978). Esse compartimento apresenta importância na aquicultura, constituindo a principal parte comestível dos peixes (Zhang et al., 1996).



**Figura 9.** Fotomicrografia do tecido muscular de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) evidenciando as fibras vermelhas (FV), intermediárias (FI) e fibras brancas (FB). Reação NADH. (Fonte: Furuya et al., 2005).

Entre os compartimentos vermelho e branco, encontra-se o compartimento intermediário (musculatura intermediária), com fibras que apresentam propriedades morfofisiológicas intermediárias entre as das fibras musculares brancas e vermelhas, como contração rápida e metabolismo oxidativo/glicolítico (Johnston et al., 1977; Sanger e Stoiber, 2001).

Nos peixes, o crescimento muscular ocorre por meio da ativação, proliferação e diferenciação das células satelites, localizadas entre a lâmina basal e a membrana plasmática da fibra muscular (Mauro, 1961; Campion, 1984; Koumans e Akster, 1995; Johnston, 1999). O crescimento muscular pode ocorrer por mecanismos de hiperplasia e hipertrofia das fibras musculares. Na hiperplasia, as células satelites ativadas sofrem fusão, resultando na formação de novas fibras musculares. Na hipertrofia, as células satelites ativadas se fundem com fibras musculares existentes, aumentando o número de núcleos para maior síntese de miofibrilas, levando ao aumento na área da fibra muscular (Koumans e Akster, 1995; Johnston, 1999; Rowleron e Veggetti, 2001) (Figura 10).



**Figura 10.** Mecanismos de crescimento muscular por hiperplasia e hipertrofia em peixes. As células satélites são ativadas, proliferam e podem se fundir entre si para formar uma nova fibra muscular (hiperplasia) ou podem sofrer fusão com uma fibra muscular, aumentando a síntese de proteínas musculares para aumentar a área dessa célula (adaptado de Johnston et al., 2011)

Nos peixes, as contribuições da hiperplasia e hipertrofia para o crescimento muscular são variáveis, dependendo da fase de crescimento e da espécie considerada. Nas espécies que atingem um tamanho final de poucos centímetros, o crescimento muscular envolve principalmente a hipertrofia de fibras formadas na fase embrionária e o período de hiperplasia é mais curto. Nas espécies que atingem um tamanho final maior, como aquelas de interesse comercial, novas fibras musculares são continuamente recrutadas em todas as fases do crescimento (Weatherley et al., 1988; Alami-Durante et al., 1997; Rowleson e Veggetti, 2001).

O crescimento muscular pode ser influenciado por vários fatores externos, como a nutrição (Koumans e Akster, 1995) que pode aumentar a concentração e disponibilidade de aminoácidos, aumentando a taxa anabólica e a massa muscular (Brown e Cameron, 1991a, b; Houlihan et al., 1995). Alguns estudos têm mostrado a relação entre a suplementação de aminoácidos na dieta com o crescimento muscular. Aguiar et al. (2005) mostraram que diferentes níveis de lisina na ração promovem o aumento da taxa de hiperplasia em larvas de tilápia do Nilo. Leitão et al. (2011) mostraram que náuplios

de *Artemia* são a alimentação mais adequada para larvas de pacu, promovendo nesses animais maior crescimento muscular. Poucos trabalhos têm mostrado a associação entre aminoácidos e o crescimento muscular nas fases pós-larval, principalmente em espécies de interesse comercial no Brasil, como a tilápia do Nilo. Portanto, estudos são necessários para elucidar o comportamento muscular dos peixes quando fornecido em sua dieta nutrientes funcionais que podem proporcionar crescimento ao organismo.

### **1.10 Arginina e musculatura dos peixes**

Alguns aminoácidos podem ser requeridos para o crescimento muscular. Nos peixes, a taxa de crescimento está diretamente relacionada com o crescimento da musculatura estriada esquelética que corresponde a maior parte da massa corporal (Almeida, 2011). A partição de nutrientes específicos para cada tecido é modulada pela ação de vários hormônios e seus receptores, que por sua vez atuam sobre a síntese de enzimas reguladoras dos processos anabólicos e catabólicos dos tecidos (Fernandes, 2007).

A arginina, de acordo com Adrião et al. (2004) estimula a expressão do gene do hormônio do crescimento (GH) em ratos, isso pode ocorrer pois a secreção do hormônio do crescimento inibe a liberação de somatostatina endógena (Collier et al., 2006). McConell (2007) relatou que para humanos, a arginina tem papel importante na secreção do hormônio do crescimento e da insulina, bem como sendo um vasodilatador que é induzido a partir do óxido nítrico. Nicastro et al. (2008) demonstraram em sua revisão, para humanos, que o aumento da secreção do GH ocorre a partir da nutrição com arginina. Fernandes (2007) citou que existem trabalhos atribuindo à arginina o papel de coadjuvante na secreção do GH.

Entretanto, ainda há algumas lacunas a serem preenchidas e mais estudos são necessários para verificar o efeito que a arginina ou qualquer outro aminoácido pode exercer sobre o crescimento da musculatura de peixes, principalmente considerando as contribuições de hiperplasia e hipertrofia para esse crescimento.

### 1.11 Referências bibliográficas

ADRIÃO, M.; CHRISMAN, C.J.; BIELAVSKY, M.; OLINTO, S.C.; SHIRAIISHI, E.M.; NUNES, M.T. Arginine increases growth hormone gene expression in rat pituitary and GH3 cells. **Neuroendocrinology**, v. 79, n. 1, p. 26-33, 2004.

AGRAHARI, S.; PANDEY, K.C.; GOPAL, K. Biochemical alteration induced by monocrotophos in the blood plasma of fish, *Channa punctatus* (Bloch). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 88, p. 268-272, 2007.

AGUIAR, D.H.; BARROS, M.M.; PADOVANI, C.R.; PEZZATO, L.E.; DAL PAI-SILVA, M. Growth characteristics of skeletal muscle tissue in *Oreochromis niloticus* larvae fed on a lysine supplemented diet. **Journal of Fish Biology**, v. 67, p. 1-12, 2005.

AHMED, I.; KHAN, M.A. Dietary branched-chain amino acid valine, isoleucine and leucine requirements of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). **British Journal of Nutrition**, v. 96, p. 450-460, 2006.

ALAM, M.S.; TESHIMA, S.I.; KOSHIO, S.; ISHIKAWA, M. Arginine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* estimated by growth and biochemical parameters. **Aquaculture**, v. 205, p. 127-140, 2002.

ALAMI-DURANTE, H.; FAUCONNEAU, B.; ROUEL, M.; ESCAFFRE, A.M.; BERGOT, P. Growth and multiplication of white skeletal muscle fibres in carp larvae in relation to growth rate. **Journal of Fish Biology**, v. 50, p. 1285-1302, 1997.

ALEXANDER, R. The orientation of muscle in the myomers of fishes. **Journal of the Marine Biological Association**, v. 49, p. 263-290, 1969.

ALMEIDA, F.L.A. **Expressão gênica de fatores que controlam o crescimento muscular do pacu (*Piaractus mesopotamicus*)**. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia - UNICAMP. Tese doutorado (Biologia celular e estrutural). 2011, 127p.

ALTRINGHAM, J.D.; ELLERBY, D.J. Fish swimming: patterns in muscle function. **The Journal of Experimental Biology**, v. 202, p. 3397-3403, 1999.

ANDERSON, P.M. Glutamine and N-acetylglutamate-dependent carbamoyl phosphate synthetase in elasmobranchs. **Science**, v. 208, p. 291-293, 1980.

APPLEYARD, S.A.; RENWICK, J.M.; MATHER, P.B. Individual heterozygosity levels and relative growth performance in *Oreochromis niloticus* (L.) cultured under Fijian conditions. **Aquaculture Research**, v. 32, p. 287-296, 2001.

ASH, R. Protein digestion and absorption. In: COWEY, C.B., MACKIE, A.M., BELL, J.G. **Nutrition and feeding fish**. London: Academic Press, 1985, p. 69-94.

ATTAYDE, J.L.; OKUM, N.; BRASIL, J.; MENEZES, R.; MESQUITA, P. Impactos da introdução de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, sobre a estrutura trófica dos ecossistemas aquáticos do bioma caatinga. **Oecologia Brasiliensis**, v. 11, n. 3, p. 450-461, 2007.

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Santa Maria: UFSM, 2002. 212p.

BENAKAPPA, S.; VARGHESE, T.J. Isoleucine, leucine and valine requirement of juvenile Indian major carp, *Cirrhinus cirrhosus* (Bloch, 1975). **Acta Ichthyologica et Piscatoria**, v. 33, n. 2, p. 161-172, 2003.

BERGE, G.E.; LIED, E.; SVEIER, H. Nutrition of Atlantic salmon (*Salmo salar*): The requirement and metabolism of arginine. **Comparative Biochemistry and Physiology: Part A, Physiology**, v. 117, n. 4, p. 501-509, 1997.

BOMBARDELLI, R.A.; MEURER, F.; SYPPERRECK, M.A. Metabolismo proteico em peixes. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar**, v. 7, n. 1, p. 69-79, 2004.

BONE, Q. Locomotor muscle. In: HOAR, W.S., RANDALL, D.J. (Eds.), *Fish Physiology*. Academic Press, New York, 1978. pp. 361-424.

BORGES, A.; SCOTTI, L.V.; SIQUEIRA D.R.; JURINITZ, D.F.; WASSERMANN, G.F. Hematologic and serum biochemical values for jundiá (*Rhamdia quelen*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 30, p. 21-25, 2004.

BORLONGAN, I.G. Arginine and threonine requirements of milkfish (*Chanos chanos* Forsskal) juveniles. **Aquaculture**, v. 93, p. 313-322, 1991.

BORLONGAN, I.G.; COLOSO, R.M. Requirements of juvenile milkfish (*Chanos chanos* Forsskal) for essential amino acids. **The Journal of Nutrition**, v. 123, p. 125-132, 1993.

BOSCARDIN, N.R. Potencial para o desenvolvimento da aquicultura no Brasil. In: OSTRENSKY, A.; BORGUETTI, J.R.; SOTO, D. **Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer**. Brasília, 2008. 276 p.

BOTARO, D.; FURUYA, W.M.; SILVA, L.C.R.; SANTOS, L.D.; SILVA, T.S.C.; SANTOS, V.G. Redução da proteína da dieta com base no conceito de proteína ideal para tilápias-do-nylo (*Oreochromis niloticus*) criadas em tanques-rede. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 3, p. 517-525, 2007.

BRANDÃO, P.A.; COSTA, F.G.P.; BARROS, L.R.; NASCIMENTO, G.A.J. Ácidos graxos e colesterol na alimentação humana. **Agropecuária Técnica**, v. 26, n. 1, p. 5-14, 2005.

BROSNAN, J.T.; BROSNAN, M.E. Branched-chain amino acids: enzyme and substrate regulation. **The Journal of Nutrition**, v. 136, p. 207-211, 2006.

BROWN, C.R.; CAMERON, J.N. The induction of specific dynamic action in Channel catfish by infusion of essential amino acids. **Physiological and Biochemical Zoology**, v. 64, p. 276-297, 1991a.

BROWN, C.R.; CAMERON, J.N. The relationship between specific dynamic action (SDA) and protein synthesis rates in the Channel catfish. **Physiological and Biochemical Zoology**, v. 64, p. 298-309, 1991b.

BUENTELLO, J.A.; GATLIN III, D.M. The dietary arginine requirement of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) is influenced by endogenous synthesis of arginine from glutamic acid. **Aquaculture**, v. 188, p. 311-321, 2000.

CALDER, P.C. Branched-chain amino acids and immunity. **The Journal of Nutrition**, v. 136, p. 288-293, 2006.

CAMPION, D.R. The muscle satellite cells. **International Review of Cytology**, v. 87, p. 225-251, 1984.

CASTAGNOLLI, N. **Piscicultura de água doce**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. 189p.

CHANCE, R.E.; MERTZ, E.T.; HALVER, J.E. Nutrition of salmonoid fishes: Isoleucine, leucine, valine and phenylalanine requirements of Chinook salmon and interrelations between isoleucine and leucine for growth. **The Journal of Nutrition**, v. 83, p. 177-185, 1964.

CHENG, Z.; BUENTELLO, A.; GATLIN III, D.M. Effects of dietary arginine and glutamine on growth performance, immune responses and intestinal structure of red drum, *Sciaenops ocellatus*. **Aquaculture**, v. 319, p. 247-252, 2011.

CHENG, Z.; GATLIN III, D.M.; BUENTELLO, A. Dietary supplementation of arginine and/or glutamine influences growth performance, immune responses and intestinal morphology of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*). **Aquaculture** v. 362-363, p. 39-43, 2012.

COLLIER, S.R.; COLLINS, E.; KANALEY, J.A. Oral arginine attenuates the growth hormone response to resistance exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 101, p. 848-852, 2006.

CORREA NEGRETE, J.C.; GARRIDO CORREA, A.A.; PRIETO GUEVARA, M.J.; ATENCIO GARCÍA, V.J.; PARDO CARRASCO, S.C. Caracterización de células sanguíneas y parâmetros hematológicos em blanquillo *Sorubim cuspicaudus*. **Zootecnia Tropical**, v. 27, n. 4, p. 393-405, 2009.

DAIRIKI, J.K. **Exigência em aminoácidos e farelo de soja na nutrição de juvenis de dourado *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816)**. Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Tese (Agronomia). 2009. 137p.

DAL PAI-SILVA, M.; DAL PAI, V.; CARVALHO, R.F. Célula Muscular Estriada Esquelética. In: CARVALHO, H.F.; COLLARES-BUZATO, C.B. (Eds.). **Células: uma abordagem multidisciplinar**. São Paulo: Manole. 2005.pp. 83-94.

D'MELLO, J.P.F. Amino acids as multifunctional molecules. In: D'MELLO, J.P.F. **Amino acids in animal nutrition**. London: Cabi Publishing. 2003a. 513p.

D'MELLO, J.P.F. Conclusions. In: D'MELLO, J.P.F. **Amino acids in animal nutrition**. London: Cabi Publishing. 2003b. 485-501p.

DRIEDZIC, W.R.; HOCHACHKA, P.W. Control of energy metabolism in fish white muscle. **The American Journal of Physiology**, v. 230, p. 579-582, 1976.

DRUMOND, G.V.F.; CAIXEIRO, A.P.A.; TAVARES-DIAS, M.; MARCON, J.L.; AFFONSO, E.G. Características bioquímicas e hematológicas do pirarucu *Arapaima gigas* Schinz, 1822 (Arapaimidae) de cultivo semi-intensivo na Amazônia. **Acta Amazonica**, v. 40, n. 3, p. 591-596, 2010.

DUARTE, K.F. **Crerios da avaliao das exigencias em treonina, triptofano, valina e isoleucina para frangos de corte de 22 a 42 dias de idade**. Universidade Estadual Paulista. Tese (Doutorado em Zootecnia). Jaboticabal - SP.2009. 138 p.

ECKERSALL, P.D. Proteins, proteomics, and the dysproteinemias. In: KANECO, J.J.; HARVEY, J.H.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. London: Elsevier. 2008. p. 117-156.

FAUCONNEAU, B. Protein synthesis and protein deposition in fish. In: COWEY, C.B., MACKIE, A.M., BELL, J.G. **Nutrition and feeding fish**. London: Academic Press, 1985, p. 17-45.

FERNANDES, J.I.L. **Efeito da suplementao de arginina e lisina sobre o crescimento, imunidade e metabolismo muscular e osseo de frangos de corte**. Universidade Estadual de Maringá. Tese (Doutorado em Zootecnia). Maringá, PR. 2007. 167p.

FERNSTROM, J.D. Branched-chain amino acids and brain function. **The Journal of Nutrition**, v. 135, p. 1539-1546, 2005.

FERRANDO, A.A.; WILLIAMS, B.D.; STUART, C.A. LANE, H.E.; WOLF, R.R. Oral branched chain amino acids decrease whole-body proteolysis. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 19, p. 47-54, 1995.

FERREIRA, P.M.F.; BARBOSA, J.M.; SANTOS, E.L.; SOUZA, R.N.; SOUZA, S.R. Avaliação do consumo de oxigênio da tilápia do Nilo submetidas a diferentes estressores. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, v. 6, n. 1, p. 56-62, 2011.

FIGUEIREDO JÚNIOR, C.A.; VALENTE JÚNIOR, A.S. Cultivo de tilápias no Brasil, origens e cenário atual. In: **XLVI Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural**, Rio Branco, AC, 2008.

FURUYA, W.M.; BOTARO, D.; MACEDO, R.M.G.; SANTOS, V.G.; SILVA, L.C.R.; SILVA, T.C.; FURUYA, V.R.B.; SALES, P.J.P. Aplicação do conceito de proteína ideal para redução dos níveis de proteína em dietas para tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 5, p. 1433-1441, 2005.

FURUYA, W.M. **Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias**. Toledo:GFM, 2010. 100p.

GAMA, C.S. A criação de tilápia no estado do Amapá como fonte de risco ambiental. **Acta Amazonica**, v. 38, n. 3, p. 525-530, 2008.

GREER-WALKER, M.; PULL, G.A. A survey of red and white muscle in marine fish. **Journal of Fish Biology**, v. 7, p. 295-300, 1975.

GROSELL, M.; FARRELL, A.P.; BRAUNER, C.J. **The multifunctional gut of fish**. San Diego: Academic Press, 2011, 448p.

GUILLAUME, J.; KAUSHIK, S.; BERGOT, P.; MÉTAILLER, R. **Nutrition and feeding of fish and crustaceans**. Cornwall: Praxis Publishing Ltd. 2001. 408p.

HARPER, A.E.; MILLER, R.H.; BLOCK, K.P. Branched-chain amino acid metabolism. **Annual Review of Nutrition**, v. 4, p. 409-454, 1984.

HEPHER, B. **Nutrition of pond fishes**. Cambridge: Cambridge University Press, 1988, 307p.

HOULIHAN, D.F.; PEDERSEN, B.H.; STEFFENSEN, J.F.; BRECHIN, J. Protein synthesis, growth and energetics in larval herring (*Clupea harengus*) at different feeding regimes. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 14, p. 195–208, 1995.

HOYLE, J.; GILL, H.S.; WEATHERLEY, A.H. Histochemical characterization of myotomal muscle in the grass pickrel, *Esox americanus vermiculatus* (LeSueur) and the muscle kellunge, *E. masquinongy* (Mitchill). **Journal of Fish Biology**, v. 28, p. 393-401, 1986.

HUGHES, S.G.; RUMSEY, L.J.; NESHEIM, M.C. Effects of dietary excesses of branched-chain amino acids on the metabolism and tissue composition of lake trout (*Salvelinus namaycush*). **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Physiology**, v. 78, n. 3, p. 413-418, 1984.

HUXLEY, H.E. The mechanism of muscular contraction. **Science**, v. 164, p. 1356-1365, 1969.

ISMIÑO-ORBE, R.A.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; GOMES, L.C. Excreção de amônia por tambaqui (*Colossoma macropomum*) de acordo com variações na temperatura da água e massa do peixe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, p. 1243-1247, 2003.

JOBGEN, W.S.; FRIED, S.K.; FU, W.J.; MEININGER, C.J.; WU, G. Regulatory role for the arginine-nitric oxide pathway in metabolism of energy substrates. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 17, p. 571-588, 2006.

JOHNSTON, I.A.; DAVISON, W.; GOLDSPINK, G. Energy metabolism of carp swimming muscles. **Journal of Comparative Physiology**, v. 114, p. 203-216, 1977.

JOHNSTON, I.A. Quantitative analysis of muscle breakdown during starvation in the marine flat fish *Pleuronectes platessa*. **Cell and Tissue Research**, v. 214, p. 369-379, 1981.

JOHNSTON, I.A. Muscle development and growth: potential implication for flesh quality in fish. **Aquaculture**, v. 177, p. 99-115, 1999.

JOHNSTON I.A. **Muscle development and growth**. San Diego: Academic Press, 2011. 331p.

JOHNSTON, I.A.; BOWER, N.I.; MACQUEEN, D.J. Growth and the regulation of myotomal muscle mass in teleost fish. **The Journal of Experimental Biology**, v. 214, p. 1617-1628, 2011.

KASHKOOLI, O.B.; DORCHEH, E.E.; MAHBOOBI-SOOFIANI, N.; SAMIE, A. Long-term effects of propolis on serum biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, p. 315-318, 2011.

KHAN, M.A.; ABIDI, S.F. Dietary isoleucine requirement of fingerling Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton). **Aquaculture Nutrition**, v. 13, p. 424-430, 2007.

KILARSKI, W. Histochemical characterization of myotomal muscle in the roach, *Rutilus rutilus* (L). **Journal of Fish Biology**, v. 36, p. 353-362, 1990.

KOHLMEIER, M. **Amino acids and nitrogen compounds. Nutrient Metabolism**. London: Academic Press, 2003. p. 244-456.

KOUMANS, J.T.M.; AKSTER, H.A. Myogenic cells in development and growth of fish. **Comparative Biochemistry and Physiology: Part A: Physiology**, v. 110, 3-20, 1995.

KUBITZA, F. A evolução da tilapicultura no Brasil: produção e mercados. **Panorama da Aquicultura**, v. 13, n. 76, p. 25-35, 2003.

LABERRÈRE, C.R. **Perfil sanguíneo de híbridos de surubim (*Pseudoplatystoma reticulatum* X *P. corruscans*) criados em diferentes densidades de estocagem**. Universidade Federal de Minas Gerais. Dissertação. (Veterinária). 2011. 62p.

LALL, S.P.; KAUSHIK, S.J.; LE BAIL, P.Y.; KEITH, R.; ANDERSON, J.S.; PLISETSKAYA, E. Quantitative arginine requirement of Atlantic salmon (*Salmo salar*) reared in sea water. **Aquaculture**, v. 124, p. 13-25, 1994.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios da bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 1995. 1124p.

LEITÃO, N.J.; PAI-SILVA, M.D.; ALMEIDA, F.L.A.; PORTELLA, M.C. The influence of initial feeding on muscle development and growth in pacu *Piaractus mesopotamicus* larvae. **Aquaculture**, v. 315, p. 78-85, 2011.

LI, P.; MAI, K.; TRUSHENSKI, J.; WU, G. New developments in fish amino acids: toward functions and environmentally oriented aquafeeds. **Amino Acids**, v. 37, p. 43-53, 2009.

LIMA, L.C.; RIBEIRO, L.P.; LEITE, R.C.; MELO, D.C. Estresse em peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 30, n. 3/4, p. 113-117, 2006.

LOPERA-BARRERO, N.M.; RIBEIRO, R.P.; POVH, J.A.; VARGAS MENDEZ, L.D.; POVEDA-PARRA, A.R.; DIGMAYER, M. As principais espécies produzidas no Brasil. In: LOPERA-BARRERO, N.M.; RIBEIRO, R.P.; POVH, J.A.; VARGAS MENDEZ, L.D.; POVEDA-PARRA. **Produção de organismos aquáticos: uma visão geral no Brasil e no mundo**. Guaíba: Agrolivros, 2011. p. 143-206.

LOVELL, T. **Nutrition and feeding of fish**. New York: Van Nostrand Reinhold. 1988. 260p.

LOVELL, T. **Nutrition and feeding of fish**. Massachusetts: Kluwer Academic Publishers, 1998. 271p.

MAURO, A. Satellite cell of skeletal muscle fibers. **The Journal of Biophysical and Biochemical Cytology**, v. 9, p. 493-494, 1961.

MCCONELL, G.K. Effects of L-arginine supplementation on exercise metabolism. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 10, p. 46-51, 2007.

MCLEAN, E.; DONALDSON, E.M. Absorption of bioactive proteins by the gastrointestinal tract of fish: a review. **Journal of Aquatic Animal Health**, v. 2, p. 1–11, 1990.

MELO, J.F.B.; TAVARES-DIAS, M.; LUNDESTEDT, L.M.; MORAES, G. Efeito do conteúdo de proteína na dieta sobre os parâmetros hematológicos e metabólicos do bagre sul americano *Rhamdia quelen*. **Revista Ciência Agroambiental**, v. 1, n. 1, p. 43-51, 2006.

MEURER, F.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R.; SOARES, C.M. 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.

MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA – MPA. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura: Brasil 2010**. Brasília: 2012. 129 p.

MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA – MPA. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura 2011**. Brasília: 2013. 60 p.

MOINARD, C.; CALDEFIE-CHEZET, F.; WALRAND, S.; VASSON, M.P.; CYNOBER, L. Evidence that glutamine modulates respiratory burst in stressed rat polymorphonuclear cells through its metabolism into arginine. **British Journal of Nutrition**, v. 88, p. 689-695, 2002.

MOMMSEN, T.P.; MOON, T.W.; PLISETSKAYA, E.M. Effects of arginine on pancreatic hormone and hepatic metabolism in rainbow trout. **Physiological and Biochemical Zoology**, v. 74, n. 5, p. 668-678, 2001.

MORAES, G.; POLEZ, V.L.P. Ureotelism is inducible in the neotropical freshwater *Hoplias malabaricus* (Teleostei, Erythrinidae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 64, n. 2, p. 265-271, 2004.

MORRIS JR., S.M. Arginine: beyond protein. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83, p. 508-512, 2006.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient requirements of fish and shrimp**. Washington, D.C.: National Academy Press, 2011. 376p.

NEU, D.H.; FURUYA, W.M.; BOSCOLO, W.R.; POTRICH, F.R.; LUI, T.A.; FEIDEN, A. Glycerol inclusion in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles. **Aquaculture Nutrition**, v. 19, p. 211-217, 2013.

NICASTRO, H.; DATTILO, M.; ROGERO, M.M. A suplementação de L-arginina promove implicações ergogênicas no exercício físico? Evidências e considerações metabólicas. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 16, n. 1, p. 115-122, 2008.

NICULA, M.; BURA, M.; SIMIZ, E.; BANATEAN-DUNEA, I.; PATRUICA, S.; MARCU, A.; LUNCA, M.; SZELEI, Z. Researches concerning reference values assessment of serum biochemical parameters in some fish species from *Acipenseridae*, *Cyprinidae*, *Esocidae* and *Salmonidae* Family. **Animal Science and Biotechnologies**, v. 43, n. 1, p. 498-505, 2010.

NGAMSNAE, P.; SILVA, S.S.; GUNASEKERA, R.M. Arginine and Phenylalanine requirement of juvenile silver perch *Bidyanus bidyanus* and validation of the use of body amino acid composition for estimating individual amino acid requirement. **Aquaculture Nutrition**, v. 5, p. 173-180, 1999.

PERCIN, F.; KONYALIOGLU, S. Serum biochemical profiles of captive and wild northern bluefin tuna (*Thunnus thynnus* L. 1758) in the Eastern Mediterranean. **Aquaculture Research**, v. 39, p. 945-953, 2008.

PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; FRACALOSSO, D.M.; CYRINO, J.E.P. Nutrição de peixes. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSSO, D.M.; CASTAGNOLLI, N. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: Tecart, 2004. p.75-169.

PINHEIRO, L.M.S.; MARTINS, M.R.; PINHEIRO, L.A.S.; PINHEIRO, L.E.L. Rendimento industrial de filetagem de tilápia tailandesa (*Oreochromis* spp.). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 2, p. 257-262, 2006.

POHLENZ, C.; BUENTELLO, A.; MWANGI, W.; GATLIN III, D.M. Arginine and glutamine supplementation to culture media improves the performance of various channel catfish immune cells. **Fish & Selfish Immunology**, v. 32, p. 762-768, 2012a.

POHLENZ, C.; BUENTELLO, A.; CRISCITIELLO, M.F.; MWANGI, W.; SMITH, R.; GATLIN III, D.M. Synergies between vaccination and dietary arginine and glutamine supplementation improve the immune response of channel catfish against *Edwardsiella ictaluri*. **Fish & Selfish Immunology**, v. 33, p. 543-551, 2012b.

PORTZ, L.; FURUYA, W.M. Energia, proteína e aminoácidos. In: NUTRIAQUA: Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira. (FRACALOSSO, D.M.; CYRINO, J.E.P.). Florianópolis: Aquabio. 2013. pp. 65-77.

RAVI, J.; DEVARAJ, K.V. Quantitative essential amino acid requirements for growth of catla, *Catla catla* (Hamilton). **Aquaculture**, v. 96, p. 281-291, 1991.

REEDS, P.J.; BURRIN, D.G. Glutamine and the bowel. **Journal of Nutrition**, v. 131, n. 9, p.2505S -2508S, 2001.

ROBINSON, E.H.; POE, W.L.; WILSON, R.P. Effects of feeding diets containing an imbalance of branched-chain amino acids on fingerling channel catfish. **Aquaculture**, v. 37, p. 51-62, 1984.

RODEHUTSCORD, M.; BECKER, A.; PACK, M.; PFEFFER, E. Response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to supplements of individual essential amino acids in a semipurified diet, including an estimate of the maintenance requirement for essential amino acids. **The Journal of Nutrition**, v. 126, p. 1166-1175, 1997.

RODRIGUES, E.; SUDA, C.N.K.; RODRIGUES JÚNIOR, E.; OLIVEIRA, M.F.; CARVALHO, C.S.; VANI, G.S. Antarctic fish metabolic response as potential biomarkers of environmental impacts. **Oecologia Australis**, v. 15, n. 1, p. 124-149, 2011.

RODWELL, V.W. Catabolism of the carbon skeletons of amino acids. In: MURRAY, K.R.; GRANNER, D.K.; MAYES, P.A.; RODWELL, V.W. **Harper's Illustrated Biochemistry**. New York: McGraw-Hill Companies. 2003. p. 249-263.

RODWELL, V.W.; KENNELLY, P.J. Amino acids and peptides. In: MURRAY, K.R.; GRANNER, D.K.; MAYES, P.A.; RODWELL, V.W. **Harper's Illustrated Biochemistry**. New York: McGraw-Hill Companies. 2003. p. 14-20.

ROGERO, M.M.; TIRAPEGUI, J. Aspectos atuais sobre aminoácidos de cadeia ramificada e exercício físico. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 4, p. 563-575, 2008.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C.; FERREIRA, A.S.; BARRETO, S.L.T.; EUCLIDES, R.F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 2011. 252p.

ROTTA, M.A. **Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura**. Corumbá: Série Documentos, Embrapa, 2003, 49p.

ROWLERSON, A.; VEGGETTI, A. Cellular mechanisms of post-embryonic muscle growth in aquaculture species In: JOHNSTON, I.A. (Ed.). **Muscle Development and Growth**. London: Academic Press, 2001. pp. 103-139.

SÄNGER, A.M.; STOIBER, W. Muscle fiber diversity and plasticity In: JOHNSTON, I.A. (Ed.). **Muscle Development and Growth**. London: Academic Press, 2001. pp. 187-250.

SANTIAGO, C.B.; LOVELL, R.T. Amino acid requirement for growth of Nile tilapia. **The Journal of Nutrition**, v. 118, p. 1540-1546, 1988.

SATAKE, F.; ISHIKAWA, M.M.; HISANO, H.; PÁDUA, S.B.; TAVARES-DIAS, M. **Relação peso-comprimento, fator de condição e parâmetros hematológicos de dourado *Salminus brasiliensis* cultivado em condições experimentais**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. Dourados: Embrapa, 24 p. 2009.

SHIMOMURA, Y.; YAMAMOTO, Y.; BAJOTTO, G.; SATO, J.; MURAKAMI, T.; SHIMOMURA, N.; KOBAYASHI, K.; MAWATARI, K. Nutraceutical effects of branched-chain amino acids on skeletal muscle. **The Journal of Nutrition**, v. 136, p. 529-532, 2006.

SOLDATOV, A.A. Peculiarities of organization and functioning of the fish red blood system. **Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology**, v. 41, n. 3, p. 272-281, 2005.

TAKAHASHI, N.S. **Nutrição de peixes**. 2005. Disponível em: [ftp://ftp.sp.gov.br/ftppesca/nutricao\\_peixes.pdf](ftp://ftp.sp.gov.br/ftppesca/nutricao_peixes.pdf). acessado dia: 01/08/2012.

TAKISHITA, S.S.; LANNA, E.A.T.; DONZELE, J.L.; BOMFIN, M.A.D.; QUADROS, M.; SOUZA, M.P. Níveis de lisina digestível em rações para alevinos de tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 38, n. 11, p. 2099-2105, 2009.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R. Características hematológicas da *Tilápia rendalli* Boulenger, 1896 (Osteichthyes: Cichlidae) capturada em “pesqueague” de Franca, São Paulo, Brasil. **Bioscience Journal**, v. 19, n. 1, p. 107-114, 2003.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R. **Hematologia de peixes teleósteos**. Ribeirão Preto: Vilimpress. 2004. 144p.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R. Biochemical parameters for *Piaractus mesopotamicus*, *Colossoma macropomum* (Characidae) and hybrid tambacu (*P. mesopotamicus* X *C. macropomum*). **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 2, p. 363-368, 2010.

VAN RAAMSDONK, W.; POOL, C.W.; TE KRONNIE, G. Differentiation of muscle fiber types in the teleost *Brachydanio rerio*. **Anatomy and Embryology**, v. 153, p. 137-155, 1978.

VAN RAAMSDONK, W.; TEKRONNIE, G.; POOL, C.W.; VAN DE LAARSE, W. An immune histochemical and enzymic characterization of the muscle fibres in myotomal muscle of the teleost *Brachydanio rerio*, Hamilton-Buchanan. **Acta Histochemica**, v. 67, p. 200-216, 1980.

VELISEK, J.; STARA, A.; LI, Z.H.; SILOVSKA, S.; TUREK, J. Comparison of the effects of four anesthetics on blood biochemical profiles and oxidative stress biomarkers in rainbow trout. **Aquaculture**, v. 310, p. 369-375, 2011.

VIEIRA e SILVA, F.; SARMENTO, N.L.A.F.; VIEIRA, J.S.; TESSITORE, A.J.A.; SANTOS OLIVEIRA, L.L.; SARAIVA, E.P. Características morfológicas, rendimento de carcaça, filé, vísceras e resíduos em tilápias-do-nilo em diferentes faixas de peso. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 8, p. 1407-1412, 2009.

WALSH, P.J.; MOMMSEN, T.P. Evolutionary considerations of nitrogen metabolism and excretion. In: WRIGHT, P.A.; ANDERSON, P.M. **Nitrogen excretion**. San Diego: Academic Press, 2001. 1-26pp.

WALTON, M.J. Aspects of amino acid metabolism in teleost fish. In: COWEY, C.B., MACKIE, A.M., BELL, J.G. **Nutrition and feeding fish**. London: Academic Press, 1985, p. 47-67.

WEATHERLEY, A.; GILL, H.; LOBO, A.F. Recruitment and maximal diameter of axial muscle fibers in the teleosts and their relationship to somatic growth and ultimate size. **Journal of Fish Biology**, v. 33, p. 851-859, 1988.

WEATHERLEY, A.; GILL, H. The role of muscle in determination growth and size in teleost fish. **Experientia** v. 45, p. 875-878, 1989.

WILSON, R.P. Amino acid and protein requirement of fish. In: COWEY, C.B.; MACKIE, A.M.; BELL, J.G. **Nutrition and feeding in fish**. London: Academic Press. 1985. p. 1-17.

WILSON, R.P.; POE, W.E.; ROBINSON, E.H. Leucine, isoleucine, valine and histidine requirements of fingerling channel catfish. **The Journal of Nutrition**, v. 110, p. 627-633, 1980.

WILSON, R.P. Amino acid and protein requirements of fish. In: COWEY, C.B., MACKIE, A.M., BELL, J.G. **Nutrition and feeding fish**. London: Academic Press, 1985, p. 1-16.

WILSON, R.P.; HALVER, J.E. Protein and amino acid requirements of fishes. **Annual Review of Nutrition**, v. 6, p. 225-244, 1986.

WILSON, R.P. Amino acids and proteins. In: HALVER, J.E. **Fish Nutrition**. London: Academic Press, 3<sup>rd</sup> edition, 2002. 824p.

WILSON, R.P. Amino acid requirement of finfish and crustaceans. In: D'MELLO, J.P.F. **Amino acids in animal nutrition**. London: Cabi Publishing. 2003. P. 427-447.

WU, G.; DAVIS, P.K.; FLYNN, N.E.; KNABE, D.A.; DAVIDSON, J.T. Endogenous synthesis of arginine plays an important role in maintaining arginine homeostasis in postweaning growing pigs. **The Journal of Nutrition**, v. 127, p. 2342-2349, 1997.

WU, G. Intestinal mucosal amino acid catabolism. **The Journal of Nutrition**, v.128, p. 1249–1252, 1998.

WU, G.; MORRIS JR., S.M. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. **The Biochemical Journal**, v. 336, p. 1-17, 1998.

WU, G. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. **Amino Acids**, v. 37, p. 1-17, 2009.

WU, G.; BAZER, F.W.; DAVIS, T.A.; KIM, S.W.; LI, P.; RHOADS, J.M.; SATTERFIELD, M.C.; SMITH, S.B.; SPENCER, T.E.; YIN, Y. Arginine metabolism and nutrition in growth, health and disease. **Amino Acids**, v. 37, p. 153-168, 2009.

ZIMMERMANN, S.; FITZSIMMONS, K. Tilapicultura intensiva. In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSI, D.M.; CASTAGNOLLI, N. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: Tecart, 2004. p. 239-266.

ZHANG, G.; SWANK, D.M.; ROME, L.C. Quantitative distribution of muscle fiber types in the scup *Stenoteomus chrysops*. **Journal of Morphology**, v. 229, p. 71-81, 1996.

ZHOU, H.; CHEN, N.; QIU, X.; ZHAO, M.; JIN, L. Arginine requirement and effect of arginine intake on immunity in largemouth bass, *Micropterus salmoides*. **Aquaculture Nutrition**, v. 18, p. 107-117, 2012.

## **2.0 OBJETIVOS**

### **2.1 GERAL**

Determinar as exigências de arginina e isoleucina em dietas para juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

### **2.2 ESPECÍFICOS**

- Determinar as exigências dietéticas de arginina e isoleucina para juvenis de tilápia do Nilo por meio do desempenho produtivo;
- Avaliar a composição corporal proximal e de aminoácidos e a retenção de proteína, lipídeos e aminoácidos de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes níveis arginina e isoleucina;
- Analisar as respostas bioquímicas e hematológicas de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes níveis de arginina e isoleucina;
- Caracterizar o crescimento muscular dos juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes níveis arginina e isoleucina.

### 3.0 Capítulo I

#### **Desempenho produtivo, respostas hematológicas e bioquímicas e crescimento muscular de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com diferentes níveis de arginina<sup>1</sup>**

**Resumo:** O presente estudo foi realizado com o objetivo de determinar as exigências de arginina em dietas para juvenis de tilápias do Nilo com base no desempenho produtivo, respostas hematológicas, bioquímicas e crescimento muscular. Foram utilizados 300 juvenis de tilápia do Nilo ( $2,95 \pm 0,79$  g), distribuídos em 20 aquários de fibra de vidro com capacidade de 500 litros cada. Foram elaboradas cinco dietas extrusadas isoproteicas (28% proteína bruta) e isenergéticas ( $3160 \text{ kcal.kg}^{-1}$ ) contendo 0,95; 1,10; 1,25; 1,40 e 1,55% de arginina. Baseado na análise de regressão quadrática, os melhores resultados de ganho em peso, conversão alimentar, taxa de eficiência proteica e retenção de proteína foram estimados em peixes que receberam dietas com 1,36; 1,34; 1,36 e 1,37% de arginina, respectivamente. Os melhores valores de retenção corporal de aminoácidos foram estimados em peixes que receberam dietas contendo 1,31 a 1,37% de arginina. Em peixes que receberam 0,95% de arginina, o crescimento muscular ocorreu principalmente por hiperplasia, enquanto nos peixes que receberam dietas com 1,10 a 1,55% de arginina ocorreu redução no tempo de hiperplasia e início da hipertrofia. Peixes alimentados com diferentes níveis de arginina não apresentaram diferenças sobre a composição corporal em proteína, gordura e aminoácidos e respostas hematológicas e bioquímicas. Determinou-se a exigência dietética de 1,36% de arginina para juvenis de tilápia do Nilo.

**Palavras-chave:** Aminoácido essencial, parâmetros sanguíneos, retenção de aminoácidos, fibra muscular

---

<sup>1</sup> Artigo redigido de acordo com as normas do periódico científico Journal of the World Aquaculture Society.

## **Growth performance, hematological and biochemical responses and muscle growth of juvenile Nile tilapia fed with levels of arginine**

**Abstract:** The aim of the present study was determine the dietary arginine requirement for juvenile Nile tilapia on growth performance, hematological and biochemical responses and muscle growth. Three-hundred Nile tilapia juveniles ( $2.95 \pm 0.79$  g) were distributed into 20 fiberglass aquaria (500-L each). Five extruded diets isonitrogenous (28% crude protein) and isocaloric ( $3160 \text{ kcal.kg}^{-1}$  digestible energy) with 0.95; 1.10; 1.25; 1.40 and 1.55% of arginine were elaborated. Based on second order regression analysis, the best results of weight gain, feed conversion rate, protein efficiency rate and protein retention were estimated by fish fed diets containing 1.36; 1.34; 1.36 and 1.37% of arginine, respectively. The maximum amino acid body retention was estimated in fish fed diets containing 1.31 to 1.37% of arginine. In fish fed 0.95% of arginine the muscle growth occurred mainly, by hyperplasia, while fish fed 1.10 to 1.55% arginine showed decreased in the time of hyperplasia and promoted initialization of hypertrophy. Fish fed with levels of arginine levels did not show differences on body crude protein, fat and amino acid composition, biochemical and hematological parameters. A dietary requirement of 1.36% arginine was determined for juvenile Nile tilapia.

**Key words:** essential amino acid, blood composition, amino acid retention, muscle fiber

### **Introdução**

A produção de peixes no Brasil cresce continuamente e, dentre as espécies de água doce, a tilápia é responsável por 46%, com mais de 253 mil toneladas produzidas no ano de 2011 (MPA 2013). Dentre as mais de quarenta espécies de água doce com potencial para a aquicultura (Godinho 2007), as tilápias se destacam pela rusticidade ao manejo, ótima qualidade de carne, com ausência de espinhas intramusculares em “Y” em seu filé, boa adaptação ao clima e ambiente, rápido crescimento, fácil adaptação às rações comerciais (Popma e Masser, 1999), além de aceitar em suas dietas alimentos de origem vegetal e animal.

A proteína possui importante papel estrutural e metabólico (NRC 2011), pois é precursora de enzimas, hormônios (Pezzato et al. 2004) e anticorpos. Portanto, requeridas continuamente ao longo do desenvolvimento do animal. As proteínas são

compostas por aminoácidos, exigidos em determinadas quantidades para atender as demandas fisiológicas e imunológicas dos animais.

A arginina é responsável pela síntese de proteínas, ureia, poliaminas, prolina, glutamato, creatina e agmatina (Wu e Morris 1998; D’Mello 2003), além de estimular a secreção de hormônios, como insulina, hormônio do crescimento, glucagon e prolactina (Wu et al. 1997) e modular alguns mecanismos de imunidade inata (Moinard et al. 2002; Cheng et al. 2012; Pohlenz et al. 2012). Estudos de exigência dietética desse aminoácido são de grande importância para o melhor crescimento dos peixes. Borlongan (1991) verificou que a exigência de arginina para juvenis de *Chanos chanos* é de 2,10%. Ahmed (2013) verificou que o melhor crescimento ocorre quando fornecido 1,63% para alevinos de *Heteropneustes fossilis*. Zehra e Khan (2013) observaram a exigência de 1,67% de arginina para o crescimento de alevinos de *Catla catla* para o melhor desempenho produtivo.

Portanto, seu adequado fornecimento favorece o crescimento e a saúde dos animais, uma vez que a arginina pode prevenir a infecção por bactérias por estimular a atividade de lisozimas (Zhou et al. 2012a), e participar da síntese do óxido nítrico, que possui importante papel na defesa celular estimulando a produção de macrófagos (Buentello e Gatlin III 1999), e aumentando a contagem de leucócitos por causa da arginina ser substrato para a síntese de poliaminas, importante para a proliferação e diferenciação celular (Buentello et al. 2007).

O objetivo do presente trabalho foi determinar as exigências de arginina em dietas para juvenis de tilápias do Nilo com base no desempenho produtivo, parâmetros hematológicos, bioquímicos e crescimento muscular.

## **Material e Métodos**

### *Peixes e manejo*

O experimento foi realizado no Laboratório de Aquicultura do Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura (GEMAQ) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste - *campus* Toledo.

O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste, sob o protocolo N<sup>o</sup> 01812 de maio de 2012.

*Dietas experimentais e manejo alimentar*

Foram elaboradas cinco rações (Tabela 1 e 2) segundo as recomendações propostas por Furuya (2010) e NRC (2011) para o atendimento das exigências nutricionais de juvenis, contendo níveis crescentes de arginina (0,95; 1,10; 1,25; 1,40 e 1,55 %) da dieta. Os ingredientes foram moídos em moinhos do tipo martelo com peneira de 0,5 milímetros de diâmetro. A dieta foi processada de maneira extrusada (extrusora Ex-Micro®) com 3mm de diâmetro. Os peixes foram alimentados quatro vezes ao dia (8h e 11h da manhã, e 14h e 17h da tarde), até a saciedade aparente, por um período de 85 dias.

**Tabela 1.** Composição percentual (%) das rações experimentais com diferentes níveis de arginina para juvenis de tilápias do Nilo

<b>Ingredientes</b>	<b>Níveis arginina (%)</b>				
	<b>0,95</b>	<b>1,10</b>	<b>1,25</b>	<b>1,40</b>	<b>1,55</b>
Milho, grão	52,19	52,19	52,19	52,19	52,19
Milho, glúten 60	23,30	23,30	23,30	23,30	23,30
Arroz, quirera	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Soja, farelo 45	4,67	4,67	4,67	4,67	4,67
Peixe, farinha 55	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Fosfato bicálcico	2,25	2,25	2,25	2,25	2,25
Calcário	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
L-ácido glutâmico	2,50	2,64	2,79	2,93	3,08
L-alanina	2,50	2,20	1,90	1,60	1,30
L-lisina	1,16	1,16	1,16	1,16	1,16
L-arginina	0,00	0,15	0,31	0,46	0,62
L-treonina	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
L-triptofano	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16
DL-metionina	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008
Ácido propiônico	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Suplemento mineral e vitamínico <sup>1</sup>	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Sal	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
BHT <sup>2</sup>	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02

<sup>1</sup>Níveis de garantia por kg do produto - Premix (DSM-Roche®): Vit. A, 24.000 UI; Vit. D3, 6.000 UI; Vit. E, 300 mg; Vit. K3, 30 mg; Vit. B1, 40 mg; Vit. B2, 40 mg; Vit. B6, 35 mg; Vit. B12, 80 mg; Ác. fólico, 12 mg; Pantotenato Ca, 100 mg; Vit. C, 600 mg; Biotina, 2 mg; Colina, 1.000 mg; Niacina; Ferro, 200 mg; Cobre, 35 mg; Manganês, 100 mg; Zinco, 240 mg; Iodo, 1,6 mg; Cobalto, 0,8 mg.

<sup>2</sup>BHT = Butil Hidroxi Tolueno

**Tabela 2.** Composição proximal (%) das rações experimentais com diferentes níveis de arginina para juvenis de tilápias do Nilo

<b>Composição proximal (%)</b>					
Energia digestível (kcal.kg <sup>-1</sup> )	3160	3160	3160	3160	3160
Proteína bruta	28,11	28,17	28,23	28,30	28,36
Ácido linolênico	1,41	1,41	1,41	1,41	1,41
Amido	39,99	39,99	39,99	39,99	39,99
Cálcio	1,55	1,55	1,55	1,55	1,55
Fibra bruta	1,58	1,58	1,58	1,58	1,58
Fósforo disponível	0,62	0,62	0,62	0,62	0,62
Fósforo total	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
Gordura	3,02	3,02	3,02	3,02	3,02
<b>Aminoácidos essenciais</b>					
Arginina total	0,95	1,10	1,25	1,40	1,55
Fenilalanina	1,12	1,07	1,05	1,03	1,06
Histidina	0,49	0,48	0,48	0,46	0,48
Isoleucina	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93
Leucina	3,33	3,33	3,33	3,33	3,33
Lisina	1,53	1,53	1,53	1,53	1,53
Metionina	0,52	0,52	0,52	0,52	0,52
Treonina	1,18	1,18	1,18	1,18	1,18
Triptofano	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Valina	1,09	1,09	1,09	1,09	1,09
<b>Aminoácidos não essenciais<sup>1</sup></b>					
Ácido aspártico	1,41	1,18	1,36	1,31	1,36
Ácido glutâmico	6,09	5,23	6,11	6,00	6,31
Alanina	3,83	3,11	3,43	3,19	3,14
Cistina	0,28	0,23	0,26	0,26	0,27
Glicina	0,75	0,60	0,69	0,67	0,69
Serina	1,02	0,85	0,98	0,95	0,96
Tirosina	0,88	0,72	0,84	0,83	0,85

<sup>1</sup>Análises realizadas pela *Ajinomo Animal Nutrition*

### *Peixes e condições experimentais*

Foram utilizados 300 juvenis de tilápias do Nilo ( $2,95 \pm 0,79$  g). Os peixes foram distribuídos em 20 caixas de fibra de vidro com capacidade de 500 litros, dotadas de um sistema de recirculação de água (quatro litros de água/minuto/tanque) com biofiltro central, aeração constante por meio de soprador de ar central e aquecimento constante por meio de termostato.

Os parâmetros de pH, oxigênio dissolvido ( $\text{mg.L}^{-1}$ ), condutividade elétrica ( $\mu\text{S.cm}^{-1}$ ) da água, amônia e nitrito (Strickland e Parson 1972); fósforo e ortofosfato (Mackereth et al. 1978) e demanda bioquímica de oxigênio-DBO (Apha 1998) foram aferidos semanalmente.

### *Coleta de dados*

Ao final do experimento os peixes foram mantidos em jejum por 24 horas para o esvaziamento do trato gastrointestinal e, posteriormente, foram insensibilizados em eugenol, na dose de  $75,0 \text{ mg.L}^{-1}$  (Deriggi et al. 2006) para realização das medidas individuais de peso (g). Três peixes de cada tanque foram eutanasiados em eugenol na dose de  $300 \text{ mg.L}^{-1}$  e acondicionados em gelo para retirada de gordura visceral e fígado. Esses mesmos animais (incluindo as vísceras) foram encaminhados ao Laboratório de Controle de Qualidade do Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura (GEMAQ) e congelados em freezer ( $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ ) para realização das análises centesimais.

Os dados de desempenho produtivo avaliados foram o peso final médio (g); ganho em peso (peso corporal final – peso corporal inicial); conversão alimentar aparente (dieta consumida/ganho em peso); taxa de eficiência proteica (ganho de peso/proteína consumida); eficiência de retenção de proteína ( $((\text{conteúdo final de proteína da carcaça} \times \text{biomassa final}) - (\text{conteúdo inicial proteína da carcaça} \times \text{biomassa inicial}))/\text{proteína consumida}$ ); sobrevivência ( $100(\text{número de peixes final}/\text{número de peixes inicial})$ ); índice hepatossomático ( $100(\text{peso fígado, g})/(\text{peso corporal final, g})$ ); gordura visceral ( $100(\text{peso gordura visceral, g})/(\text{peso corporal final, g})$ ) e retenção de aminoácidos corporais ( $((\text{conteúdo final de aminoácidos corporais} \times \text{peso final}) - (\text{conteúdo inicial de aminoácidos corporais} \times \text{peso inicial}))/\text{consumo de aminoácidos}$ ).

### *Análises hematológicas e bioquímicas*

Para as coletas sanguíneas capturaram três peixes de cada unidade experimental, anestesiados em eugenol ( $60 \text{ mg.L}^{-1}$ ), e, aleatoriamente, retirou-se uma alíquota de 2,0mL por punção caudal, com auxílio de uma seringa heparinizada. Dessa alíquota 0,5mL foi destinado às análises hematológicas e 1,5mL destinado as análises bioquímicas.

No sangue total foram realizadas as análises de contagem total de eritrócitos com utilização de câmara de Neubauer, taxa de hemoglobina realizada por meio da metodologia descrita por Collier (1944), percentual de hematócrito seguindo a metodologia de Goldenfarb et al. (1971), e os índices hematimétricos como VCM (volume corpuscular médio), HCM (hemoglobina corpuscular média) e CHCM (hemoglobina corpuscular média), de acordo com Wintrobe (1934):  $\text{VCM (fL)} = [(\text{hematócrito} \times 10)]/\text{eritrócitos}$ ;  $\text{HCM (pg)} = [(\text{hemoglobina} \times 10)]/\text{eritrócitos}$  e  $\text{CHCM (gdL}^{-1}) = [(\text{hemoglobina} \times 100)]/\text{hematócrito}$ .

Foram preparados esfregaços sanguíneos em lâminas de vidro que foram secas ao ar e coradas pelo método de Rosenfeld (1947). A leitura foi realizada em microscópio óptico, com objetiva de 100x, utilizando óleo de imersão. A contagem total de leucócitos e trombócitos foi realizada pelo método indireto (Martins et al. 2004):  $\text{Leucócitos totais } (\mu\text{L}) = [(\text{número de leucócitos contados na extensão} \times \text{número de eritrócitos em câmara de Neubauer})/2000]$ ; e  $\text{trombócitos totais } (\mu\text{L}) = [(\text{número de trombócitos contados na extensão} \times \text{número de eritrócitos em câmara de Neubauer})/2000]$ .

A contagem do diferencial de leucócitos consistiu em determinar a proporção existente entre as distintas variedades de leucócitos: linfócitos, neutrófilos e monócitos. Em microscópio de luz comum, com objetiva 100 vezes foram contados 100 leucócitos. Para a contagem, percorreu-se todo o esfregaço, movimentando a lâmina em “zig-zag”. O número de cada elemento foi expresso em porcentagem. Posteriormente, foram realizadas análises bioquímicas de proteínas totais ( $\text{g.dL}^{-1}$ ), triglicerídeos ( $\text{mg.dL}^{-1}$ ), colesterol total ( $\text{mg.dL}^{-1}$ ), colesterol de alta densidade - HDL ( $\text{mg.dL}^{-1}$ ), glicose ( $\text{mg.dL}^{-1}$ ), colesterol de muito baixa densidade - VLDL ( $\text{mg.dL}^{-1}$ ), colesterol de baixa densidade - LDL ( $\text{mg.dL}^{-1}$ ) e Ureia ( $\text{mg.dL}^{-1}$ ). As amostras foram centrifugadas a 2.500 rpm por cinco minutos. Para a realização das análises utilizaram-se “kits” específicos *Gold Analisa Diagnóstica*<sup>®</sup>, sendo a leitura processada em espectrofotômetro e procedidas conforme instruções do fabricante.

### *Morfometria da fibra muscular*

Para a avaliação do crescimento muscular, dois peixes de cada unidade experimental foram capturados, induzidos à anestesia profunda até a perda de todas as reações, e com auxílio de uma lâmina retirou-se uma amostra do músculo branco dorsal, acima da linha lateral. Essas amostras foram fixadas em formol tamponado 10% por 24 horas e processadas para inclusão em parafina. Cortes transversais (6  $\mu\text{m}$ ) foram obtidos em micrótomo e submetidos à coloração hematoxilina-eosina. Para a morfometria, utilizando um sistema de análise de imagens, foi determinado o menor diâmetro de 200 fibras musculares, por animal, que foram agrupadas em classes de diâmetros (< 20  $\mu\text{m}$ , 20-50  $\mu\text{m}$  e > 50  $\mu\text{m}$ ) para avaliar a contribuição da hiperplasia e hipertrofia para o crescimento muscular (Almeida et al. 2008). Essas análises foram realizadas no Laboratório de Histologia do Departamento de Ciências Morfológicas – DCM – da Universidade Estadual de Maringá – UEM.

### *Análises laboratoriais*

A composição centesimal dos animais seguiu o preconizado pela AOAC (1995) para análises de umidade (pré secagem a 55 °C por 72 horas seguida de secagem a 105 °C por oito horas), proteínas (método de Kjeldhal), extrato etéreo (extrator de Soxhlet com éter como solvente), e matéria mineral (calcinação das amostras a 550 °C por 6 horas). O material pré-seco foi encaminhado para o Laboratório da Ajinomoto Biolatina para a realização de análises de aminoácidos, por meio da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (Hitachi L-8800). O triptofano foi determinado após hidrólise ácida.

### *Delineamento experimental e análise estatística*

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com cinco tratamentos e quatro repetições, sendo uma unidade experimental composta por um aquário contendo 15 peixes. Os dados foram submetidos a análises de regressão em 5% de probabilidade. Para a determinação da exigência de arginina foi aplicada a análise de regressão quadrática. Para verificação dos valores de crescimento muscular e a relação com os

dados de peso final e comprimento final foi aplicada a análise de correlação de Pearson. As análises foram efetuadas por meio do programa computacional *Statistic 7.1* (Statsoft 2005).

## Resultados

Durante o período experimental foram observados valores médios de  $29,4 \pm 0,04$  °C para a temperatura;  $5,44 \pm 0,29$  mg.L<sup>-1</sup> para oxigênio dissolvido;  $7,47 \pm 0,07$  para o pH;  $120,12 \pm 2,13$  µS.cm<sup>-1</sup> para a condutividade elétrica da água;  $0,10 \pm 0,08$  mg.L<sup>-1</sup> para a amônia (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>);  $5,51 \pm 1,28$  µg.L<sup>-1</sup> para o nitrito;  $1,13 \pm 0,19$  µg.L<sup>-1</sup> para o ortofosfato;  $1,13 \pm 0,14$  µg.L<sup>-1</sup> para o fósforo e  $7,63 \pm 3,78$  mg.L<sup>-1</sup> para a DBO.

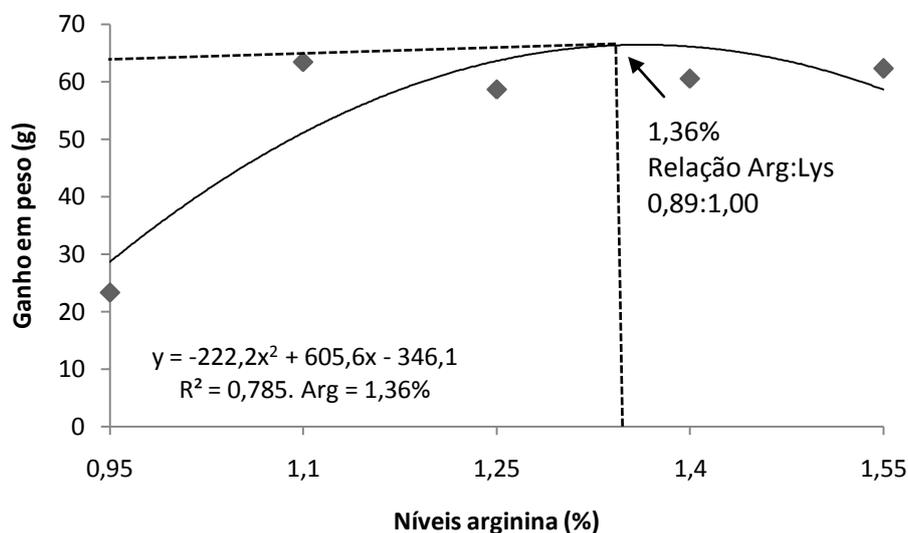
Os peixes alimentados com a dieta com 0,95% de arginina apresentaram os piores resultados ( $P < 0,05$ ) de ganho em peso, conversão alimentar, taxa de eficiência proteica e retenção de proteína, em relação aos valores obtidos para os peixes que consumiram os demais níveis de arginina. O consumo de dietas com diferentes níveis de arginina não influenciou ( $P > 0,05$ ) as variáveis: sobrevivência, índice hepatossomático e gordura visceral (Tabela 3).

**Tabela 3.** Desempenho produtivo dos juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de arginina

Variáveis	Níveis arginina (%)					C.V.	Efeito
	0,95	1,10	1,25	1,40	1,55		
Peso inicial (g)	2,94	2,98	2,94	2,94	2,93	2,04	NS
Ganho em peso (g/peixe)	23,34	63,42	58,64	60,53	62,27	30,27	Quadrático
Conversão alimentar (g/g)	1,69	1,22	1,21	1,21	1,24	15,14	Quadrático
Taxa eficiência proteica (%)	1,55	2,57	2,55	2,50	2,48	19,76	Quadrático
Retenção proteína (%)	29,21	47,22	49,60	47,43	50,14	18,75	Quadrático
Índice hepatossomático (%)	2,29	1,31	1,59	1,94	1,70	38,00	NS
Gordura visceral (%)	4,12	2,71	2,62	3,26	3,64	30,55	NS
Sobrevivência (%)	75,00	90,00	88,33	85,00	85,00	12,00	NS
	Equações						Valor P
Ganho em peso	$Y = -222,2x^2 + 605,6x - 346,1$ ; $R^2 = 0,73$ ; Arg = 1,36%;						0,00001
Conversão alimentar	$Y = 3,084x^2 - 8,314x + 6,750$ ; $R^2 = 0,79$ ; Arg = 1,34%						0,00003
Taxa eficiência proteica	$Y = -6,485x^2 + 17,71x - 9,366$ ; $R^2 = 0,78$ ; Arg = 1,36%						0,000002
Retenção proteína	$Y = -111,572x^2 + 306,970x - 159,640$ ; $R^2 = 0,79$ ; Arg = 1,37%						0,000001

Arg = arginina; CV = coeficiente de variação (%); NS = não significativo ( $P > 0,05$ )

Pelo modelo de regressão quadrática, o aumento nos níveis dietéticos de arginina resultou em incremento máximo sobre o ganho em peso no nível de 1,36% de arginina (Figura 1).



**Figura 1.** Ganho em peso de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de arginina

O consumo de dietas com níveis crescentes de arginina influenciou ( $P < 0,05$ ) a composição corporal dos peixes para os parâmetros de umidade e matéria mineral, porém, não influenciou ( $P > 0,05$ ) a composição corporal de proteína bruta e lipídeos (Tabela 4).

**Tabela 4.** Composição corporal de juvenis de tilápias do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de arginina

Variáveis	Níveis arginina da dieta (%)					CV	Efeito
	0,95	1,10	1,25	1,40	1,55		
Umidade	70,70	68,89	69,31	68,60	67,27	1,82	Linear
Proteína bruta	14,50	15,27	14,95	15,38	15,31	4,78	NS
Lipídios	11,65	12,67	11,19	12,45	12,48	7,22	NS
Matéria mineral	2,63	4,27	4,06	4,29	4,45	15,98	Quadrático
	Equação						Valor P
Umidade	$Y = -4,764x + 74,910; R^2 = 0,69$						0,0001
Matéria mineral	$Y = -7,325x^2 + 20,602x - 10,017; R^2 = 0,66; \text{Arg} = 1,40\%$						0,002

Arg = arginina; CV = coeficiente de variação (%); NS = não significativo ( $P > 0,05$ )

A composição corporal de aminoácidos dos peixes não foi influenciada pelos níveis de arginina da dieta, com exceção da arginina corporal ( $P < 0,05$ ), que apresentou concentração superior para o grupo de peixes alimentados com 1,55% de arginina na dieta (Tabela 5).

**Tabela 5.** Composição de aminoácidos essenciais corporais (g por 16g de N) de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de arginina

	Níveis de arginina da dieta (%)					CV	Efeito
	0,95	1,10	1,25	1,40	1,55		
<b>Composição de aminoácidos essenciais da carcaça</b>							
Arginina	5,49	5,68	5,75	5,94	6,23	6,03	Linear
Fenilalanina	3,23	3,39	3,35	3,35	3,42	4,09	NS
Histidina	1,79	1,87	1,90	1,90	1,86	6,18	NS
Isoleucina	3,15	3,05	2,97	3,05	3,12	5,64	NS
Leucina	5,70	5,80	5,80	5,62	5,81	4,88	NS
Lisina	5,99	5,96	5,89	5,82	5,94	6,08	NS
Metionina	2,03	2,03	2,13	2,09	2,11	5,85	NS
Treonina	3,60	3,66	3,72	3,61	3,75	4,69	NS
Triptofano	0,83	0,75	0,84	0,84	0,76	15,92	NS
Valina	3,74	3,70	3,65	3,71	3,80	5,56	NS
	Equação						Valor P
Arginina	$Y = 1,16x + 4,362; R^2 = 0,52$						0,0003

Arg = arginina; CV = coeficiente de variação (%); NS = não significativo ( $P > 0,05$ )

A retenção corporal de aminoácidos essenciais foi influenciada ( $P < 0,05$ ) pelos níveis de arginina incluídos na dieta, sendo que a menor retenção foi obtida nos peixes que consumiram a dieta com menor nível do aminoácido testado (0,95%) (Tabela 6). Foi observado efeito quadrático para todos os 10 aminoácidos essenciais testados, com valores de retenção máxima oscilando entre 1,31 e 1,37% de inclusão de arginina.

**Tabela 6.** Retenção corporal de aminoácidos essenciais (%) de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de arginina

	Níveis de arginina da dieta (%)						Efeito
	0,95	1,10	1,25	1,40	1,55	CV	
<b>Retenção de aminoácidos essenciais da carcaça</b>							
Arginina	48,79	107,49	85,99	92,79	100,62	25,17	Quadrático
Fenilalanina	20,79	43,53	37,74	38,65	39,09	23,41	Quadrático
Histidina	26,43	54,35	47,27	49,14	47,11	23,61	Quadrático
Isoleucina	29,64	57,52	47,81	51,37	51,10	22,29	Quadrático
Leucina	15,48	31,08	26,97	26,96	27,49	22,69	Quadrático
Lisina	30,70	60,29	57,45	52,78	53,08	22,63	Quadrático
Metionina	24,28	62,39	55,83	57,29	57,44	29,85	Quadrático
Treonina	25,54	50,89	44,46	44,63	46,81	22,76	Quadrático
Triptofano	51,49	82,62	85,88	88,81	85,70	24,16	Quadrático
Valina	28,74	58,47	48,82	52,08	52,68	23,60	Quadrático
	Equações						Valor P
Arginina	$Y = -233,142x^2 + 642,152x - 340,778; R^2 = 0,51; \text{Arg} = 1,37\%$						0,002
Fenilalanina	$Y = -120,261x^2 + 321,795x - 172,964; R^2 = 0,60; \text{Arg} = 1,33\%$						0,0003
Histidina	$Y = -161,736x^2 + 428,448x - 230,71; R^2 = 0,59; \text{Arg} = 1,32\%$						0,0004
Isoleucina	$Y = -136,617x^2 + 366,041x - 190,452; R^2 = 0,50; \text{Arg} = 1,33\%$						0,002
Leucina	$Y = -82,651x^2 + 219,901x - 116,417; R^2 = 0,54; \text{Arg} = 1,33\%$						0,001
Lisina	$Y = -191,785x^2 + 504,307x - 271,23; R^2 = 0,63; \text{Arg} = 1,31\%$						0,0001
Metionina	$Y = -215,544x^2 + 579,664x - 326,648; R^2 = 0,62; \text{Arg} = 1,34\%$						0,001
Treonina	$Y = -126,151x^2 + 339,575x - 179,215; R^2 = 0,55; \text{Arg} = 1,34\%$						0,003
Triptofano	$Y = -218,426x^2 + 595,805x - 314,734; R^2 = 0,51; \text{Arg} = 1,36\%$						0,002
Valina	$Y = -144,049x^2 + 387,789x - 205,021; R^2 = 0,52; \text{Arg} = 1,34\%$						0,001

Arg = arginina; CV = coeficiente de variação (%); NS = não significativo ( $P > 0,05$ )

Não foram observadas diferenças ( $P > 0,05$ ) entre os parâmetros bioquímicos e hematológicos dos juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de arginina (Tabela 7).

**Tabela 7.** Parâmetros bioquímicos e hematológicos dos juvenis de tilápias alimentados com dietas contendo níveis crescentes de arginina

Parâmetros	Níveis arginina (%)					CV	Efeito
	0,95	1,10	1,25	1,40	1,55		
<b>Bioquímicos</b>							
Triglicerídios (mg.dL <sup>-1</sup> )	-	169,38	320,14	266,38	242,61	38,22	NS
Colesterol total (mg.dL <sup>-1</sup> )	192,10	145,85	238,30	180,15	167,30	29,33	NS
Glicose (mg.dL <sup>-1</sup> )	93,29	84,81	87,64	64,03	74,02	25,64	NS
Ureia (mg.dL <sup>-1</sup> )	6,45	6,67	7,18	6,68	6,68	23,54	NS
Proteína total (g.dL <sup>-1</sup> )	4,79	4,14	4,27	4,33	4,33	4,91	NS
HDL (mg.dL <sup>-1</sup> )	-	75,14	78,92	62,63	71,84	20,71	NS
LDL (mg.dL <sup>-1</sup> );	-	36,83	67,76	64,24	51,46	40,84	NS
VLDL (mg.dL <sup>-1</sup> )	-	33,87	64,03	53,27	48,52	38,22	NS
<b>Hematológicos</b>							
Eritrócitos (10 <sup>6</sup> .µL <sup>-1</sup> )	2,15	1,93	2,04	2,10	2,34	13,17	NS
Hemoglobina (g.dL <sup>-1</sup> )	7,57	9,24	9,29	10,06	10,16	11,61	NS
Hematócrito (%)	32,25	32,50	33,42	32,17	33,21	6,79	NS
VCM (fL)	151,66	170,66	164,90	160,02	146,76	15,93	NS
HCM (µg)	38,55	46,30	46,29	50,27	43,41	19,09	NS
CHCM (g.dL <sup>-1</sup> )	25,35	25,92	28,38	31,48	30,33	17,43	NS

HDL = lipoproteína de alta densidade; LDL = lipoproteínas de baixa densidade; VLDL = lipoproteínas de densidade muito baixa; VCM = volume corpuscular médio; HCM = hemoglobina corpuscular média; CHCM = concentração de hemoglobina corpuscular média; CV = coeficiente de variação (%); NS = não significativo (P>0,05).

O consumo de dietas com níveis crescentes de arginina não alterou (P>0,05) os valores de leucócitos totais e de trombócitos totais. Os leucócitos variaram de 23639 a 36790 µL<sup>-1</sup> e os trombócitos oscilaram entre 27696 a 52103 µL<sup>-1</sup>. Com relação ao diferencial de leucócitos, a maior parcela encontrada nos juvenis de tilápia foi de linfócitos com valores médios acima de 84%, seguido pela porcentagem de neutrófilos (acima de 9%), e com menor expressão os monócitos, abaixo de 0,3% nos peixes de todos os tratamentos (Tabela 8).

**Tabela 8.** Valores médios de leucócitos, trombócitos e diferencial de linfócitos, neutrófilos e monócitos de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de arginina

Variáveis	Níveis arginina da dieta (%)					CV	Efeito
	0,95	1,10	1,25	1,40	1,55		
Leucócitos ( $\mu\text{L}^{-1}$ )	23639	30936	36761	36790	30928	17,04	NS
Trombócitos ( $\mu\text{L}^{-1}$ )	45581	33115	52103	39440	27696	24,24	NS
Linfócitos (%)	91,86	89,71	85,83	89,50	90,50	3,56	NS
Neutrófilos (%)	8,14	10,00	14,00	10,50	9,00	31,04	NS
Monócitos (%)	0,00	0,00	0,14	0,0	0,28	232,00	NS

CV = coeficiente de variação (%); NS = não significativo ( $P>0,05$ )

A arginina dietética influenciou ( $P<0,05$ ) a frequência de fibras musculares dentro das classes de fibras  $< 20 \mu\text{m}$  e de  $20 - 50 \mu\text{m}$  de diâmetros, mas não foi observado efeito ( $P>0,05$ ) dos níveis de arginina sobre a frequência de fibras musculares com diâmetro  $> 50 \mu\text{m}$ . Com o aumento nos níveis dietéticos de arginina foi observado redução linear na frequência de fibras musculares com  $< 20 \mu\text{m}$  de diâmetro, e efeito quadrático sobre a frequência de fibras com diâmetro entre  $20 - 50 \mu\text{m}$ , em que a máxima frequência de ocorrência de fibras foi estimada em peixes que receberam a dieta com 1,45% de arginina (Tabela 9).

A análise de correlação de Pearson mostrou que a classe de fibras com diâmetros menores que  $20 \mu\text{m}$  possui correlação negativa (-0,59) com o peso final dos juvenis de tilápia, ou seja, quanto maior é o animal, menor a taxa de hiperplasia. Por outro lado, as fibras com diâmetros entre 20 e  $50 \mu\text{m}$  possuem correlação positiva com o peso dos peixes (0,64). Para as fibras com diâmetro superior a  $50 \mu\text{m}$  não houve correlação significativa

**Tabela 9.** Frequência de distribuição das fibras musculares em três classes de diâmetros (<20 µm, entre 20 e 50 µm e >50 µm) em juvenis de tilápia do Nilo alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de arginina

Classe de diâmetro	Níveis arginina da dieta (%)						CV	Efeito
	Inicial	0,95	1,10	1,25	1,40	1,55		
<20µm	86,96	55,17	33,74	24,09	19,17	14,35	47,99	Linear
20-50µm	13,04	44,55	64,87	72,71	77,21	72,54	19,34	Quadrático
>50µm	0,0	2,00	2,43	3,31	3,67	8,10	98,84	NS
Equações								Valor de P
<20 µm	Y = -70,32x + 116,58; R <sup>2</sup> = 0,65						0,000001	
20-50 µm	Y = -107,055x <sup>2</sup> + 311,620x - 150,604; R <sup>2</sup> = 0,76; Arg = 1,45%						0,000001	

Arg = arginina; CV = coeficiente de variação (%); NS = não significativo (P>0,05)

## Discussão

Os parâmetros de qualidade de água monitorados durante o período experimental atenderam as condições para o bem-estar da espécie. As tilápias não possuem desempenho produtivo prejudicado quando criadas em águas com temperaturas entre 24 e 30 °C (El-Sayed 2006), teores de oxigênio dissolvido acima de 4 mg.L<sup>-1</sup>, pH próximo ao neutro (Popma e Lovshin 1995) e condutividade elétrica entre 20 e 150 µS.cm<sup>-1</sup> (Zimmermann et al. 2001). Os demais parâmetros como fósforo, ortofosfato, amônia, nitrito e DBO permaneceram dentro dos protocolos sugeridos para a criação de peixes em sistema semi-intensivo.

No presente trabalho, a exigência em arginina estimada pelo método de regressão quadrática é de 1,36%, e o menor crescimento dos peixes foi verificado para aqueles que receberam a dieta contendo 0,95% de arginina. Khan e Abidi (2011) também evidenciaram os piores resultados de desempenho para o *Heteropneustes fossilis* que receberam dieta deficiente em arginina. Valores de exigência inferiores ao do presente estudo foram obtidos por Santiago e Lovell (1988) que determinaram a exigência de 1,18% de arginina para alevinos de tilápias do Nilo, porém, os autores utilizaram o modelo matemático *broken line*.

A adequada suplementação de arginina favoreceu o maior ganho em peso, retenção de proteína (Tabela 3), e a retenção corporal de aminoácidos (Tabela 6). Isso evidencia a importância desse aminoácido em dietas para peixes, como foi demonstrado por Zhou et al. (2012a) para juvenis de “Largemouth bass” (*Micropterus salmoides*). Como a maioria dos peixes teleósteos de água doce não possui o ciclo da ureia ativo

(Rodrigues et al. 2011), ou com atividade muito baixa comparado aos mamíferos (Kaushik et al. 1988), a arginina é necessária para a ureogênese e síntese de proteína corporal, resultando em maior crescimento do animal. Além disso, a arginina atua como importante estimulador da insulina e do hormônio do crescimento (Newsholme et al. 2005), tendo papel importante nos processos anabólicos (Wan et al. 2006).

Ainda que tenham sido encontradas diferenças nas exigências quantitativas de arginina, a melhor relação arginina:lisina estimada para máximo ganho em peso dos peixes no presente trabalho (0,89:1) aproxima-se da relação descrita por Santiago e Lovell (1988), de 0,82:1, para alevinos de tilápias do Nilo. Assim, em função da importante relação entre a arginina e a lisina, ainda que as exigências quantitativas possam variar por diversas razões, é importante considerar a relação entre esses aminoácidos para evitar antagonismos entre os mesmos.

No presente trabalho, a taxa de eficiência proteica e a eficiência na retenção de proteína foram inferiores para os peixes que receberam a dieta com o menor nível de arginina (0,95%), indicando que a mesma se encontrava deficiente e/ou desbalanceada em termos de relação arginina:lisina, ocasionando a pior utilização da proteína da dieta pelos peixes. Por outro lado, as dietas contendo níveis a partir de 1,1% de arginina, atenderam às exigências quantitativas e proporcionaram melhor balanceamento dos aminoácidos, e, portanto, foram utilizadas de forma mais eficiente pelos peixes. O mesmo comportamento foi demonstrado por Zhou et al. (2012a) para a retenção de nitrogênio em juvenis de *M. salmoides*, que obtiveram melhor retenção em peixes que receberam dietas contendo 1,94 a 3,0% de arginina.

Os resultados de umidade corporal obtidos no presente estudo, são semelhantes aos descritos por Alam et al. (2002), que trabalhando com *Paralichthys olivaceus*, verificaram que os peixes alimentados com menores teores de arginina na dieta apresentam os maiores índices de umidade corporal, possivelmente relacionado ao menor tamanho corporal dos peixes do que ao efeito da arginina sobre a deposição corporal de nutrientes. Inversamente, os peixes de maior tamanho possuem maiores teores de minerais, fato que justifica a maior deposição de minerais em peixes que receberam dietas com mais de 1,1% de arginina, e que obtiveram maior crescimento corporal.

De acordo com Khedara et al. (1996) a arginina influencia no metabolismo lipídico, pois está envolvida no processo de oxidação dos lipídeos (Fu et al. 2005), portanto, deve ser incluída na dieta de animais de importância econômica para reduzir a

massa de gordura corporal (Jobgen et al. 2006). Contudo, no presente trabalho, a composição corporal de lipídios não foi influenciada pelo nível de arginina na dieta, possivelmente pelo fato do menor nível de arginina utilizado (0,95%) ter sido suficiente para atender as exigências para o metabolismo de lipídeos.

Com relação à composição corporal de aminoácidos (Tabela 5), o aumento linear nos teores de arginina corporal conforme o aumento nos níveis dietéticos de arginina observados no presente estudo discordam de Zhou et al. (2012a) que não verificaram diferenças na concentração de arginina corporal de *M. salmoides*. Portz e Cyrino (2003) relataram que a variação no conteúdo corporal de aminoácidos é pouco variável em peixes, sendo pouco afetada pelo tamanho do animal. No presente trabalho, é possível que a arginina possa estar situada em algum tecido específico que possa alterar essa proporção, uma vez que foram utilizados peixes inteiros, com escamas e vísceras, sendo comum a retirada desses itens em estudos de nutrição de peixes.

No presente trabalho, a retenção corporal de aminoácidos foi influenciada para todos os 10 aminoácidos essenciais analisados. Os máximos valores de retenção de aminoácidos essenciais foram observados em peixes que receberam dietas contendo 1,31 a 1,37% de arginina. Por outro lado, Zhou et al. (2012a) verificaram relação inversa entre o nível de arginina na dieta e seu aproveitamento pelos peixes, fato que não foi observado no presente estudo.

Os parâmetros bioquímicos do sangue não foram influenciados ( $P > 0,05$ ) pelos níveis de arginina das dietas (Tabela 7). Porém, a quantidade de sangue coletada dos peixes que receberam o menor nível de inclusão de arginina da dieta (0,95%) foi insuficiente para a realização de todas as análises, que de acordo com Farrel (2001), pode ser explicado, pois o volume sanguíneo de peixes teleósteos é cerca de 3 a 5% do peso corporal. Portanto, priorizaram as análises hematológicas que necessitavam de uma menor alíquota de sangue e pelo fato da arginina influenciar o sistema imune (Costas et al. 2011), além de participar nos processos de resistência a infecções (Buentello et al. 2001).

Mesmo a arginina possuindo efeito sobre o metabolismo energético, por meio da síntese de óxido nítrico (Kawano et al. 2003), as frações lipídicas séricas, não foram influenciadas pelos níveis dietéticos de arginina. Os valores de referência para os parâmetros bioquímicos para peixes ainda não estão totalmente padronizados, sendo bastante variável em tilápias (Neu et al. 2013). Contudo, pode-se sugerir que os juvenis

de tilápia do atual estudo apresentaram valores dentro da faixa considerada normal para a espécie.

A maioria dos peixes teleósteos excreta a amônia como produto principal, sendo a menor parte excretada na forma de ureia. A maior excreção de ureia é associada ao catabolismo das purinas e ao consumo excessivo de arginina (Kaushik et al. 1988), fato que não foi observado no presente estudo. Como não houve diferenças entre a quantidade de ureia no plasma dos peixes avaliados, acredita-se que essa espécie tenha baixa atividade de carbamoil-fosfatase e, portanto, o ciclo da ornitina-ureia não seja funcional ou possua baixa atividade, sendo reportado por McKenzie et al. (1999) por meio de testes com infusão de sais de amônia em estudo realizado com tilápia do Nilo.

O padrão hematológico não foi alterado em função da inclusão dietética de arginina (Tabela 7). Segundo Hrubec et al. (2000) as análises químicas relacionadas à hematologia de peixes podem proporcionar informações substanciais para o diagnóstico clínico, além de ser importante para o conhecimento das condições de equilíbrio normais e patológicas (Azevedo et al. 2006).

Os valores de eritrócitos não foram influenciados pelos níveis dietéticos de arginina no presente trabalho e ficaram próximos aos resultados observados por Araújo et al. (2011), para tilápias alimentadas com rações contendo diferentes fontes de óleos. Os valores de hemoglobina encontrados para as tilápias alimentadas com dietas contendo níveis crescentes de arginina variaram de 8,17 a 10,08 g.dL<sup>-1</sup>, dentro do intervalo descrito por Bittencourt et al. (2003) como normal para tilápias do Nilo criadas em sistemas semi-intensivos.

Os níveis de arginina da dieta não influenciaram a porcentagem do hematócrito (32,25 a 33,42%) para os peixes do presente trabalho. Zhou et al. (2012b) observaram o mesmo efeito para alevinos de *Epinephelus awoara*. Por outro lado, Buentello et al. (2007) verificaram que quanto maior o nível de arginina da dieta, maior a porcentagem de hematócrito em *Ictalurus punctatus*, sugerindo ainda que a arginina tenha um papel fisiológico no processo hematopoiético, reforçando a hipótese proposta por Goldsby et al. (2003), que relataram que o hematócrito, eritrócitos e leucócitos podem ser utilizados como indicadores da hematopoiese.

Khan e Abidi (2011) verificaram que o aumento de arginina da dieta pode elevar os níveis de hematócrito. Ghiraldelli et al. (2006) relataram que o hematócrito, pode, em parte, explicar o nível de estresse em que os peixes são submetidos. Por outro lado, no presente trabalho, os peixes que receberam a dieta com menor quantidade de arginina

(0,95%) não apresentaram diferenças dos demais níveis testados. Possivelmente a arginina atua primariamente para manter as condições fisiológicas necessárias a manutenção do organismo e, posteriormente, é ativada para o crescimento do animal.

Os valores obtidos para as variáveis de VCM, HCM e CHCM (Tabela 7) não foram alterados pelo conteúdo de arginina da dieta. Buentello et al. (2007) não verificaram diferenças nos valores de VCM de *Ictalurus punctatus* alimentados com dietas com níveis crescentes de arginina. Os resultados de VCM e CHCM estão dentro da amplitude de variação e aceitos como normais para peixes teleósteos, inclusive tilápias, como descrito por Tavares Dias e Moraes (2004).

Ainda que a arginina tenha importante função no sistema imunológico (Pohlenz et al. 2012), a pequena variação nos valores de leucócitos e trombócitos nos peixes que receberam dieta com diferentes níveis de arginina pode ser explicada pelo fato dos peixes não terem sido submetidos a desafio. Assim, os valores de leucócitos entre 23639 a 36790, e trombócitos entre 27696 a 52103  $\mu\text{L}^{-1}$  de sangue são considerados normais para a espécie de acordo com Hrubec et al. (2000).

Considerando que fibras com diâmetros menores que 20  $\mu\text{m}$  indicam ocorrência de hiperplasia, enquanto diâmetros maiores que 50  $\mu\text{m}$  se relacionam com a hipertrofia (Valente et al. 1999; Rowleron e Veggetti 2001), foi observado no presente estudo que em todos os tratamentos, o crescimento muscular ocorreu por hiperplasia e hipertrofia durante o período do experimento.

Na classe de fibras com diâmetros  $<20 \mu\text{m}$ , os peixes que receberam o menor nível de arginina apresentaram a maior frequência em relação aos demais tratamentos, caracterizando intensa hiperplasia (Valente et al. 1999). Essa hiperplasia é do tipo em mosaico, caracterizado por fibras de diferentes diâmetros, característica do período juvenil (Johnston e Hall 2004) que foi o período analisado nesse estudo. Na hiperplasia em mosaico, novas fibras musculares são formadas a partir da fusão e diferenciação entre as células satélites, utilizando fibras diferenciadas como suporte; por esse motivo, observam-se, nos cortes histológicos, fibras maiores rodeadas por fibras de pequenos diâmetros recém-formadas (Rowleron e Veggetti 2001). Nessa mesma classe de diâmetro, foi observado redução linear dos níveis dietéticos de arginina sobre a frequência de fibras, sugerindo que o aumento no nível de arginina está relacionado com uma diminuição na contribuição da hiperplasia para o crescimento muscular de juvenis de tilápia. Por outro lado, para a frequência de fibras com 20 a 50  $\mu\text{m}$  de diâmetro, foi observado início da hipertrofia das fibras recém-formadas, sendo que nos tratamentos dietéticos a partir de

1,10% de arginina, mais de 60% das fibras musculares observadas pertenciam a esta classe de diâmetro, concordando com Almeida et al. (2008; 2010). De acordo com a análise de regressão quadrática o nível de 1,45% de arginina dietética apresenta a maior frequência de distribuição de fibras dessa classe de diâmetro. Dessa forma, exceto para o nível 0,95% de arginina, a inclusão de arginina na dieta diminuiu o tempo de ocorrência de hiperplasia e promoveu o início da hipertrofia. Esses resultados corroboram com estudos em mamíferos que descrevem a função da arginina como responsável em estimular a síntese de proteínas musculares (Yao et al. 2008) necessária para o crescimento muscular por hipertrofia.

Os peixes possuem crescimento indeterminado e, portanto, é difícil mensurar o peso final do indivíduo adulto, por isso, a hiperplasia das fibras se estendem por um período mais prolongado (Rowlerson e Veggetti 2001), além disso, ocorrem nos peixes, os dois modos de crescimento muscular, hipertrofia e hiperplasia, diferente em relação às aves e mamíferos, que apresentam crescimento apenas por hipertrofia, nascendo com um número determinado de fibras. No presente estudo, foi verificado que, mesmo os peixes que receberam a maior quantidade de arginina dietética, apresentando as maiores frequências de fibras com 20-50  $\mu\text{m}$  ou  $>50 \mu\text{m}$ , apresentaram hiperplasia, demonstrada pela frequência de fibras da classe  $<20 \mu\text{m}$ .

Concordando com os resultados obtidos no presente experimento, que verifica uma análise de correlação negativa entre as fibras  $<20 \mu\text{m}$  de diâmetro e o peso dos peixes (-0,59), Alfei (1994) e Almeida et al. (2008; 2010) observaram que a contribuição da hiperplasia para o crescimento muscular diminui com o tamanho corporal do peixe. Valente et al. (1999) verificaram que as fibras brancas de trutas, com diâmetros inferiores a 25  $\mu\text{m}$  estão inversamente correlacionadas ao comprimento corporal, sugerindo o mesmo efeito. Alguns autores sugeriram que a hiperplasia cessa quando o animal atinge 44% do seu tamanho final, ocorrendo maior crescimento muscular por hipertrofia a partir desse período (Johnston et al. 2003). Mesmo comportamento verificado no atual estudo em que as fibras com diâmetros entre 20 a 50  $\mu\text{m}$  apresentaram correlação positiva com o peso corporal dos peixes (0,64).

Poucos estudos têm relacionado a suplementação de aminoácidos com o crescimento muscular. Aguiar et al. (2005) avaliaram o crescimento muscular em larvas de tilápias do Nilo que receberam quatro níveis de lisina ou uma dieta comercial e não observaram alterações no número e diâmetro das fibras musculares entre os tratamentos com lisina. Porém, os peixes que receberam a dieta comercial apresentaram maior peso

final. Os autores observaram que o crescimento muscular ocorreu, principalmente, por hiperplasia, sugerindo que a lisina possa ter retardado o início da hipertrofia.

No presente trabalho, de forma geral, observou-se que a deficiência dietética de arginina reduz a taxa de crescimento, a retenção de nutrientes, a composição corporal e, influencia na frequência de distribuição das classes de fibras musculares, mas não influencia as respostas hematológicas ou bioquímicas de juvenis de tilápia do Nilo nas condições testadas. Conclui-se que a exigência dietética de arginina em dietas para os juvenis de tilápia do Nilo é de 1,36%, com relação arginina:lisina de 0,89:1.

## Referências

- Aguiar, D.H., M.M. Barros, C.R. Padovani, L.E. Pezzato, e M. Dal Pai-Silva.** 2005. Growth characteristics of skeletal muscles tissue in *Oreochromis niloticus* larvae fed on a lysine supplemented diets. *Journal of Fish Biology* 67: 1287-1298.
- Ahmed, I.** 2013. Dietary arginine requirement of fingerling Indian catfish (*Heteropneustes fossilis*, Bloch). *Aquaculture International* 21: 255-271.
- Alam, M.S., S. Teshima, S. Koshio, e Ishikawa, M.** 2002. Arginine requirement of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* estimated by growth and biochemical parameters. *Aquaculture* 205: 127-140.
- Alfei, L., A. Onali, L. Spanò, P.T. Colombari, P.L. Altavista, e R. De Vita.** 1994. PCNA/cyclin expression and BrdU uptake define proliferating myosatellite cells during hyperplastic muscle growth of fish (*Cyprinus carpio* L). *European Journal of Histochemistry* 38: 151-162.
- Almeida, F.L.A., R.F. Carvalho, D. Pinhal, C.R. Padovani, C. Martins, e M. Dal Pai-Silva.** 2008. Differential expression of myogenic regulatory factor MyoD in pacu skeletal muscle (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887: Serrasalminae, Characidae, Teleostei) during juvenile and adult growth phases. *Micron* 39: 1306-1311.
- Almeida, F.L.A., N.S. Pessotti, D. Pinhal, C.R. Padovani, N.J. Leitão, R.F. Carvalho, C. Martins, M.C. Portella, e M. Dal Pai-Silva.** 2010. Quantitative

expression of myogenic regulatory factors MyoD and myogenin in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) skeletal muscle during growth. *Micron* 41: 997-1004.

**American Public Health Association.** 1998. Standard Methods for the examination of water and wastewater. 824p. Apha, Washington DC, USA.

**Association of Official Analytical Chemists.** 1995. Oficial methods of analysis of the association of Official Analytical Chemists. pp. 1-30. AOAC, Arlington.

**Araújo, D.M., A.C. Pezzato, M.M. Barros, L.E. Pezzato, e Nakagome, F.K.** 2011. Hematologia de tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas com óleos vegetais e estimuladas pelo frio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 46: 294-302.

**Azevedo, T.M.P., M.L. Martins, M.M. Yamashita, e C.J. Francisco.** 2006. Hematologia de *Oreochromis niloticus*: comparação entre peixes mantidos em piscicultura consorciada com suínos e em pesque-pague no valo do rio Tijucas, Santa Catarina, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca* 32: 41-49.

**Bittencourt, N.L.R., L.M. Molinari, D.O. Scoaris, R.B. Pedroso, C.V. Nakamura, T. Ueda-Nakamura, B.A. Abreu Filho, e B.P. Dias Filho.** 2003. Haematological and biochemical values for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in semi-intensive system. *Acta Scientiarum Biological Sciences* 25: 385-389.

**Borlongan, I. G.** 1991. Arginine and threonine requirements of milkfish (*Chanos chanos* Forsskal) juveniles. *Aquaculture* 93, 313-322.

**Buentello, J.A. & D.M. Gatlin III.** (1999). Nitric oxide production in activated macrophages from channel catfish (*Ictalurus punctatus*): influence of dietary arginine and culture media. *Aquaculture* 179: 513-521.

**Buentello, J.A. e D.M. Gatlin III.** 2001. Effects of elevated dietary arginine on resistance of channel catfish to exposure to *Edwardsiella ictaluri*. *Journal of Aquatic Animal Health* 13: 194-201.

- Buentello, J.A., M. Reyes-Becerril, M.J. Romero-Geraldo, e F.J. Ascencio-Valle.** 2007. Effects of dietary arginine on hematological parameters and innate immune function of channel catfish. *Journal of Aquatic Animal Health* 19: 195-203.
- Cheng, Z., D.M. Gatlin III, e A. Buentello.** 2012. Dietary supplementation of arginine and/or glutamine influences growth performance, immune responses and intestinal morphology of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*). *Aquaculture*, 362-363: 39-43.
- Collier, H.B.** 1944. The standardization of blood haemoglobin determinations. *Canadian Medical Association Journal* 50: 550-552.
- Costas, B., L.E.C. Conceição, J. Dias, B. Novoa, A. Figueras, e A. Afonso.** 2011. Dietary arginine and repeated handling increase disease resistance and modulate innate immune mechanisms of Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858). *Fish & Shellfish Immunology* 31: 838-847.
- Deriggi, G.F., L.A.K.A. Inoue, e G. Moraes.** 2006. Stress responses to handling in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus): assessment of eugenol as an alternative anesthetic. *Acta Scientiarum Biological Sciences* 28: 269-274.
- D'mello, J.P.F.** 2003. Amino acids as multifunctional molecules. In: *Amino acids in animal nutrition* (ed D'mello, J.P.F.). 513 p. Cabi Publishing, London.
- El-Sayed, A.F.M.** 2006. *Tilapia culture*. 277p. CABI Publishing, Wallingford.
- Farrel, A.P.** 2001. Circulation in vertebrates. *Encyclopedia of Life Sciences*, 1-15. doi: 10.1038/npg.els.0001829
- Fu, W.J., T.E. Haynes, R. Kohli, J. Hu, W. Shi, T.E. Spencer, R.J. Carroll, C.J. Meininger, e G. Wu.** 2005. Dietary L-arginine supplementation reduces fat mass in Zucker diabetic fatty rats. *The Journal of Nutrition* 135: 714-721.
- Furuya, W.M.** (2010). *Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias*. 100 p. GFM, Toledo.

- Ghiraldelli, L., M.L. Martins, M.M. Yamashita, e G.T. Jerônimo.** 2006. Hematologia de *Oreochromis niloticus* (Cichlidae) e *Cyprinus carpio* (Cyprinidae) mantidos em diferentes condições de manejo e alimentação no Estado de Santa Catarina, Brasil. *Acta Scientiarum Biological Sciences* 28: 319-325.
- Godinho, H.P.** 2007. Estratégias reprodutivas de peixes aplicada à aquicultura: bases para o desenvolvimento de tecnologias de produção. *Revista Brasileira de Reprodução Animal* 31: 351-360.
- Goldenfarb, P.B., F.P. Bowyer, E. Hall, e E. Brosius.** 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determinations. *American Journal Clinical of Pathology* 56: 35-39.
- Goldsby, R.A., T.J. Kindt, B.A. Osborne, e J. Kuby.** Immunology. 554p. Freeman, New York.
- Hrubec, T.C., J.L. Cardinale, e S.A. Smith.** 2000. Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured tilapia (*Oreochromis hybrid*). *Veterinary Clinical Pathology* 29: 7-12.
- Johnston, I.A., S. Manthri, R. Alderson, A. Smart, P. Campbell, D. Nickel, B. Robertson, C.G.M. Paxton, e M.L. Burt.** 2003. Freshwater environment affects growth rate and muscle fibre recruitment in seawater stages of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *The Journal of Experimental Biology* 203: 2539-2552.
- Johnston, I.A. e T. Hall.** 2004. Mechanisms of muscle development and responses to temperature changes in fish larvae. *American Fisheries Society Symposium* 40: 85-116.
- Jobgen, W.S., S.K. Fried, W.J. Fu, C.J. Meininger, e G. Wu.** 2006. Regulatory role for the arginine-nitric oxide pathway in metabolism of energy substrates. *Journal of Nutritional Biochemistry* 17: 571-588.
- Kaushik, S.J., B. Fauconneau, L. Terrier, e J. Gras.** 1988. Arginine requirement and status assessed by different biochemical indices in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Aquaculture* 70: 75-95.

- Kawano, T., M. Nomura, A. Nisikado, Y. Nakaya, e S. Ito.** 2003. Supplementation of L-arginine improves hypertension and lipid metabolism but not insulin resistance in diabetic rats. *Life Sciences* 73: 3017-3026.
- Khan, M.A. e S.F. Abidi.** 2011. Dietary arginine requirement of *Heteropneustes fossilis* fry (Bloch) based on growth, nutrient retention and haematological parameters. *Aquaculture Nutrition* 17: 418-428.
- Khedara, A., Y. Kawai, J. Kayashita, e N. Kato.** 1996. Feeding rats the nitric oxide synthase inhibitor, L-N<sup>w</sup>Nitroarginine, elevates serum triglyceride and cholesterol and lowers hepatic fatty acid oxidation. *The Journal of Nutrition* 126: 2563-2567.
- Mackereth, J.F.H., J. Heron, e J.F. Talling.** 1978. Water analysis: some revised methods for limnologists. 121p. Freshwater Biological Association, Cumbria.
- Mckenzie, D.J., G. Piraccini, A. Felskie, P. Romano, P. Bronzi, e L. Bolis.** 1999. Effects of plasma total ammonia content and pH on Urea excretion in Nile tilapia. *Physiological and Biochemical Zoology* 72: 116-125.
- Martins, M.L., F. Pilarsky, M.E. Onaka, T.D. Nomura, J. Fenerick, K. Ribeiro, D. Makoto, Y. Myiazaki, P.M. Castro, e E.B. Malheiros.** 2004. Hematologia e resposta inflamatória aguda em *O. niloticus* submetidas aos estímulos único e consecutivos de estresse de captura. *Boletim do Instituto de Pesca* 30: 71-80.
- Ministério da Pesca e Aquicultura - MPA.** 2013. Boletim estatístico da pesca e aquicultura 2011. 60p. Brasília.
- Moinard, C., F. Caldefie-Chezet, S. Walrand, M.P. Vasson, e L. Cynober.** 2002. Evidence that glutamine modulates respiratory burst in stressed rat polymorphonuclear cells through its metabolism into arginine. *British Journal of Nutrition* 88: 689-695.
- National Research Council – NRC.** 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. 376p. National Academy Press, Washington, DC.

- Neu, D.H., W.M. Furuya, W.R. Boscolo, F.R. Potrich, T.A. Lui, e Feiden, A.** 2013. Glycerol inclusion in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles. *Aquaculture Nutrition* 19: 211-217.
- Newsholme, P., L. Brennan, B. Rubi, e P. Maechler.** 2005. New insights into amino acid metabolism, beta-cell function and diabetes. *Clinical Science* 108: 185-194.
- Pezzato, L.E., M.M. Barros, D.M. Fracalossi, e J.E.P. Cyrino.** 2004. Nutrição de peixes. In: Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva (eds. **Cyrino, J.E.P., E.C. Urbinati, D.M. Fracalossi, e N. Castagnoli**) pp 75-169. Tecart, São Paulo.
- Pohlenz, C., A. Buentello, W. Mwangi, e D.M. Gatlin III.** 2012. Arginine and glutamine supplementation to culture media improves the performance of various channel catfish immune cells. *Fish & Shellfish Immunology* 32: 762-768.
- Popma, T.J. e L.L. Lovshin.** 1995. Worldwide Prospects for Commercial Production of Tilapia. 42p. International Center for Aquaculture and Aquatic Environments, Auburn.
- Popma, T.J. e M. Masser.** 1999. Tilapia: life history and biology. SRAC Publication 283: 1-4.
- Portz, L. e J.E.P. Cyrino.** 2003. Comparison of the amino acid contents of roe, whole body and muscle tissue and their A/E ratios for largemouth bass *Micropterus salmoides* (Lacepède, 1802). *Aquaculture Research* 34: 585-592.
- Rawling, M.D., D.L. Merrifield, e S.J. Davies.** 2009. Preliminary assessment of dietary supplementation of Sangrovit<sup>®</sup> on red tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and health. *Aquaculture* 294: 118-122.
- Rodrigues, E., C.N.K. Suda, E. Rodrigues Júnior, M.F. Oliveira, C. Santos Carvalho, e G. Sree Vani.** 2011. Antarctic fish metabolic responses as potential biomarkers of environmental impact. *Oecologia Australis* 15: 124-149.

- Rosenfeld, G.** 1947. Corante pancrômico para hematologia e citologia clínica. Nova combinação dos componentes do May-Grünwald e do Giemsa num só corante de emprego rápido. Memórias do Instituto Butantan 20: 329-334.
- Rowlerson, A. e A. Veggetti.** 2001. Cellular mechanisms of post-embryonic muscle growth in aquaculture species. In: Muscle Development and Growth (ed **Johnston, I.A.**) pp. 103-139. Academic Press, London.
- Santiago, C.B. e R.T. Lovell.** 1988. Amino acid requirement for growth of Nile tilapia. The Journal of Nutrition 118: 1540-1546.
- Statsoft, Inc.** 2005. *STATISTICA* (data analysis software system), version 7.1.
- Strickland, J.D.H. e T.R. Parsons.** 1972. A practical handbook of sea water analysis. 310p. Fisheries Research Board of Canada, Ottawa.
- Tavares-Dias, M. e F.R. Moraes.** 2004. Hematologia de peixes teleósteos. 144p. Villimpress Complexo Gráfico, Ribeirão Preto.
- Valente, L.M.P., E. Rocha, E.F.S. Gomes, M.W. Silva, M.H. Oliveira, R.A.F. Monteiro, e B. Fauconneau.** 1999. Growth and dynamics of white and red muscle fibres in fast- and slow-growing strains of rainbow trout. Journal of Fish Biology 55: 675-691.
- Wan, J.L; K.S. Mai, e Q.H. Ai.** 2006. The recent advance on arginine nutritional physiology in fish. Journal of Fisheries Sciences of China 13: 679-685.
- Wintrobe, M.M.** 1934. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. Folia Hematologica 51: 32-49.
- Wu, G., P.K. Davis, N.E. Flynn, D.A. Knabe, e J.T. Davidson.** 1997. Endogenous synthesis of arginine plays an important role in maintaining arginine homeostasis in postweaning growing pigs. The Journal of Nutrition 127: 2342-2349.
- Wu, G. e S.M. Morris Jr.** 1998. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. The Biochemical Journal 336: 1-17.

- Yao K., Y.L. Yin, W. Chu, Z. Liu, D. Deng, T. Li, R. Huang, J. Zhang, B. Tan, W. Wang, e G. Wu.** 2008. Dietary Arginine Supplementation Increases mTOR Signaling Activity in Skeletal Muscle of Neonatal Pigs. *The Journal of Nutrition* 138: 867-872.
- Zehra, S. e M.A. Khan.** 2013. Arginine requirement of fingerling Indian major carp, *Catla catla* (Hamilton). *Journal of the World Aquaculture Society* 44: 363-373.
- Zhou, H., N. Chen, X. Qiu, M. Zhao, e L. Jin.** 2012a. Arginine requirement and effect arginine intake on immunity in largemouth bass, *Micropterus salmoides*. *Aquaculture Nutrition* 18: 107-116.
- Zhou, Q.C., W.P. Zeng, H.L. Wang, F.J. Xie, T. Wang, e C.Q. Zheng.** 2012b. Dietary arginine requirement of juvenile yellow grouper *Epinephelus awoara*. *Aquaculture* 350-353: 175-182.
- Zimermann, S., R.P. Ribeiro, L. Vargas, e H.L.M. Moreira.** 2001. Fundamentos da moderna aquicultura. 200p. ULBRA, Canoas.

## 4.0 Capítulo II

### **Desempenho produtivo, respostas hematológicas, bioquímicas e crescimento muscular de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com níveis crescentes de isoleucina<sup>2</sup>**

**Resumo:** O objetivo do presente estudo foi determinar as exigências dietéticas de isoleucina em dietas para juvenis de tilápias do Nilo, com base no desempenho produtivo, respostas hematológicas e bioquímicas e crescimento muscular. Foram utilizados 300 juvenis de tilápia do Nilo ( $18,09 \pm 0,11$  g), distribuídos em 20 aquários de fibra de vidro com capacidade de 500 litros cada. Foram elaboradas cinco dietas extrusadas isoproteicas ( $280 \text{ g.kg}^{-1}$  de proteína bruta) e isoenergéticas ( $3000 \text{ kcal.kg}^{-1}$ ) e 7,00; 8,18; 9,35; 10,53 e 11,70  $\text{g.kg}^{-1}$  de isoleucina. Não foram observadas diferenças ( $P > 0,05$ ) para os parâmetros de desempenho produtivo, parâmetros hematológicos e bioquímicos, composição centesimal, composição corporal de aminoácidos e crescimento muscular. A retenção corporal de isoleucina reduziu linearmente com o aumento de isoleucina na dieta. Concluiu-se que dieta com  $7,00 \text{ g.kg}^{-1}$  de isoleucina atende as exigências de tilápia do Nilo.

**Palavras-chave:** aminoácido essencial, aminoácido de cadeia ramificada, fibras musculares, hematologia e bioquímica, *Oreochromis niloticus*

### **Growth performance, hematological and biochemical responses and muscle growth of juvenile Nile tilapia fed with levels of isoleucina**

**Abstract:** The aim of the present study was to determine the dietary isoleucine requirement of Nile tilapia juvenile on growth performance, biochemical and hematological responses and muscle growth. Three-hundred Nile tilapia juveniles ( $18.09 \pm 0.11$  g) were distributed into 20 fiberglass aquaria of 500-L each. Five extruded diets isonitrogenous ( $280 \text{ g.kg}^{-1}$  crude protein) and isocaloric ( $3000 \text{ kcal.kg}^{-1}$  digestible energy) with 7.00; 8.18; 9.35; 10.53 and 11.70  $\text{g.kg}^{-1}$  of isoleucina were elaborated. No significant difference ( $P > 0.05$ ) on growth performance parameters, hematological and biochemical parameters, amino acid body composition and muscle growth were observed. The body amino acid retention had an effect only for body isoleucine that

---

<sup>2</sup> Artigo redigido de acordo com as normas do periódico científico Aquaculture Research

decreased according to increasing dietary isoleucine levels. It was concluded that diet containing 7.00 g.kg<sup>-1</sup> isoleucine meets the requirement for Nile tilapia juveniles.

**Key words:** essential amino acid, branched-chain amino acid, muscle fibers, hematology and biochemical, *Oreochromis niloticus*

## Introdução

Dentre as diversas espécies de peixes com potencial para a aquicultura no Brasil, a tilápia tem se destacado em criação intensiva (Furuya & Furuya 2010) pelo desempenho produtivo e a qualidade da sua carne (Popma & Masser 1999). O Brasil está entre os maiores produtores de tilápia (FAO 2007) e a produção nacional dessa espécie em 2011 foi estimada em mais de 250 mil toneladas (MPA 2013).

A proteína é o nutriente de maior custo em dietas para peixes (Ahmed & Khan 2007) e o conteúdo, balanceamento e disponibilidade dos aminoácidos são variáveis nos alimentos (Cowey 1994). Apesar dos avanços nos estudos sobre as exigências de aminoácidos para tilápias, ainda não foram estabelecidas as exigências de alguns aminoácidos em dietas práticas para as atuais linhagens (variedades) no Brasil. Além da metionina, lisina e treonina, é importante a determinação das exigências de outros aminoácidos essenciais, principalmente em dietas reduzidas em proteína e elaboradas com base em alimentos de origem vegetal. Entre os aminoácidos essenciais, destaca-se a isoleucina, que tem importante papel na síntese proteica e no metabolismo energético do músculo estriado esquelético (Khan & Abidi 2007).

No sistema imunológico, além da isoleucina, os demais aminoácidos ramificados (leucina e valina) melhoram a capacidade de resposta dos linfócitos contra agentes patogênicos, mas o mecanismo da ação desse aminoácido no sistema imune ainda não foi totalmente esclarecido (Calder 2006). Em dietas com deficiências de aminoácidos ramificados, além da redução no crescimento, observa-se queda na capacidade de resposta dos linfócitos ao agente estimulante e aumenta a susceptibilidade a infecções (Calder 2006).

Diversos pesquisadores identificaram a exigência da isoleucina para várias espécies de peixes (Chance et al. 1964; Borlongan & Coloso 1993; Benakappa & Varghese 2003), entretanto, a maioria dos estudos não leva em consideração as alterações

metabólicas, imunes ou fisiológicas. Pela sua ação na síntese proteica, é possível que a inclusão dietética de isoleucina possa alterar o padrão de crescimento muscular.

Nos peixes o crescimento muscular ocorre por meio de mecanismos de hiperplasia e hipertrofia. Na hiperplasia, a fusão entre células satélites ativadas resulta na formação de novas fibras musculares na superfície das fibras existentes (Johnston 1999). Na hipertrofia as células satélites ativadas se fundem com fibras musculares existentes, aumentando o número de núcleos para maior síntese de miofibrilas, levando ao aumento na área da fibra muscular (Koumans et al. 1994). Embora a nutrição exerça influência sobre o crescimento, não há estudos sobre a ação da isoleucina sobre crescimento muscular de tilápias.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos da suplementação de isoleucina sobre o desempenho produtivo, parâmetros hematológicos, bioquímicos e o crescimento muscular em juvenis de tilápias do Nilo.

## **Material e Métodos**

### Peixes e manejo

O experimento foi realizado no Laboratório de Aquicultura do Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura (GEMAQ) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Unioeste - *campus* Toledo.

O presente projeto foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Unioeste sob o protocolo N° 01812 de 2012.

### Dietas experimentais e manejo alimentar

Foram elaboradas cinco rações (Tabelas 1 e 2) segundo as recomendações propostas por Furuya (2010) e NRC (2011) para o atendimento das exigências nutricionais de juvenis, contendo níveis crescentes de isoleucina (7,00; 8,18; 9,35; 10,53 e 11,70 g.kg<sup>-1</sup>) da dieta. Os ingredientes foram moídos em moinhos do tipo martelo com peneira de 0,5 milímetros de diâmetro. A dieta foi processada de maneira extrusada (extrusora Ex-Micro®) com 3mm de diâmetro. Os peixes foram alimentados quatro vezes ao dia (8h, 11h, 14h e 17h), até a saciedade aparente, por um período de 70 dias.

**Tabela 1.** Composição (g.kg<sup>-1</sup>) das rações experimentais com diferentes níveis de isoleucina para juvenis de tilápias do Nilo

Ingredientes	Isoleucina dietética (g.kg <sup>-1</sup> )				
	7,00	8,18	9,35	10,53	11,70
Milho, grão	257,38	257,38	257,38	257,38	257,38
Trigo, farelo	250,00	250,00	250,00	250,00	250,00
Soja, farelo	124,93	124,93	124,93	124,93	124,93
Arroz, quirera	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Peixe, farinha 55	76,09	76,09	76,09	76,09	76,09
Ácido glutâmico	50,00	47,25	44,50	41,75	39,00
Sangue, farinha	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00
Calcário	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
Óleo soja	14,80	14,80	14,80	14,80	14,80
Fosfato bicálcico	6,92	6,92	6,92	6,92	6,92
Suplemento mineral e vitamínico <sup>1</sup>	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
L-alanina	40,00	41,50	43,00	44,50	46,00
L-lisina	4,62	4,64	4,66	4,68	4,70
L-isoleucina	0,00	1,20	2,40	3,60	4,80
L-treonina	3,87	3,88	3,89	3,90	3,91
L-triptofano	0,45	0,46	0,46	0,47	0,47
DL-metionina	1,74	1,75	1,77	1,78	1,80
Sal	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Ácido propiônico	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
BHT <sup>2</sup>	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20

<sup>1</sup>Níveis de garantia por kg do produto - Premix (DSM-Roche®): Vit. A, 24.000 UI; Vit. D3, 6.000 UI; Vit. E, 300 mg; Vit. K3, 30 mg; Vit. B1, 40 mg; Vit. B2, 40 mg; Vit. B6, 35 mg; Vit. B12, 80 mg; Ác. fólico, 12 mg; Pantotenato Ca, 100 mg; Vit. C, 600 mg; Biotina, 2 mg; Colina, 1.000 mg; Niacina; Ferro, 200 mg; Cobre, 35 mg; Manganês, 100 mg; Zinco, 240 mg; Iodo, 1,6 mg; Cobalto, 0,8 mg.

<sup>2</sup>BHT = Butil Hidroxi Tolueno

**Tabela 2.** Composição proximal ( $\text{g.kg}^{-1}$ ) das rações experimentais com diferentes níveis de isoleucina para juvenis de tilápias do Nilo

	<b>Composição proximal (<math>\text{g.kg}^{-1}</math>)</b>				
Energia digestível ( $\text{Kcal.kg}^{-1}$ )	3000,00	3003,70	3007,40	3011,10	3014,80
Proteína Bruta	280,00	280,00	280,00	280,00	280,00
Amido	324,71	324,71	324,71	324,71	324,71
Cálcio	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00
Fibra bruta	35,96	35,96	35,96	35,96	35,96
Fósforo total	8,11	8,11	8,11	8,11	8,11
Fósforo disponível	5,47	5,47	5,47	5,47	5,47
Gordura	40,42	40,42	40,42	40,42	40,42
<b>Aminoácidos essenciais<sup>1</sup></b>					
Arginina	12,50	12,40	11,30	12,60	12,40
Fenilalanina	10,40	10,70	10,50	10,40	10,30
Histidina	6,02	5,72	5,69	5,79	5,98
Isoleucina	7,00	8,18	9,35	10,53	11,70
Leucina	16,90	17,00	17,20	17,00	16,70
Lisina	14,57	14,70	14,92	14,69	15,11
Metionina	5,07	5,11	5,23	5,13	5,34
Treonina	11,86	11,64	12,08	11,82	11,86
Triptofano	3,70	3,65	3,56	3,67	3,71
Valina	10,24	10,39	10,65	10,65	10,48
<b>Aminoácidos não essenciais<sup>1</sup></b>					
Ácido aspártico	18,54	18,55	18,84	18,64	18,56
Ácido glutâmico	82,34	82,45	80,51	76,86	72,41
Alanina	50,12	51,32	57,15	55,49	56,89
Cistina	2,81	2,83	2,82	2,84	2,80
Glicina	10,59	10,48	11,02	10,54	10,69
Serina	9,88	9,89	9,94	9,98	9,72
Tirosina	6,98	7,46	7,19	7,25	7,20

<sup>1</sup>Análise realizada pela *Ajinomo Animal Nutrition*

## Peixes e condições experimentais

Foram utilizados 300 juvenis de tilápias do Nilo ( $18,09 \pm 0,11$  g). Os peixes foram distribuídos em 20 caixas de fibra de vidro com capacidade de 500 litros, dotadas de um sistema de recirculação de água (4 litros de água/minuto/tanque) com um biofiltro central, aeração constante por meio de soprador de ar central e aquecimento constante por meio de termostato.

Os parâmetros de qualidade de água como pH, oxigênio dissolvido ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) e condutividade elétrica da água ( $\mu\text{S.cm}^{-1}$ ) foram aferidos semanalmente através de potenciômetro digital portátil, enquanto a temperatura da água foi mantida constante por meio de termostato digital.

## Coleta de dados

Ao final do experimento, os peixes foram mantidos em jejum por 24 horas para o esvaziamento do trato gastrintestinal e, posteriormente foram insensibilizados em eugenol, na dose de  $75 \text{ mg.L}^{-1}$  (Deriggi et al. 2006) para realização das medidas individuais de peso (g). Três peixes de cada tanque foram insensibilizados em eugenol na dose de  $300 \text{ mg.L}^{-1}$  e, posteriormente acondicionados em gelo para retirada de gordura visceral e fígado. Esses mesmos animais, sem conteúdo visceral, foram encaminhados ao Laboratório de Controle de Qualidade do Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura (GEMAQ) e congelados em freezer ( $-20$  °C) para realização das análises centesimais.

Os dados de desempenho produtivo avaliados foram o peso final médio (g); ganho em peso (peso corporal final – peso corporal inicial); conversão alimentar aparente (dieta consumida/ganho em peso); taxa de eficiência proteica (ganho de peso/proteína consumida); eficiência de retenção de proteína (((conteúdo final de proteína da carcaça x biomassa final) – (conteúdo inicial proteína da carcaça x biomassa inicial))/proteína consumida); sobrevivência ( $100(\text{número de peixes final/número de peixes inicial})$ ); índice hepatossomático ( $100(\text{peso fígado, g})/(\text{peso corporal final, g})$ ); gordura visceral ( $100(\text{peso gordura visceral, g})/(\text{peso corporal final, g})$ ) e retenção de aminoácidos corporais ( $(\text{conteúdo final de aminoácidos corporais x peso final}) - (\text{conteúdo inicial de aminoácidos corporais x peso inicial})/ \text{consumo de aminoácidos}$ ).

## Análises hematológicas e bioquímicas

Para as coletas sanguíneas, capturaram aleatoriamente, três peixes de cada unidade experimental, os quais foram anestesiados em eugenol ( $60 \text{ mg.L}^{-1}$ ), para a retirada de uma alíquota de 2,0mL, por punção caudal, com auxílio de uma seringa heparinizada. Dessa alíquota 0,5mL foi destinado as análises hematológicas e 1,5mL destinado as análises bioquímicas.

No sangue total foram realizadas as análises de contagem total de eritrócitos com utilização de câmara de Neubauer, taxa de hemoglobina realizada por meio da metodologia descrita por Collier (1944), percentual de hematócrito seguindo a metodologia de Goldenfarb et al. (1971), e os índices hematimétricos como VCM (volume corpuscular médio), HCM (hemoglobina corpuscular média) e CHCM (hemoglobina corpuscular média), de acordo com Wintrobe (1934):  $\text{VCM (fL)} = [(\text{hematócrito} \times 10)]/\text{eritrócitos}$ ;  $\text{HCM (pg)} = [(\text{hemoglobina} \times 10)]/\text{eritrócitos}$  e  $\text{CHCM (g.dL}^{-1}) = [(\text{hemoglobina} \times 100)]/\text{hematócrito}$ .

Foram preparados esfregaços sanguíneos em lâminas de vidro que foram secas ao ar e coradas pelo método de Rosenfeld (1947). A leitura foi realizada em microscópio óptico na objetiva de 100x, utilizando óleo de imersão. A contagem total de leucócitos e trombócitos foi realizada pelo método indireto (Martins et al. 2004):  $\text{Leucócitos totais } (\mu\text{L}) = [(\text{número de leucócitos contados na extensão} \times \text{número de eritrócitos em câmara de Neubauer})/2000]$ ; e  $\text{trombócitos totais } (\mu\text{L}) = [(\text{número de trombócitos contados na extensão} \times \text{número de eritrócitos em câmara de Neubauer})/ 2000]$ .

A contagem do diferencial de leucócitos consistiu em determinar a proporção existente entre suas distintas variedades: linfócitos, neutrófilos e monócitos. Em microscópio de luz comum, com objetiva de imersão de 100 vezes foram contados 100 leucócitos. Para a contagem, percorreu-se todo o esfregaço, movimentando a lâmina em “zig-zag”. O número de cada elemento foi expresso em porcentagem. Posteriormente, foram realizadas análises bioquímicas de proteínas totais ( $\text{g.dL}^{-1}$ ), triglicerídeos ( $\text{mg.dL}^{-1}$ ), colesterol total ( $\text{mg.dL}^{-1}$ ), colesterol de alta densidade - HDL ( $\text{mg.dL}^{-1}$ ), glicose ( $\text{mg.dL}^{-1}$ ), colesterol de muito baixa densidades - VLDL ( $\text{mg.dL}^{-1}$ ), colesterol de baixa densidade - LDL ( $\text{mg.dL}^{-1}$ ) e Ureia ( $\text{mg.dL}^{-1}$ ). As amostras foram centrifugadas a 2.500 rpm por cinco minutos. Para a realização das análises utilizaram-se “kits” específicos *Gold Analisa Diagnóstica*<sup>®</sup>, sendo a leitura processada em espectrofotômetro e procedidas conforme instruções do fabricante.

### Morfometria da fibra muscular

Para a avaliação do crescimento muscular, dois peixes de cada unidade experimental foram capturados, induzidos à anestesia profunda até a perda de todas as reações, e com auxílio de uma lâmina, retirou-se uma amostra do músculo branco dorsal, acima da linha lateral. Essas amostras foram fixadas em formol tamponado 10% por 24 horas e processadas para inclusão em parafina. Cortes transversais (6  $\mu\text{m}$ ) foram obtidos em micrótomo e submetidos à coloração hematoxilina-eosina. Para a morfometria, utilizando um sistema de análise de imagens, foi determinado o menor diâmetro de 200 fibras musculares, por animal, que foram agrupadas em classes de diâmetros (< 20  $\mu\text{m}$ , 20-50  $\mu\text{m}$  e > 50  $\mu\text{m}$ ) (Almeida et al. 2008). Essas análises foram realizadas no Laboratório de Histologia do Departamento de Ciências Morfológicas – DCM – da Universidade Estadual de Maringá – UEM.

### Análises laboratoriais

A composição centesimal dos animais seguiu o preconizado pela AOAC (1995) para análises de umidade (pré secagem a 55 °C por 72 horas seguida de secagem a 105 °C por oito horas), proteínas (método de Kjeldhal), extrato etéreo (extrator de Soxhlet com éter como solvente), e matéria mineral (calcinação das amostras a 550 °C por 6 horas). Os peixes foram encaminhados com cabeça e escamas, porém sem o conteúdo visceral. O material pré-seco foi encaminhado para o Laboratório da Ajinomoto Biolatina para a realização de análises de aminoácidos, por meio da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (Hitashi L-8800). O triptofano foi determinado após hidrólise ácida.

### Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com cinco tratamentos e quatro repetições, sendo uma unidade experimental composta por um aquário contendo 15 peixes. Os dados foram submetidos a análise de regressão em 5% de probabilidade, por meio do programa computacional *Statistic 7.1* (Statsoft 2005).

## Resultados

Durante o período experimental foram observados valores médios de  $25,13 \pm 1,23^\circ\text{C}$  para a temperatura,  $4,44 \pm 0,55 \text{ mg.L}^{-1}$  para o oxigênio dissolvido,  $7,52 \pm 0,14$  para o pH e  $135,28 \pm 28,80 \text{ }\mu\text{S.cm}^{-1}$  para a condutividade elétrica.

O consumo de dietas com diferentes níveis de isoleucina não influenciou ( $P > 0,05$ ) o desempenho zootécnico dos animais para nenhum dos parâmetros avaliados (Tabela 3).

**Tabela 3.** Desempenho zootécnico dos juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de isoleucina

Parâmetros	Níveis isoleucina ( $\text{g.kg}^{-1}$ )					CV	Efeito
	7,00	8,18	9,35	10,53	11,70		
Peso inicial (g)	18,09	18,12	18,09	18,11	18,06	0,60	NS
Ganho em peso (g)	83,05	86,68	80,85	74,31	77,42	9,84	NS
Conversão alimentar (g/g)	1,05	1,13	1,05	1,17	1,06	10,77	NS
Índice hepatossomático (%)	2,00	2,23	2,27	1,84	1,59	21,16	NS
Gordura visceral (%)	2,85	2,83	3,04	2,72	2,93	15,05	NS
Sobrevivência (%)	95,00	78,33	95,00	88,33	90,00	12,90	NS
Taxa eficiência protéica (%)	2,22	2,00	2,22	1,98	2,14	11,46	NS
Eficiência retenção proteica (%)	46,93	49,90	54,37	47,93	55,55	12,49	NS

CV = coeficiente de variação (%); NS = não significativo ( $P > 0,05$ ).

O consumo de dietas com níveis crescentes de isoleucina não influenciou ( $P > 0,05$ ) a composição corporal dos peixes para os parâmetros de umidade, proteína, lipídeos e matéria mineral (Tabela 4).

**Tabela 4.** Composição corporal dos juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de isoleucina

Parâmetros	Níveis isoleucina ( $\text{g.kg}^{-1}$ )					CV	Efeito
	7,00	8,18	9,35	10,53	11,70		
Umidade	71,82	70,67	71,60	70,60	72,65	2,96	NS
Proteína bruta	14,77	15,59	16,50	15,72	16,59	15,24	NS
Lipídios	8,80	8,75	8,52	8,97	8,56	11,49	NS
Matéria mineral	3,45	3,36	3,54	3,63	4,18	9,91	NS

CV = coeficiente de variação (%); NS = não significativo ( $P > 0,05$ ).

Não foram observadas diferenças ( $P>0,05$ ) entre os parâmetros bioquímicos e hematológicos dos juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes níveis de isoleucina (Tabela 5)

**Tabela 5.** Parâmetros bioquímicos e hematológicos dos juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de isoleucina

Paramêtros bioquímicos	Níveis isoleucina (g.kg <sup>-1</sup> )					CV	Efeito
	7,00	8,18	9,35	10,53	11,70		
Glicose (mg.dL <sup>-1</sup> )	73,54	75,47	71,89	84,34	78,13	16,57	NS
Colesterol total (mg.dL <sup>-1</sup> )	156,86	146,13	159,06	171,49	137,86	12,67	NS
Triglicerídios (mg.dL <sup>-1</sup> )	213,00	215,83	209,74	231,08	155,61	25,46	NS
HDL (mg.dL <sup>-1</sup> )	63,77	64,33	63,51	60,35	68,67	22,15	NS
LDL (mg.dL <sup>-1</sup> )	51,09	43,29	55,45	52,43	37,51	26,57	NS
VLDL (mg.dL <sup>-1</sup> )	42,60	43,17	41,95	46,22	31,12	25,46	NS
Proteínas totais (g.dL <sup>-1</sup> )	4,62	4,59	4,59	4,66	4,66	6,88	NS
Ureia (mg.dL <sup>-1</sup> )	10,05	9,40	10,28	10,39	10,76	7,45	NS
Hematológicos							
Eritrócitos (10 <sup>6</sup> .µL <sup>-1</sup> )	1,91	1,94	1,95	2,00	1,99	6,82	NS
Hematócrito (%)	35,87	36,16	34,50	37,58	36,88	5,78	NS
Hemoglobina (g.dL <sup>-1</sup> )	7,02	7,12	7,14	6,57	7,05	16,89	NS
VCM(fL)	188,05	187,10	178,42	189,11	186,03	7,48	NS
HCM(µg)	36,70	36,95	36,81	33,58	35,62	20,22	NS
CHCM(g.dL <sup>-1</sup> )	19,53	19,74	20,68	17,54	19,04	16,88	NS

HDL = lipoproteína de alta densidade; LDL = lipoproteínas de baixa densidade; VLDL = lipoproteínas de densidade muito baixa; VCM = volume corpuscular médio; HCM = hemoglobina corpuscular média; CHCM = concentração de hemoglobina corpuscular média; CV = coeficiente de variação (%); NS = não significativo ( $P>0,05$ ).

O consumo de dietas com níveis crescentes de isoleucina não alterou ( $P>0,05$ ) os valores de leucócitos totais e trombócitos totais. Os leucócitos variaram de 20461 a 29945 µL<sup>-1</sup> e os trombócitos oscilaram entre 27475 a 37548 µL<sup>-1</sup>. Com relação ao diferencial de leucócitos, a maior parcela encontrada nos juvenis de tilápia do Nilo foi de linfócitos com valores médios de 90%, seguido pela porcentagem de neutrófilos (9%), e com menor expressão os monócitos com 1 a 4% de ocorrência (Tabela 6).

**Tabela 6.** Valores médios de leucócitos, trombócitos e diferencial de linfócitos, neutrófilos e monócitos dos juvenis de tilápias alimentados com dietas contendo níveis crescentes de isoleucina

Parâmetros	Níveis isoleucina (g.kg <sup>-1</sup> )					CV	Efeito
	7,00	8,18	9,35	10,53	11,70		
Leucócitos totais (μL <sup>-1</sup> )	25641	29191	20461	29945	22753	27,37	NS
Trombócitos totais (μL <sup>-1</sup> )	30778	34625	37548	32796	27475	36,72	NS
Linfócitos (%)	89,83	90,00	90,12	90,12	89,83	0,95	NS
Neutrófilos (%)	9,17	8,87	9,62	9,50	9,50	9,72	NS
Monócitos (%)	4,25	1,00	1,00	1,00	2,00	95,53	NS

CV = coeficiente de variação (%); NS = não significativo (P>0,05).

A composição e a retenção dos aminoácidos da carcaça dos juvenis de tilápia estão apresentadas na Tabela 7. A composição corporal dos peixes não foi influenciada pelos níveis de isoleucina da dieta (P>0,05) para nenhum dos 10 aminoácidos essenciais testados. Com relação à retenção corporal dos aminoácidos, apenas a isoleucina apresentou redução linear (P<0,05) conforme se incrementou a quantidade do aminoácido na dieta.

**Tabela 7.** Composição de aminoácidos essenciais corporais (g por 16g de N) e retenção de aminoácidos essenciais corporais (%) de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de isoleucina

	Níveis de isoleucina (g.kg <sup>-1</sup> )					CV	Efeito
	7,00	8,18	9,35	10,53	11,70		
<b>Composição de aminoácidos essenciais da carcaça</b>							
Arginina	6,48	6,20	5,94	6,55	5,77	5,69	NS
Fenilalanina	3,78	3,71	3,54	3,91	3,42	5,85	NS
Histidina	2,17	2,16	2,00	2,18	1,89	8,94	NS
Isoleucina	3,66	3,64	3,34	3,61	3,19	9,16	NS
Leucina	6,67	6,54	6,22	6,81	5,96	6,10	NS
Lisina	6,47	6,93	6,55	6,91	6,03	9,03	NS
Metionina	2,30	2,30	2,24	2,33	2,02	8,34	NS
Treonina	4,06	4,07	3,77	4,20	3,69	5,80	NS
Triptofano	0,84	0,84	0,74	0,82	0,72	11,60	NS
Valina	4,25	4,22	3,93	4,39	3,84	6,01	NS
<b>Retenção de aminoácidos essenciais da carcaça</b>							
Arginina	65,50	64,04	73,15	60,85	64,74	13,46	NS
Fenilalanina	43,49	41,04	43,51	41,00	42,73	11,52	NS
Histidina	42,66	28,33	46,74	43,46	42,55	23,00	NS
Isoleucina	61,40	50,89	45,90	38,25	36,82	21,78	Linear
Leucina	46,83	45,72	47,17	43,78	46,48	10,73	NS
Lisina	54,56	58,23	61,27	57,22	56,52	12,20	NS
Metionina	54,05	53,60	57,89	53,12	51,30	12,33	NS
Treonina	42,75	42,44	42,59	39,90	41,52	10,76	NS
Triptofano	25,75	26,67	26,65	25,07	25,28	12,83	NS
Valina	48,62	47,49	47,27	44,25	47,13	11,29	NS
	Equações					Valor de P	
Retenção Isoleucina	$Y = -5,26x + 95,84; R^2 = 0,77$					0,000001	

CV = coeficiente de variação (%); NS = não significativo (P>0,05).

A isoleucina dietética não influenciou (P>0,05) a frequência de fibras musculares em nenhuma das três classes de diâmetros estabelecidas (<20; entre 20 e 50 e >50 µm) (Tabela 8).

**Tabela 8.** Frequência de distribuição das fibras musculares em três classes de diâmetros (<20 µm, entre 20 e 50 µm e > 50 µm) em juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo níveis crescentes de isoleucina

Classe de diâmetro	Inicial	Níveis isoleucina (g.kg <sup>-1</sup> )					CV	Efeito
		7,00	8,18	9,35	10,53	11,70		
<20 µm	36,46	10,77	16,50	13,31	11,77	17,66	43,90	NS
20-50 µm	62,78	75,43	71,60	71,58	69,03	74,28	9,36	NS
>50 µm	1,00	13,80	11,89	15,10	19,20	8,05	56,96	NS

CV = coeficiente de variação (%); NS = não significativo (P>0,05).

### Discussão

Os parâmetros de qualidade da água monitorados durante o período experimental permaneceram dentro da faixa adequada para o bem-estar da espécie. As tilápias apresentam máximo crescimento quando criadas com temperaturas entre 24 e 30 °C (El-Sayed 2006), teores de oxigênio dissolvido acima de 4 mg.L<sup>-1</sup>, pH próximo ao neutro (Popma & Lovshin 1995) e condutividade elétrica entre 20 e 150 µS.cm<sup>-1</sup> (Zimmermann et al. 2001).

No presente trabalho, não foram observados efeitos dos níveis de isoleucina dietética sobre o desempenho produtivo dos peixes. No entanto, a dieta sem suplementação de isoleucina (7,00 g.kg<sup>-1</sup>), foi inferior à exigência estimada por Santiago & Lovell (1988) para larvas de tilápia do Nilo (8,70 g.kg<sup>-1</sup> de isoleucina da dieta), Ahmed & Khan (2006) que determinaram nível ótimo de 12,6 g.kg<sup>-1</sup> para alevinos de *Cirrhinus mrigala* e Khan & Abidi (2007) que encontraram exigência para alevinos de *Labeo rohita* em quantidades variando entre 15,2 a 15,9 g.kg<sup>-1</sup> de isoleucina da dieta. Entretanto, os resultados do atendimento das exigências de isoleucina obtidos neste estudo podem ter sido inferiores por causa da dieta utilizada, pois a mesma não foi purificada, o que a torna mais palatável e, possivelmente, melhor aproveitada, visto que algumas espécies de peixes podem ser relutantes em consumir essas dietas (Griffin et al. 1992).

Embora Tischler et al. (1982) relatarem que a leucina é responsável pela síntese proteica, Wu (2009) destacou que a suplementação dos três aminoácidos de cadeia ramificada são necessários para potencializar o papel da leucina no crescimento muscular, pelo possível desbalanço que pode ocorrer quando suplementado apenas a leucina. No presente trabalho, em todos os tratamentos, não foi observado imbalance entre os aminoácidos ramificados, uma vez que não foram observados efeitos da suplementação de isoleucina sobre a retenção corporal de proteína e de aminoácidos.

Os elevados valores de retenção proteica (acima de 45%) observados pelos peixes de todos os tratamentos sugerem boa utilização dos aminoácidos dietéticos, indicando que os teores e balanceamento dos mesmos em todas as dietas foram adequados para permitir a utilização da proteína.

Os resultados da composição corporal de umidade, proteínas, lipídeos e matéria mineral dos juvenis de tilápia (Tabela 4) não foram influenciados pelos níveis de isoleucina da dieta ( $P > 0,05$ ), possivelmente pelo fato das dietas serem elaboradas para conter os mesmos níveis de proteína e energia. Embora a isoleucina tenha função de combustível energético, principalmente no músculo-esquelético (Kohlmeier 2003), pode-se sugerir que as dietas fornecidas foram adequadas para suprir a exigência deste aminoácido, pois, os animais além de não apresentarem diferenças na composição de gordura visceral, a composição de lipídios corporal e a composição bioquímica do sangue permaneceram constantes para todos os grupos alimentares.

Os parâmetros bioquímicos do sangue não foram influenciados ( $P > 0,05$ ) pelos níveis crescentes de isoleucina das dietas (Tabela 5). Os valores de glicose observados no atual estudo variaram entre 71,89 e 84,34  $\text{mg.dL}^{-1}$ , e estão dentro do preconizado como referência (39 a 96  $\text{mg.dL}^{-1}$ ) para tilápias criadas em sistemas intensivos, descrito por Hrubec et al. (2000). A glicose é referida como um parâmetro comum para avaliar o estresse em peixes (Iwama 1998). Entretanto, como os animais apresentaram ganho em peso contínuo durante o período experimental, pode-se mencionar que os animais estavam em um ambiente adequado para sua criação, pois, o alimento foi fornecido nos horários determinados, assim como foram mantidos em locais com temperaturas confortáveis e aeração contínua, com níveis de oxigênio médio de 4,44  $\text{mg.L}^{-1}$ .

O colesterol é uma substância complexa que apresenta muitas funções no organismo, porém quando ocorrem problemas em seu metabolismo, a concentração sanguínea pode elevar (Ludke & Lopes 1999). Os valores observados (entre 137,13 a 171,53  $\text{mg.dL}^{-1}$ ) são inferiores aos reportados por Neu et al. (2013) que forneceram dietas com níveis crescentes de glicerol para tilápias do Nilo e observaram teores que variaram de 174,42 a 221,19  $\text{mg.dL}^{-1}$ . Contudo, estes valores estão dentro dos padrões estabelecidos como referência para a mesma espécie, segundo Hrubec et al. (2000).

Os triglicerídios apresentaram concentrações entre 155,61 a 231,08  $\text{mg.dL}^{-1}$ . Borges et al. (2004) apresentam como valores normais a quantidade entre 138 a 546  $\text{mg.dL}^{-1}$  para *Rhamdia quelen*. O colesterol e os triglicerídios são transportados ao plasma através das lipoproteínas (Schiavo et al. 2003) que também tem função no metabolismo

lipídico (Metcalf et al. 1999). A lipoproteína de alta densidade (HDL – também considerada como o “colesterol bom”) foi encontrada em maiores quantidades que as demais lipoproteínas de baixa e muito baixa densidade (LDL e VLDL) no sangue das tilápias, padrão verificado por Metcalf et al. (1999). Mesmo a isoleucina exercendo papel central como combustível energético, não foram observadas diferenças entre os tratamentos, permitindo inferir que a quantidade inferior do aminoácido testado, quando incluído na dieta, atende todas as exigências da espécie.

A proteína total sanguínea demonstrou pequenas alterações, porém sem efeitos devido à inclusão de isoleucina dietética, situando-se entre 4,59 a 4,66 g.dL<sup>-1</sup>, dentro da faixa de variação proposta por Manuel et al. (2007) que relataram ser de 2,7 a 5,0 g.dL<sup>-1</sup> e semelhante ao descrito por Tavares-Dias et al. (2008) para *Leporinus macrocephalus*, de 4,6 g.dL<sup>-1</sup>.

A ureia plasmática variou de 9,40 a 10,76 mg.dL<sup>-1</sup>, sem apresentar diferenças estatísticas. El-Hawarry (2012) destacou que a média de ureia em tilápia do Nilo e tilápia azul mantidas em sistemas de criação semi-intensivo é de 6,10 e 6,80 mg.dL<sup>-1</sup>, respectivamente. Nicula et al. (2010) relataram que salmonídeos e ciprinídeos apresentam valores de ureia no sangue (médias de 18,30 e 12,16 mg.dL<sup>-1</sup>, respectivamente) superiores ao encontrado neste trabalho, para tilápias. Todavia, isso pode ser pela capacidade com que os peixes têm de excretar o nitrogênio e manter sua atividade osmótica, pois todos os peixes são ureogênicos, embora nem todos sejam ureotélicos.

De acordo com Wu (2009) a isoleucina atua diretamente sobre a síntese de glutamina, sendo que esse aminoácido não essencial é a fonte de energia primária para os enterócitos e células imunes (Chamorro et al. 2010). Pohlenz et al. (2012) destacaram que a glutamina é um combustível metabólico por ativar as células imunes e embora o metabolismo dos leucócitos em peixes não seja completamente conhecido, parece que há especificidade entre as espécies.

No atual estudo, o conteúdo e proporções de aminoácidos da dieta que não foi suplementada com isoleucina foi suficiente para a manutenção de todos os parâmetros hematológicos (Tabela 5), pois os mesmos se encontravam dentro do intervalo de referência proposto por Hrubec et al. (2000) e Bittencourt et al. (2003) para tilápias. Sobretudo, os valores de leucócitos (Tabela 6) que variaram entre 20461 a 29945  $\mu\text{L}^{-1}$ , trombócitos que oscilaram entre 27475 a 37548  $\mu\text{L}^{-1}$ , e o diferencial de leucócitos que apresentou a maior parcela de linfócitos, aproximadamente 90%, sendo essas células as

mais numerosas na circulação sanguínea em diversas espécies de teleósteos (Ranzani-Paiva & Silva-Souza 2004), incluindo as tilápias.

Com relação à composição corporal dos aminoácidos (Tabela 7), nenhum dos dez aminoácidos essenciais teve seu conteúdo alterado pela inclusão de isoleucina na dieta dos peixes. A proporção de aminoácidos de cadeia ramificada corporal em relação aos aminoácidos essenciais ficou em torno de 35%, semelhante ao descrito por Harper et al. (1984), como sendo a quantidade de aminoácidos ramificados na proteína muscular. Quando levada em consideração apenas a isoleucina, a proporção desse aminoácido correspondeu no presente estudo a 9% dos aminoácidos essenciais.

No presente trabalho, com exceção da isoleucina, a retenção corporal de aminoácidos não foi influenciada pelos níveis de isoleucina dietética. A menor eficiência da retenção de arginina foi observada por Zhou et al. (2012) que verificaram relação inversa entre o nível de arginina na dieta e sua retenção pelos peixes. No presente trabalho, apesar da relação entre os aminoácidos leucina, isoleucina e valina (aminoácidos ramificados), o aumento nos níveis de isoleucina não alterou a utilização dos demais aminoácidos ramificados.

Considerando que fibras com diâmetros menores que 20  $\mu\text{m}$  indicam ocorrência de hiperplasia, enquanto diâmetros maiores que 50  $\mu\text{m}$  se relacionam com a hipertrofia (Valente et al. 1999; Rowleron & Veggetti 2001), foi observado no presente estudo, que em todos os tratamentos, o crescimento muscular ocorreu por hiperplasia e hipertrofia durante o período do experimento. Contudo, não foram observadas diferenças ( $P>0,05$ ) nas frequências das fibras musculares em uma mesma classe de diâmetro entre os tratamentos dietéticos, indicando que a hiperplasia e a hipertrofia contribuíram de maneira semelhante para o crescimento muscular. Esses resultados são condizentes com aqueles observados para o desempenho, em que não foram observadas diferenças entre os tratamentos.

O crescimento muscular pode ser influenciado por vários fatores externos, como a nutrição (Johnston et al. 2006). Quando se considera a suplementação de aminoácidos, os resultados dos estudos têm sido divergentes, pois são dependentes da espécie e fase de desenvolvimento do peixe em que for analisado. No presente estudo, os diferentes níveis de isoleucina não promoveram mudanças na contribuição da hipertrofia e hiperplasia para o crescimento muscular de juvenis de tilápia do Nilo. Resultados semelhantes foram observados por Aguiar et al. (2005), em que diferentes níveis de

lisina dietética não influenciaram o crescimento das fibras brancas em larvas de tilápia do Nilo.

Os peixes possuem crescimento indeterminado, e, portanto, é difícil determinar o peso final do indivíduo adulto, por isso, a hiperplasia das fibras se estendem por um período mais prolongado (Rowlerson & Veggetti 2001), fato observado no presente estudo, que embora em frequências inferiores, em todas as classes de diâmetros, ocorreu a presença de fibras inferiores a 20  $\mu\text{m}$ . Valente et al. (1999) verificaram que existe correlação negativa entre o tamanho das fibras musculares inferiores a 25  $\mu\text{m}$  com o tamanho corporal de trutas, essa correlação descrita, possivelmente não foi verificada no atual estudo por não haver diferenças no desempenho produtivo das tilápias alimentadas com diferentes níveis de isoleucina dietética.

No presente trabalho, de forma geral, não foram observados sinais de deficiência de isoleucina dietética, pois não foram verificadas diferenças no desempenho produtivo, respostas hematológicas ou bioquímicas e crescimento muscular. Conclui-se que 7,00  $\text{g.kg}^{-1}$ , atende as exigências dietéticas de juvenis de tilápia do Nilo.

## Referências

- Aguiar, D.H., Barros, M.M., Padovani, C.R., Pezzato, L.E. & Dal Pai-Silva, M. (2005). Growth characteristics of skeletal muscles tissue in *Oreochromis niloticus* larvae fed on a lysine supplemented diets. *Journal of Fish Biology*, **67**, 1287-1298.
- Ahmed, I. & Khan, M. (2006). Dietary branched-chain amino acid valine, isoleucine and leucine requirements of fingerling Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). *British Journal of Nutrition*, **96**, 450-460.
- Almeida, F.L.A., Carvalho, R.F., Pinhal D., Padovani, C.R., Martins, C. & Dal Pai-Silva, M. (2008). Differential expression of myogenic regulatory factor MyoD in pacu skeletal muscle (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887: Serrasalminae, Characidae, Teleostei) during juvenile and adult growth phases. *Micron*, **39**, 1306-1311.
- AOAC. (1995). *Oficial Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. pp. 1-30. AOAC, Arlington.

- Benakappa, S. & Varghese, T.J. (2003). Isoleucine, leucine and valine requirement of juvenile Indian major carp, *Cirrhinus cirrhosus* (Bloch, 1795). *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, **33**, 161-172.
- Bittencourt, N.L.R., Molinari, L.M., Scoaris, D.O., Pedroso, R.B., Nakamura, C.V., Ueda-Nakamura, T., Abreu Filho, B.A. & Dias Filho, B.P. (2003). Haematological and biochemical values for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in semi-intensive system. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, **25**, 385-389.
- Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F. & Wassermann, G.F. (2004). Hematologic and serum biochemical values for jundiá (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiology and Biochemistry*, **30**, 21-25.
- Borlongan, I.G. & Coloso, R.M. (1993). Requirements of juvenile milkfish (*Chanos chanos*) for essential amino acids. *The Journal of Nutrition*, **123**, 125-132.
- Calder, P.C. (2006). Branched-chain amino acids and immunity. *The Journal of Nutrition*, **136**, 288-293.
- Chamorro, S., Blas, C., Grant, G., Badiola, I., Menoyo, D. & Carabaño, R. (2010). Effect of dietary supplementation with glutamine and a combination of glutamine-arginine on intestinal health in twenty-five-day-old weaned rabbits. *Journal of Animal Science*, **88**, 170-180.
- Chance, R.E., Mertz, E.T. & Halver, J.E. (1964). Isoleucine, leucine, valine and phenylalanine requirements of Chinook salmon and interrelations between isoleucine and leucine for growth. *The Journal of Nutrition*, **83**, 177-185.
- Collier, H.B. (1944). The standardization of blood haemoglobin determinations. *Canadian Medical Association Journal*, **50**, 550-552.
- Cowey, C.B. (1994). Amino acid requirements of fish: a critical appraisal of present values. *Aquaculture*, **124**, 1-11.

- Deriggi, G.F., Inoue, L.A.K.A. & Moraes, G. (2006). Stress responses to handling in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus): assessment of eugenol as an alternative anesthetic. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, **28**, 269-274.
- El-Hawarry, W. (2012). Biochemical and non-specific immune parameters of healthy Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), blue tilapia (*Oreochromis aureus*) and their interspecific hybrid (male *O. aureus* x female *O. niloticus*) maintained in semi-intensive culture system. *Online Journal of Animal and Feed Research*, **2**, 84-88.
- El-Sayed, A.F.M. (2006). *Tilapia culture*. 277p. CABI Publishing, Wallingford.
- Food and Agriculture Organization – FAO. (2007). Cage aquaculture: Regional reviews and global overview. *FAO Fisheries Technical Paper*, Roma, **498**, 259p.
- Furuya, W.M. (2010). *Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias*. 100p. GFM, Toledo.
- Furuya, W.M. & Furuya, V.R.B. (2010). Nutritional innovation on amino acids supplementation in Nile tilapia diets. *Revista Brasileira de Zootecnia*, **39**, 88-94.
- Goldenfarb, P.B., Bowyer, F.P., Hall, E. & Brosius, E. (1971) Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determinations. *American Journal Clinical of Pathology*, **56**, 35-39.
- Griffin, M.E., Brown, P.B. & Grant, A.L. (1992). The dietary lysine requirement of juvenile hybrid striped bass. *The Journal of Nutrition*, **122**, 1332-1337.
- Harper, A.E., Miller, R.H. & Block, K.P. (1984). Branched-chain amino acid metabolism. *Annual Review of Nutrition*, **4**, 409-454.
- Hrubec, T.C., Cardinale, J.L. & Smith, S.A. (2000). Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured tilapia (*Oreochromis hybrid*). *Veterinary Clinical Pathology*, **29**, 7-12.
- Iwama, G.K. (1998). Stress in fish. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **851**, 304-310.

- Johnston, I.A. (1999). Muscle development and growth: potential implication for flesh quality in fish. *Aquaculture*, **177**, 99–115.
- Johnston, I.A. (2006). Environment and plasticity of myogenesis in teleost fish. *The Journal of Experimental Biology*, **209**, 2249-2264.
- Khan, M.A. & Abidi, S.F. (2007). Dietary isoleucine requirement of fingerling Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton). *Aquaculture Nutrition*, **13**, 424-430.
- Koumans, J.T.M., Akster, H.A., Witkam, A. & Osse, J.W.M. (1994). Numbers of muscle nuclei and myosatellite cell nuclei in red and white axial muscle during growth of the carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Fish Biology*, **44** 391–408.
- Kohlmeier, M. (2003). *Amino acids and nitrogen compounds. Nutrient Metabolism*. pp. 244-456. Academic Press, London.
- Ludke, M.C.M.M. & Lopez, J. (1999). Colesterol e composição dos ácidos graxos nas dietas para humanos e na carcaça suína. *Ciência Rural*, **29**, 181-187.
- Manuel, M.J., Miller, D.L. & Merrill, A.L. (2007). Hematology and plasma biochemical values of healthy hybrid tilapia (*Oreochromis aureus* x *Oreochromis nilotica*) maintained in a recirculation system. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, **38**, 420-424.
- Martins, M.L., Pilarsky, F., Onaka, M.E., Nomura, T.D., Fenerick, J., Ribeiro, K., Makoto, D., Myiazaki, Y., Castro, P.M. & Malheiros, E.B. (2004). Hematologia e resposta inflamatória aguda em *O. niloticus* submetidas aos estímulos único e consecutivos de estresse de captura. *Boletim do Instituto de Pesca*, **30**, 71-80.
- Metcalf, V.J., Brennan, S.O., Chambers, G. & George, P.M. (1999). High density lipoprotein (HDL), and not albumin, is the major palmitate binding protein in New Zealand long-finned (*Anguilla dieffenbachia*) and short-finned eel (*Anguilla australis schmidtii*) plasma. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1429**, 467-475.

- Neu, D.H., Furuya, W.M., Boscolo, W.R., Potrich, F.R., Lui, T.A. & Feiden, A. (2013). Glycerol inclusion in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles. *Aquaculture Nutrition*, **19**, 211-217.
- Nicula, M., Bura, M., Simiz, E., Banatean-Dunea, I., Patruica, S., Marcu, A., Lunca, M. & Szelei, Z. (2010). Researches concerning references values assessment of serum biochemical parameters in some fish species from *Acipenseridae*, *Cyprinidae*, *Esocidae*, and *Salmonidae* family. *Animal Science and Biotechnology*, **43**, 498-505.
- National Research Council – NRC. 2011. *Nutrient requirements of fish and shrimp*. 376p. National Academy Press, Washington, DC.
- Pohlenz, C., Buentello, A., Mwangi, W. & Gatlin III, D.M. (2012). Arginine and glutamine supplementation to culture media improves the performance of various channel catfish immune cells. *Fish & Shellfish Immunology*, **32**, 762-768.
- Popma, T.J. & Lovshin L.L. (1995). *Worldwide Prospects for Comercial Production of Tilapia*. 42p. Internatinal Center for Aquaculture and Aquatic Environments, Auburn.
- Popma, T.J. & Masser, M. (1999). Tilapia: life history and biology. *SRAC Publication*, **283**, 1-4.
- Ranzani-Paiva, M.J.T. & Silva-Souza, A.T. (2004). Hematologia de peixes brasileiros. In: *Sanidade de Organismos Aquáticos*. (eds.Ranzani-Paiva, M.J.T., Takemoto, R.M. & Lizama, M.) 426p. Varela,São Paulo.
- Rosenfeld, G. (1947). Corante pancrômico para hematologia e citologia clínica. Nova combinação dos componentes do May-Grünwald e do Giemsa num só corante de emprego rápido. *Memórias do Instituto Butantan*, **20**, 329-334.
- Rowlerson, A. & Veggetti, A. (2001). Cellular mechanisms of post-embryonic muscle growth in aquaculture species. In:*Muscle Development and Growth*. (ed. Johnston, I.A.). pp. 103-139.Academic Press, London.

- Santiago, C.B. & Lovell, R.T. (1988). Amino acid requirement for growth of Nile tilapia. *The Journal of Nutrition*, **118**, 1540-1546.
- Schiavo, M., Lunardelli, A. & Oliveira, J.R. (2003). Influência da dieta na concentração sérica de triglicerídeos. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, **39**, 283-288.
- Statsoft, Inc. (2005). *STATISTICA* (data analysis software system), version 7.1.
- Tavares-Dias, M., Moraes, F.R. & Imoto, M.E. (2008). Hematological parameters in two freshwater teleosts, *Leporinus macrocephalus* (Anostomidae) and *Prochilodus lineatus* (Prochilodontidae). *Bioscience Journal*, **24**, 96-101.
- Tischler, M.E., Desautels, M. & Goldberg, A.L. (1982). Does leucine, leucyl-tRNA, or some metabolite of leucine regulate protein synthesis and degradation in skeletal and cardiac muscle? *The Journal of Biology Chemistry*, **257**, 1613–1621.
- Valente, L.M.P., Rocha, E., Gomes, E.F.S., Silva, M.W., Oliveira, M.H., Monteiro, R.A.F. & Fauconneau, B. (1999). Growth and dynamics of white and red muscle fibres in fast- and slow-growing strains of rainbow trout. *Journal of Fish Biology*, **55**, 675-691.
- Wintrobe, M.M. (1934). Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. *Folia Hematologica*, **51**, 32-49.
- Wu, G. (2009). Amino acids: metabolism, functions and nutrition. *Amino acids*, **37**, 1-17.
- Zhou, H., Chen, N., Qiu, X., Zhao, M. & Jin, L. (2012) Arginine requirement and effect arginine intake on immunity in largemouth bass, *Micropterus salmoides*. *Aquaculture Nutrition*, **18**, 107-116.
- Zimmermann, S., Ribeiro, R. P., Vargas, L. & Moreira, H.L.M. (2001). *Fundamentos da moderna aquicultura*. 200p. ULBRA, Canoas.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O avanço na criação de tilápias no Brasil demanda rações que atendam as exigências nutricionais da espécie, pois o confinamento em ambientes super adensados compromete a quantidade de alimentos disponível no meio ambiente, deixando os peixes totalmente dependentes de alimentação exógena. Esta alimentação por sua vez, deve suprir os peixes com todos os nutrientes, sejam macro ou micro, para que não comprometa a saúde o crescimento.

Nas condições em que o experimento foi realizado, tanto a arginina quanto a isoleucina mostraram ser dois aminoácidos que, em condições e quantidades adequadas, garantem o crescimento do peixe, bem como mantém o sistema imune dos peixes em condições saudáveis.

A suplementação de arginina para esta fase de desenvolvimento da tilápia é recomendada em 1,18% da dieta, com uma relação arginina:lisina de 0,89:1. Os Peixes que receberam arginina em concentração abaixo de 1,10% apresentaram redução no desempenho e a análise sanguínea ficou comprometida pela impossibilidade de ser feito todas as avaliações.

A suplementação de isoleucina com 0,70% nas dietas proporciona o crescimento adequado, bem como, garante a saúde do organismo.