



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

Avaliação do desempenho zootécnico, hematologia e atividade enzimática de juvenis de matrinxã alimentados com níveis crescentes de proteína

ANNY CRISTINA VERAS LEITE

Manaus - Amazonas

Setembro - 2018

ANNY CRISTINA VERAS LEITE

Avaliação do desempenho zootécnico, hematologia e atividade enzimática de juvenis de matrinxã alimentados com níveis crescentes de proteína

Orientador: Jackson Pantoja Lima, Dr.

Co-orientador: Bruno Olivetti de Mattos, Dr.

Co-orientadora: Márcia Regina Fragoso Machado Bussons, Dra.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal-PPGCAN da Universidade Federal do Amazonas – UFAM, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Manaus - Amazonas

Setembro – 2018

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

L533a Leite, Anny Cristina Veras
Avaliação do desempenho zootécnico, hematologia e atividade enzimática de juvenis de matrinxã alimentados com níveis crescentes de proteína / Anny Cristina Veras Leite. 2018
43 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Jackson Pantoja Lima, Dr.
Coorientador: Bruno Olivetti de Mattos, Dr.
Coorientador: Márcia Regina Fragoso Machado Bussons, Dra.
Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal do Amazonas.

1. nutrição. 2. conteúdo proteico. 3. exigência. 4. aquicultura. I. Dr., Jackson Pantoja Lima, II. Universidade Federal do Amazonas III. Título



ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

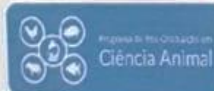
No dia 28 de setembro de 2018, às 14:00 horas, na Sala de Aula do Setor de Avicultura, Faculdade de Ciências Agrárias, Setor Sul do Campus Universitário da UFAM, Manaus/AM, **Anny Cristina Veras Leite**, realizou a Defesa de Dissertação de Mestrado intitulada "Avaliação do desempenho zootécnico, hematológico e das atividades enzimáticas de juvenis de matrinxã alimentados com níveis crescentes de proteína na dieta".

Banca Examinadora:

| Membros | Parecer | Assinatura |
|---|---|------------|
| Dr. Jackson Pantoja Lima (IFAM) – Presidente | Aprovado (<input checked="" type="checkbox"/>) Reprovado () | |
| Dr. Frank George Guimarães Cruz (UFAM) – Membro | Aprovado (<input checked="" type="checkbox"/>) Reprovado () | |
| Dr. Rodrigo Yukihiro Gimbo (NILTON LINS) – Membro | Aprovado (<input checked="" type="checkbox"/>) Reprovado () | |

Manaus, 28 de setembro de 2018

Resultado Final: Aprovado ()
Reprovado ()



“O futuro pertence àqueles que acreditam na beleza dos seus sonhos.”

Eleanor Roosevelt

Aos meus pais, por todo amor e incentivo aos meus estudos.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por ter permitido que mais este sonho pudesse ser concretizado no seu devido tempo. Reconheço que tudo veio por meio d'Ele, é e sempre será por Ele.

À minha mãe, Eneida Cristina Azevedo Veras (*in memoriam*), por todos os conselhos em vida e por todos serem voltados à minha dedicação aos estudos. Ao meu pai, José Maria de Santiago Leite, por ter dado todo o incentivo para que eu galgasse mais um degrau acadêmico. Agradeço por sempre acreditarem que eu possa ir muito além do que eu imagino.

Ao meu noivo, Naoki Silva Yamashita, por todo o apoio em minhas tomadas de decisões e por toda a compreensão durante a trajetória do mestrado, principalmente nos momentos de estresse e desespero, por abdicar seus finais de semana para me acompanhar ao laboratório e por ser meu cúmplice na vida.

Ao meu orientador Prof. Dr. Jackson Pantoja Lima, por todos os conselhos e cooperação para a realização deste trabalho. À co-orientadora Profa. Dra. Márcia Regina Fragoso, pela ajuda na elaboração deste trabalho e também por cada palavra de incentivo e dedicação. Ao co-orientador Prof. Dr. Bruno Olivetti de Mattos, por ter se tornado um pai científico, por toda a grande ajuda, conselhos e incentivos, sem os quais a realização deste sonho não seria possível. A relação docente-discente entre todos vocês foi muito além e tornou-se uma sólida amizade, sendo crucial para o resultado deste trabalho, obrigada por tudo, isso foi o diferencial para que a trajetória ficasse muito mais leve.

Aos Prof. Dr. Rodrigo Gimbo e Dr. Wallace Duncan, pela grande ajuda na realização das análises, poder contar com vocês me permitiu absorver novos conhecimentos e entender como fazer ciência pode ser prazeroso, através da concentração nos afazeres, mas também da descontração em cada estória contada de suas experiências científicas.

Ao Paulo Renato e Prof. Dr. Frank Cruz pela disponibilidade de ingredientes para a produção das rações, pela preocupação e por toda a mobilização para que alcançássemos os resultados finais e ao Prof. Dr. Adriano pelos reagentes e materiais cedidos para a realização de análises.

Aos amigos Rosimeiry Frisso, Renata Franco, Ariany Rabello, Elcimar Sousa, Marcelo Nascimento, Nathália Flor, Cristiane Cunha, Valcely Costa, André Ferreira, João Rufino e Luan Oliveira, Letícia e Márcia por toda a ajuda e palavras de carinho dispensadas à mim.

Aos amigos, Rafael Justa, Camila Valle, Thaiana Vieira, Jackson Bernardo e Thalita Canizo por toda a grande ajuda e compreensão durante a minha ausência no Anymais.

À Gesika Silva, por estar sempre por perto com uma palavra amiga nos momentos em que encontrava-me no meu limite.

Ao PPGCAN, pela oportunidade e todas as amizades efetivadas, sem dúvida posso afirmar que ganhei uma família científica.

À Universidade Nilton Lins, INPA, IFAM e UFAM pela parceria concretizada para a realização deste trabalho.

A todos os envolvidos na construção dos meus valores e todos aqueles que sempre acreditaram e torceram por mim.

Meus sinceros agradecimentos!

RESUMO

O objetivo do estudo foi determinar a exigência em proteína bruta (PB) de juvenis de matrinxã, avaliando o desempenho zootécnico, parâmetros hematológicos e atividades enzimáticas. Sessenta peixes com $29,03 \pm 1,16$ g foram distribuídos em 12 tanques de 310 L, em delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e três repetições, em um sistema com renovação parcial de água com aeração artificial constante. Os peixes foram alimentados três vezes ao dia (8:00, 12:00 e 16:00h) até a saciedade aparente por 52 dias, com dietas contendo níveis crescentes de proteína bruta: 27, 32, 36 e 40%. Ao final do experimento, foram avaliados o desempenho zootécnico, o perfil hematológico e a atividade de enzimas digestivas nas matrinxãs. Os dados foram submetidos à análise de variância unidirecional (ANOVA) seguida de regressão polinomial, com significância de $P < 0,05$. O desempenho zootécnico apresentou diferenças significativas para as variáveis (PF, GP, CAA, TCE, TEP e TRL) e (HT, RBC, TRI e PT) do perfil hematológico indicando que o nível de 40% de PB é o mais adequado para a fase juvenil da espécie, enquanto que as atividades das enzimas digestivas não apresentaram diferença estatística significativa. Entretanto, se faz necessário à realização de novos estudos para determinação da proteína ideal, digestível e perfil de aminoácidos para atender as exigências nutricionais da espécie.

Palavras-chave: nutrição; conteúdo proteico; exigência; aquicultura.

ABSTRACT

The objective of the study was to determine the crude protein (CP) requirement of juveniles of *matrinxã*, evaluating the zootechnical performance, hematological parameters and enzymatic activities. Sixty fish with 29.03 ± 1.16 g were distributed in 12 tanks of 310 L, in a completely randomized design, with four treatments and three replications, in a system with partial renovation of water with constant artificial aeration. Fish were fed three times a day (8:00 a.m., 12:00 p.m. and 4:00 p.m.) to apparent satiety for 52 days, with diets containing increasing levels of crude protein: 27, 32, 36 and 40%. At the end of the experiment, the zootechnical performance, the hematological profile and the activity of digestive enzymes in *matrinxã* were evaluated. Data were submitted to unidirectional analysis of variance (ANOVA) followed by polynomial regression, with significance of $P < 0.05$. The performance of the animals showed significant differences for the variables (PF, GP, CAA, TCE, TEP and TRL) and (HT, RBC, TRI and PT) of the hematological profile indicating that the level of 40% of PB is the most adequate for the juvenile stage of the species, whereas the activities of the digestive enzymes did not present significant statistical difference. However, it is necessary to carry out new studies to determine the ideal protein, digestible and amino acid profile to meet the nutritional requirements of the species.

Keywords: nutrition; protein content; requirement; aquaculture.

LISTA DE TABELAS

| | Página |
|---|---------------|
| Tabela 1. Composição e análise bromatológica das dietas experimentais | 21 |
| Tabela 2. Valores médios dos parâmetros de desempenho zootécnico de juvenis de matrinxã alimentados com diferentes níveis de proteína bruta..... | 26 |
| Tabela 3. Valores médios do eritrograma e do perfil bioquímico de juvenis de matrinxã alimentados com diferentes níveis de proteína bruta..... | 28 |
| Tabela 4. Valores médios da composição centesimal da carcaça de juvenis de matrinxã alimentados com diferentes níveis de proteína bruta, ao final do período experimental. | 30 |
| Tabela 5. Valores médios da atividade enzimática digestiva de juvenis de matrinxã alimentados com diferentes níveis de proteína bruta na dieta | 31 |

SUMÁRIO

| | Página |
|----------|--|
| 1 | INTRODUÇÃO 13 |
| 2 | OBJETIVOS 15 |
| 2.1 | OBJETIVO GERAL 15 |
| 2.2 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS 15 |
| 3 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 16 |
| 3.1 | CARACTERIZAÇÃO DA ESPÉCIE 16 |
| 3.2 | NUTRIÇÃO DE PEIXES 17 |
| 3.3 | PROTEÍNAS NA NUTRIÇÃO DE PEIXES 17 |
| 3.4 | ENZIMAS DIGESTIVAS 18 |
| 3.5 | HEMATOLOGIA 19 |
| 4 | MATERIAL E MÉTODOS 20 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO 25 |
| 5.1 | DESEMPENHO ZOOTÉCNICO 25 |
| 5.2 | PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA CARÇAÇA 27 |
| 5.3 | ENZIMAS DIGESTIVAS 31 |
| 6 | CONCLUSÕES 34 |
| 7 | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 35 |

1. INTRODUÇÃO

Dentre os segmentos da produção animal, a aquicultura é a atividade que mais cresce no mundo, devido ao aumento do consumo de alimentos pela população mundial, o que impulsiona o aumento da produção (FAO, 2018), através de estratégias de manejo no processo de criação (SEBRAE, 2015).

Para garantir a continuidade do crescimento e a oferta de peixes de qualidade, é necessário ofertar aos peixes dietas que supram as exigências em nutrientes necessários para o crescimento, reprodução e outras funções fisiológicas (RIBEIRO *et al.*, 2012). Dentre os nutrientes, a proteína é de maior importância, pois participa com cerca de 65 a 75% do peso total dos peixes (em base de matéria seca), sendo necessário assim um adequado suprimento proteico, para proporcionar o desenvolvimento adequado dos peixes, sem comprometer a qualidade da água dos tanques de criação. Dentre todos os nutrientes utilizados para a formulação das dietas, a proteína é um dos principais entraves para o desenvolvimento da piscicultura no Amazonas (OLIVEIRA *et al.*, 2012).

A determinação das exigências e níveis mais adequados de proteína das dietas permite o melhor desempenho e redução dos custos de produção (DAMASCENO, 2016). Um dos principais objetivos da nutrição de peixes é obter uma máxima incorporação da proteína proveniente da dieta, com um bom aproveitamento para o crescimento corporal e desempenho dos animais, para uma adequada deposição de proteína muscular (RIBEIRO *et al.*, 2012).

Os teores proteicos, lipídicos e de carboidratos das dietas de peixes podem ser ajustados através da análise da atividade de enzimas digestivas, onde este parâmetro mostra-se eficiente para algumas espécies de peixes (VISENTAINEL; NUNES; MORAES, 2007). E, metabolicamente é possível avaliar o estado nutricional dos peixes por meio de análise das características hematológicas, pois o sangue é um dos tecidos mais dinâmicos do organismo e altera-se em função do tipo de dieta consumida. O conhecimento dos valores médios dos parâmetros hematológicos em ambiente natural e em cativeiro, nos mais diversos sistemas de criação comercial, sob condições de homeostase e de estresse, são importantes para a identificação de alterações fisiológicas, devida à nutrição e fatores ambientais (ARAÚJO *et al.*, 2011). Além da medição de parâmetros bioquímicos séricos, que pode ser útil como uma ferramenta de diagnóstico em nutrição de peixes com o intuito de identificar o seu metabolismo e os seus efeitos da dieta em órgãos-alvo (GUEVARA, 2014).

Dentre as espécies de peixes nativos cultivados no Amazonas, destacam-se a produção de tambaqui (*Colossoma macropomum*), matrinxã (*Brycon amazonicus*) e pirarucu (*Arapaima*

gigas) (ABP, 2018). O matrinxã é a segunda espécie mais cultivada no Amazonas, e a principal cultivada nas mesorregiões norte e central do estado, devido ao bom desempenho zootécnico, a qualidade e grande aceitação da sua carne no mercado local (OLIVEIRA *et al.*, 2012), além de adaptação para o aproveitamento eficiente de fontes proteicas de origem animal ou vegetal (REIMER, 1982). Entretanto, ainda há divergências nas informações sobre os níveis de proteína bruta em dietas para matrinxã, o que evidencia a necessidade de pesquisas que visem gerar conhecimentos sobre as necessidades proteicas de juvenis da espécie (IZEL *et al.*, 2004), neste contexto, o presente estudo avaliou níveis crescentes de proteína bruta na dieta de juvenis de matrinxã (27%, 32%, 36% e 40% PB) correlacionando com o desempenho zootécnico, parâmetros hematológicos e determinação da atividade enzimática digestiva, visando a eficiência alimentar e otimização da produção a fim de estabelecer o nível de proteína adequado para a fase de juvenil da espécie.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o desempenho zootécnico, parâmetros hematológicos e atividades enzimáticas em juvenis de matrinxã alimentados com rações contendo níveis crescentes de proteína bruta dietética.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar o nível proteico dietético que proporcione melhor desempenho zootécnico em juvenis de matrinxã;
- Avaliar as respostas hematológicas dos juvenis de matrinxã quando alimentados com dietas contendo níveis crescentes de proteína;
- Avaliar a composição da carcaça a fim de verificar a qualidade nutricional do pescado produzido.
- Avaliar o perfil enzimático do trato gastrointestinal dos juvenis de matrinxã quando alimentados com dietas contendo níveis crescentes de proteína;

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Caracterização da Espécie

O matrinxã (*Brycon amazonicus*) pertence à classe actinopterygii, ordem dos Characiformes, família *Characidae*, sub-família *Bryconinae* e gênero *Brycon*. (ZANIBONI FILHO; REYNALTE-TATAJE; WEINGARTNER, 2006). É uma espécie nativa da Bacia Amazônica (LIMA, 2009), podendo na fase adulta alcançar de 3 a 4 kg e até 40 cm de comprimento na natureza (ZANIBONI-FILHO, 1985) (figura 01).



Figura 1- Juvenil de Matrinxã. (Fonte: Arquivo pessoal).

É uma espécie promissora para a piscicultura da região amazônica, pela sua importância no mercado local e pela sua adaptação ao ambiente de cultivo (SEIXAS, 2010), possui rápido crescimento, rusticidade e aceitabilidade de alimento artificial (LIMA, 2009) com tolerância a altas densidades e adaptação para aproveitar eficientemente fontes protéicas de origem animal ou vegetal (REIMER, 1982).

Pizango-Paima, Pereira- Filho e Oliveira-Pereira (2001) e Silva (2007) verificaram em estudos de dietas naturais de *Brycon*, que a espécie é onívora com tendência a carnívora, possuindo um amplo espectro alimentar na fase adulta, ingerindo peixes inteiros ou resíduos de peixes, insetos, artrópodes, anfíbios, répteis e mamíferos. Estes autores verificaram ainda que a maior disponibilidade de proteína na dieta do matrinxã ocorre no período da seca e está relacionada ao consumo de alimento de origem animal.

O sistema digestório do matrinxã é dividido em esôfago, estômago em formato de “U”, cecos pilóricos, intestino anterior, intestino médio com pregas transversais e o intestino posterior possui afunilamento na região distal com pregas paralelas longitudinais no segmento retal (GADELHA; ARAÚJO, 2013).

3.2 Nutrição de peixes

Há uma atuação significativa e crescente de diversas pesquisas enfocando aspectos relativos à determinação de exigências nutricionais, principalmente de peixes redondos como pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e tambaqui (*Colossoma macropomum*), bagres como os surubins (*Pseudoplatystoma* sp.), jundiás (*Rhamdia* sp.) e, em menor escala, as espécies dos gêneros (*Leporinus*) e (*Brycon*) (BOSCOLO *et al.*, 2011), além de avaliação de ingredientes alternativos para a composição de rações e influência da nutrição sobre o metabolismo e saúde dos peixes, proporcionando a obtenção de rações adequadas que atenda as exigências das espécies e que sejam viáveis do ponto de vista zootécnico e financeiro (BICUDO; ABIMORAD, 2012).

Os peixes necessitam de macro e micronutrientes em suas dietas, que deverão estar balanceadas em função da espécie, hábito alimentar, idade entre outros fatores, influenciando a digestão, absorção de nutrientes e interações metabólicas principalmente na fase de crescimento destes animais (STECH; CARNEIRO, PIZAURO-JUNIOR, 2009). Quando em fase de crescimento, os peixes requerem níveis protéicos mais elevados para que suas necessidades metabólicas e de desenvolvimento sejam atendidas (SANTOS, 2007), porém quando os níveis protéicos estão acima de suas exigências haverá aumento da excreção de compostos nitrogenados no ambiente de cultivo e parte da proteína será utilizada para o crescimento e metabolismo energético (FRACALOSSO & CYRINO, 2013). Neste sentido, a determinação da concentração protéica na dieta tem grande relevância em pesquisas de nutrição em peixes nativos (BICUDO; ABIMORAD, 2012).

O matrinxã digere igualmente proteína de origem animal e vegetal, aproveitando eficientemente gorduras, carboidratos e proteínas como fonte de energia para realizar suas funções biológicas. Esta característica é observada através da adaptação do seu metabolismo ao tipo de nutriente presente nas dietas, além da relação entre a atividade proteásica, lipásica e amilásica, e o substrato de alimento ofertado (GADELHA; ARAÚJO, 2013).

3.3 Proteínas na nutrição de peixes

As proteínas desempenham um papel central em muitas funções biológicas (MELO *et al.*, 2012), com diversas propriedades e funções, tais como: função enzimática, imunológica, hormonal, estrutural, coagulante, nutritiva, transportadora de substâncias específicas dentro ou fora das células (NELSON; COX, 2005). No corpo do peixe, as proteínas são os constituintes principais dos tecidos estruturais de proteção, tecidos moles e fluidos corporais (LALL; ANDERSON, 2005).

Os peixes consomem proteínas para obter os aminoácidos, e através do processo de hidrólise, são absorvidos pelo trato intestinal e distribuídos pelo sangue para todos os órgãos e tecidos. O contínuo suprimento deste nutriente nas quantidades ideais para o peixe é necessário para promover um perfeito crescimento (PORTZ; FURUYA, 2012), porém o nível protéico precisa estar balanceado com os demais ingredientes da ração (ALMEIDA FILHO *et al.*, 2012) para atender as demandas metabólicas e fase de crescimento da espécie (MELO *et al.*, 2012).

Existem limites nos níveis de proteína para cada espécie de peixe, ao exceder esses limites, provocam-se resultados indesejáveis no desempenho e na qualidade da água, além de elevar o custo dessas rações (SUSSEL, 2012). Uma quantidade de proteína inadequada na dieta resulta na redução ou parada do crescimento e perda de peso, devido à degradação de proteína dos tecidos, feita com o objetivo de manter funções vitais. Se a quantidade de proteínas suplementada na dieta for superior às exigências do peixe, somente parte desta proteína dietética poderia ser utilizada para produção de novas proteínas e o excesso seria convertido em energia de armazenamento ou simplesmente eliminado (PORTZ; FURUYA, 2012).

3.4 Enzimas Digestivas

As enzimas atuam como catalisadores biológicos (BEZERRA; VIEIRA; CARVALHO JR., 2001), tendo atividade enzimática específica para hidrólise de proteínas, carboidratos e lipídios (HALVER; HARDY, 2002). O conhecimento de sua atividade no trato digestório, caracterização e quantificação contribuem para a elaboração de programas alimentares eficientes (COSTA *et al.*, 2011).

A digestão de proteínas inicia no estômago através da ação de enzimas proteolíticas: pepsinogênio, lipase gástrica e ácido clorídrico. O ácido clorídrico ativa o pepsinogênio transformando-o em pepsina, a qual continua o processo de transformação por auto-catálise atuando na desnaturação das proteínas, tornando-as mais suscetíveis a subseqüente hidrólise efetuada pelas proteases (ROTTA, 2003; RIBEIRO *et al.*, 2012).

Em peixes, a atividade proteásica ao nível intestinal ocorre em presença de um pH alcalino. A ativação da tripsina pancreática ocorre entre o pH 7,0 a 11,0, dependendo do substrato e sua atividade está relacionada com a morfometria do tubo digestório e o arranjo das pregas intestinais (SEIXAS-FILHO, 2003). As células na mucosa da parte inicial do intestino produzem um pequeno hormônio peptídico, colecistoquinina (CCK), em resposta à

presença de lipídios e proteínas parcialmente digeridas que entram nas regiões do intestino (ROTTA, 2003).

Segundo Ribeiro *et al.* (2012), as proteases são liberadas pelo pâncreas, na porção inicial do intestino e cecos pilóricos. Peptídeos e nutrientes ingeridos, presentes na luz duodenal, favorecem a secreção de pancreozinina que estimula o pâncreas a secretar pró-enzimas ou zimogênios, precursores enzimáticos da tripsina, quimiotripsina, carboxipeptidase, quitinase, ribonuclease, entre outras. Estas enzimas são ativadas no intestino pela enteroquinase, que converte o zimogênio pancreático tripsinogênio em tripsina pela remoção de um hexapeptídeo N-terminal. A tripsina converte outras moléculas de tripsinogênio em tripsina. Assim, a enteroquinase desencadeia uma cascata de atividade proteolítica, pois a tripsina é o ativador comum de todos os zimogênios pancreáticos.

A digestão de lipídios inicia no estômago e prossegue em cecos pilóricos e intestino através da ação de lipases e colipases, que são as enzimas responsáveis pela hidrólise de triglicerídeos em ácidos graxos livres e glicerol. O estômago pode apresentar ação de lipases inespecíficas, porém o sítio primário ocorre em cecos pilóricos e porção inicial do intestino anterior. Os carboidratos são hidrolisados por um conjunto de enzimas, onde destaca-se a amilase por realizar a hidrólise de polissacarídeos de glicose, transformando-os em oligossacarídeos. A amilase pode ser detectada em todo o trato gastro-intestinal, mas é secretada pelo pâncreas exócrino e tem maior atividade sobre o quimo no lúmen intestinal (BALDISSEROTTO; CYRINO; URBINATI, 2014).

A disponibilidade das enzimas e o seu efeito na capacidade digestiva estabelece limites fisiológicos na taxa de crescimento e na eficiência da conversão alimentar (PEREZ-CASANOVA *et al.*, 2006), elucidando certos aspectos de sua fisiologia nutritiva e sobre os problemas nutricionais, como dietas artificiais (XIONG; XIE; ZHANG, 2011). Entretanto, são escassos os trabalhos avaliando as enzimas digestivas para *Brycon amazonicus*.

3.5 Hematologia

A hematologia tem importância fundamental na avaliação das condições fisiológicas e estado nutricional dos peixes (RANZANI-PAIVA; FELIZARDO; LUQUE, 2005), sendo considerada como procedimento de rotina em métodos de diagnósticos (RANZANI-PAIVA; SILVA-SOUZA, 2004) de estresse animal, de desequilíbrio influenciado pelo ambiente ou devido à presença de agentes infecciosos (SILVA; LIMA; BLANCO, 2012).

Os índices hematimétricos podem ser utilizados no controle de patologias e estresse, além de demonstrar o estado fisiológico do animal (TAVARES-DIAS; MORAES, 2004). O

volume corpuscular médio está relacionado com a dinâmica cardíaca e com o fluxo sanguíneo, enquanto que a hemoglobina corpuscular média demonstra como está a função respiratória (HOUSTON, 1990).

A composição bioquímica do sangue mostra o equilíbrio entre o ingresso, o egresso e a metabolização dos nutrientes no tecido animal e qualquer desequilíbrio pode levar a redução do desempenho zootécnico (GONZÁLEZ, 2000). As análises dos constituintes séricos e parâmetros bioquímicos no plasma são úteis na detecção e diagnóstico do equilíbrio metabólico sob condições de cultivo (PAVLIDIS *et al.*, 2007), onde os biomarcadores sanguíneos como glicose, triglicerídeos, colesterol, proteína total, lipoproteínas e ureia são utilizados para avaliar a fisiologia dos animais e estão intimamente relacionados com o estado nutricional (KAVITHA *et al.*, 2012).

Neste sentido, Lazzari *et al.*, (2011) afirmam a necessidade de estudar sobre hematologia em diferentes condições nutricionais, visto que a maioria dos estudos enfatiza exclusivamente o aspecto de ganho de peso, sem levar em consideração o estado metabólico e de saúde dos peixes.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Aquicultura da Universidade Nilton Lins (Manaus/AM), durante 52 dias. Foram utilizados 60 juvenis de matrinxã com peso inicial médio de $29,03 \pm 1,16$ g, oriundos do Centro de Treinamento Tecnologia e Produção em Aquicultura (CTTPA), no município de Presidente Figueiredo/AM. Os juvenis passaram inicialmente por um período pré-experimental de 10 dias, para a aclimação às condições experimentais.

Após este período, os juvenis foram distribuídos em 12 tanques de 310 litros em um sistema com renovação parcial de água com aeração artificial constante, na densidade de cinco peixes por tanque. O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e três repetições, sendo considerado uma unidade experimental o tanque de 310 litros.

Os peixes foram submetidos a um fotoperíodo de 12h:12h (claro:escuro), controlado por um dispositivo temporizador automático. Os parâmetros da água como pH e amônia foram mensurados diariamente utilizando kits comerciais, obtendo os valores de 6,2 e 0,25 ppm, respectivamente.

Foram utilizadas quatro dietas experimentais isoenergéticas (ED 4.000 Kcal/Kg) com níveis crescentes de proteína (27%, 32%, 36% e 40%) para a alimentação de matrinxã (tabela 1), seguindo uma faixa de consumo de proteína comumente observada em peixes onívoros (NRC, 2011).

Tabela 1. Composição e análise centesimal das dietas experimentais.

| Ingredientes | Níveis de Proteína Bruta nas rações (%) | | | |
|---------------------------|---|--------|--------|--------|
| | 27% | 32% | 36% | 40% |
| Farelo de soja | 16,52 | 24,03 | 31,58 | 39,02 |
| Farinha de peixe | 25,00 | 25,00 | 25,00 | 25,00 |
| Glúten de Milho | 0,00 | 1,80 | 3,60 | 5,40 |
| Farelo de trigo | 15,0 | 15,0 | 15,0 | 15,0 |
| Farelo de milho | 29,78 | 21,54 | 13,30 | 5,06 |
| Óleo de soja | 5,00 | 5,00 | 5,00 | 5,00 |
| Fosfato bicálcico | 1,50 | 1,50 | 1,50 | 1,50 |
| Premix ¹ | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |
| Sal | 0,50 | 0,50 | 0,50 | 0,50 |
| BHT | 0,02 | 0,02 | 0,02 | 0,02 |
| Ácido benzoico | 0,50 | 0,50 | 0,50 | 0,50 |
| Celulose | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |
| Inerte | 4,17 | 3,11 | 2,00 | 1,00 |
| Total | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 |
| Composição centesimal (%) | | | | |
| Matéria Seca | 96,11 | 96,29 | 96,03 | 95,55 |
| Proteína Bruta | 27,09 | 32,08 | 35,66 | 39,73 |
| Extrato Etéreo | 14,16 | 13,05 | 13,08 | 12,81 |
| Cinzas | 13,11 | 12,57 | 11,83 | 11,19 |
| Fibra Bruta | 4,34 | 6,14 | 5,03 | 4,38 |
| ENN ² | 41,30 | 36,16 | 34,40 | 31,89 |

1- Premix (mg/kg diet): Vit. A (min) = 1.200.000 UI; Vit. D3 (min) = 200.000 UI; Vit. E (min) = 12.000 mg; Vit. K3 (min) = 2.400 mg; Vit. B1 (min) = 4.800 mg; Vit. B2 (min) = 4.800 mg; Vit. B6 (min) = 4.000 mg; Vit. B12 (min) = 4.800 mg; Vitamina C = 48.000 mg; Ácido fólico (min) = 1.200 mg; Ácido pantotênico (min) = 12.000 mg; Biotina (min) = 48 mg; Colina (min) = 65.000 mg; Niacina (min) = 24.000 mg; Ferro (min) = 10.000 mg; Cobre (min) = 600 mg; Manganês (min) = 4.000 mg; Zinco (min) = 6.000 mg; Iodo (min) = 20 mg; Cobalto (min) = 2 mg; Selênio (min) = 20 mg. 2 - ENN: Extrativo não nitrogenado.

Os ingredientes foram homogenizados e umedecidos com 40% de água em misturador (SAMMIC, MP3000) e posteriormente transformados em peletes por meio da utilização de uma prensa de carne e cortados em aproximadamente 4 mm. As dietas foram secas e armazenadas em refrigerador (5 ° C) até à utilização.

As dietas foram peletizadas no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos da Universidade Nilton Lins e a composição centesimal das dietas experimentais foi analisada pelos métodos oficiais da Associação Oficial de Químicos Analíticos (AOAC, 2012), sendo o teor de umidade determinado por secagem durante 24h a 110°C até peso constante, proteína bruta pelo método de Kjeldahl ($N \times 6,25\%$), extrato etéreo por extração com éter etílico, cinzas por aquecimento a 450°C durante 24h, fibra bruta pelo método de Weende, descrito por Silva e Queiroz (2002) e extrativo não-nitrogenado obtido pela subtração da proteína bruta, extrato etéreo, fibra bruta e cinzas de 100% da dieta.

A dieta foi fornecida três vezes ao dia (8:00, 12:00 e 16:00 horas) até a saciedade aparente e a quantidade de ração fornecida diariamente foi registrada a fim de calcular o consumo dos peixes. No final do experimento, após jejum de 12 horas para o esvaziamento do trato gastrointestinal, os peixes foram coletados e anestesiados com 50mg/L de óleo de cravo (Inoue et al., 2003), para ser calculado as variáveis de desempenho zootécnico, por meio dos seguintes cálculos:

- Sobrevivência (S, %) = (número de peixes final x 100) / número de peixes inicial.
- Ganho de peso (GP, g) = peso final - peso inicial
- Consumo de ração aparente (CRA, g) = alimento ofertado / número de peixes
- Conversão alimentar aparente (CAA) = alimento ofertado / ganho em peso
- Taxa de crescimento específico (TCE, %) = $((\ln Pf - \ln Pi) / \text{tempo}) \times 100$
- Taxa de eficiência alimentar (TEA, %) = ganho em peso / alimento ofertado x 100
- Taxa de eficiência proteica (TEP, %) = ganho em peso / proteína consumida
- Taxa de retenção proteica (TRP, %) = $((\text{peso final} \times \text{proteína corporal final}) - (\text{peso inicial} \times \text{proteína corporal inicial}) / \text{proteína consumida}) \times 100$
- Taxa de retenção lipídica (TRL, %) = $((\text{peso final} \times \text{extrato etéreo corporal final}) - (\text{peso inicial} \times \text{extrato etéreo corporal inicial}) / \text{proteína consumida}) \times 100$
- Índice hepatossomático (IHS, %) = peso total do fígado / peso total do peixe

Em que:

$\ln Pf$ = Logaritmo do peso médio final;

$\ln Pi$ = Logaritmo do peso médio inicial;

Após a avaliação de desempenho, cinco peixes foram destinados para a coleta sanguínea para análise de hematócrito, hemoglobina, RBC, HCM, VCM, CHCM, glicose, triglicerídeo, proteína total e colesterol. Assim, as amostras de sangue foram coletadas por meio de punção do vaso caudal utilizando seringas de 3 ml e agulhas hipodérmicas estéreis

22G x 1” (0,70x25mm). Dessa forma, as amostras foram acondicionadas em microtubos de 1,5 ml com e sem anticoagulante EDTA, sendo mantidas sob refrigeração a 4°C para posterior análise dos parâmetros sanguíneos e metabólicos, conforme Ranzani-Paiva et al. (2013).

O sangue total foi utilizado para avaliação das variáveis hematológicas, a determinação do número de eritrócitos circulantes (RBC) foi realizada após diluição em formol-citrato, sendo a amostra homogeneizada para a contagem dos eritrócitos, utilizando câmara de Neubauer em microscópio com objetiva de 40 X. Já o hematócrito (Ht) foi determinado pelo método do microhematócrito e a concentração de hemoglobina (Hb) pelo método da cianometahemoglobina (KAMPEN; ZIJLSTRA, 1964). Após determinação do RBC, Ht e Hb, foram calculados os índices hematimétricos através das seguintes fórmulas (BROWN 1976):

- Volume corpuscular médio (VCM) = $Ht \times 10 / RBC$
- Hemoglobina corpuscular média (HCM) = $Hb \times 10 / RBC$
- Concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) = Hb / Ht

Após análises hematológicas o sangue contendo EDTA foi centrifugado a 3000 rpm, durante 15 minutos, para a separação do plasma e o sangue sem anticoagulantes foi centrifugado após 3 horas de coagulação para a obtenção do soro. As concentrações de glicose e triglicerídeos foram realizadas a partir do plasma e as análises de proteína total e colesterol, a partir do soro. Todas as análises foram realizadas utilizando-se kits comerciais específicos (In Vitro Diagnóstica Ltda, Itabira/MG) e as respectivas leituras feitas com auxílio de espectrofotômetro, seguindo as recomendações do fabricante.

Após a colheita do sangue, dois peixes foram destinados à composição centesimal (AOAC, 2012). Desse modo, o teor de umidade foi determinado inicialmente pela pré-secagem a 65°C durante 72 horas e posterior secagem definitiva a 105°C durante 12 horas até peso constante. A proteína bruta foi determinada pelo método de Kjeldahl ($N \times 6,25\%$), o extrato etéreo por extração de éter etílico, as cinzas por aquecimento a 450°C durante 24h. Ressalta-se que, esta análise foi realizada também inicialmente, antes de começar o experimento, a fim de obter índices favoráveis a análise de parâmetros do desempenho zootécnico.

Em seguida, por meio de incisão ventral, foi retirado o estômago e intestino (anterior e posterior) de três peixes de cada unidade experimental para a determinação da atividade enzimática. O preparo dos homogeneizados ocorreu no Laboratório de Biologia Molecular de Organismos Aquáticos da Universidade Nilton Lins. Os extratos do intestino anterior com

cecos pilóricos e intestino posterior foram homogeneizados em tampão TRIS HCL 50 mM com CaCl₂ em pH 8,0, e o extrato de estômago em solução salina contendo CaCl₂. Após a homogeneização, uma alíquota de 2,0 mL de cada amostra foi centrifugada em centrífuga refrigerada a 4°C, durante 4 minutos em 10 rpm. O sobrenadante foi alíquotado e armazenado em tubos de PCR com capacidade volumétrica de 200 µL e mantidos congelados a -80°C até o momento da análise para a determinação das atividades enzimáticas.

Assim sendo, para a determinação da atividade da protease ácida, foi empregado o método de hemoglobina, por Khaled, *et al.* (2011) adaptado. Foi utilizado como tampão 100 mM citrato de sódio com 20 mM de CaCl₂ e como substrato hemoglobina com pH 2,0. A reação foi incubada por 60 minutos a 25°C e interrompida com adição de 50 µL de ácido tricloroacético a 10% e o precipitado removido por centrifugação a 10.000 rpm/5min para leitura do sobrenadante em 275 nm, sendo expressa como 1 µmol de tirosina/minuto/mg de proteína. Sendo utilizada tirosina como padrão. A leitura foi realizada em microplaca utilizando um leitor de microplacas Multiskan GO (Thermop Scientific).

Para a atividade da protease alcalina, usou-se o método de azocaseína de Sarath *et al.* (1989) adaptado. Utilizado como tampão 100 mM de Tris-HCl em pH 7,6, com 20 mM de CaCl₂ e 20mM de NaCl, tendo azocaseína a 0,25% como substrato, de modo que, a reação fosse incubada por 60 minutos a 25°C e interrompida com adição de 50 µL de TCA (10%) e o precipitado removido por centrifugação a 10.000 rpm/5min para leitura do sobrenadante em 440 nm, sendo expressa como 1 µmol de substrato hidrolisado/mg de proteína/ minuto.

Outra atividade enzimática realizada, foi a da lipase não-específica, que foi determinada pela metodologia adaptada de Albro *et al.* (1985) nos homogeneizados do estômago e intestino, utilizando-se como tampão uma mistura de 200 mM Tris-HCl, 10 mM de CaCl₂, 10 mM de NaCl, 1 mM de Tamodeoxicolato, 0,05% de Triton X-100 e 0,05% de goma arábica em pH 8,0 e 2 mM de p-nitrofenila-miristato como substrato. A leitura foi realizada em microplaca a 405 nm após sua hidrólise e expressa como 1 µmol de substrato hidrolisado/mg de proteína/ minuto.

Por fim, a amilase foi determinada pelo método de Bernfeld (1955) adaptada. Na qual, a reação foi realizada utilizando tampão a 100 mM de acetato Na⁺ em pH 7,6, com 20 mM de CaCl₂ e 10 mM de NaCl e adição de homogeneizado, incubado por 60 minutos em temperatura ambiente. A reação foi interrompida com adição de 50 µL de amido a 1%. A leitura foi feita em 554 nm e expressa como 1 µmol de glicose/mg de proteína/minuto. Para a

determinação da curva de calibração da maltose foram utilizados 50 µL de lugol diluído a 0,1% de I₂ e 0,3% de I. A leitura foi realizada em microplaca.

Os resultados foram expressos como a média ± erro padrão da média. As pressuposições estatísticas de normalidade dos erros e a homogeneidade da variância foram previamente avaliados. Os dados foram analisados por análise de variância unidirecional (one-way ANOVA), seguida de regressão polinomial, quando observado significância estatística entre os tratamentos (P<0,05). A análise estatística foi realizada através do programa computacional SAS (versão 9.2 - 2008).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Desempenho Zootécnico

Para avaliar o desempenho e determinar a exigência proteica, os juvenis de matrinxã foram alimentados com níveis de proteína bruta e ao final dos 52 dias experimentais foram observadas significâncias estatísticas entre as médias das variáveis, peso final, ganho de peso, conversão alimentar aparente, taxa de crescimento específico, taxa de eficiência proteica e taxa de retenção lipídica (PF, GP, CAA, TCE, TEP e TRL) em relação à ingestão de níveis crescentes de proteína bruta na dieta (Tabela 2).

Os parâmetros PF, GP e TCE apresentaram efeito linear positivo com inclusão crescente de proteína (Gráficos 1, 2 e 4). Estes valores demonstram que o maior nível contendo 40% de PB apresentou as maiores médias para PF, GP e TCE. De maneira semelhante, juvenis de jundiás também apresentaram aumento significativo da massa muscular quando a proteína da dieta aumentou, mostrando que o aumento na oferta de proteínas na dieta reflete diretamente na conversão em massa corporal (MELO, *et al.*, 2006).

No presente estudo foi observado que o tratamento em que os peixes apresentaram ganho de peso mais expressivo foi o tratamento que recebeu 40% de proteína bruta na dieta, representando um ganho de peso diário de 1,75g, enquanto que o tratamento de 27% demonstrou um ganho de peso diário de 1,18g, demonstrando que o nível de 40% de PB foi mais satisfatório neste estudo. Izel, Perin e Melo (1996) ao avaliarem o desempenho de juvenis de matrinxã com peso entre 70 e 105g, submetidos à dietas com 17, 22 e 27% de proteína bruta em rações isocalóricas com energia bruta de 3.900Kcal/Kg e 3% de fibra bruta, observaram que o maior ganho de peso dos matrinxãs foram obtidos com a inclusão de 27% de PB, totalizando 534g em ganho de peso durante 9 meses, o que representava um ganho de peso diário de 1,97g.

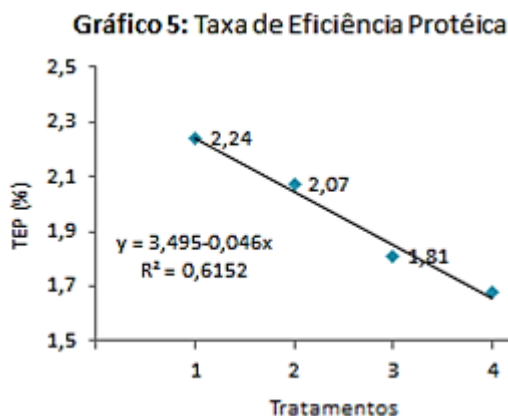
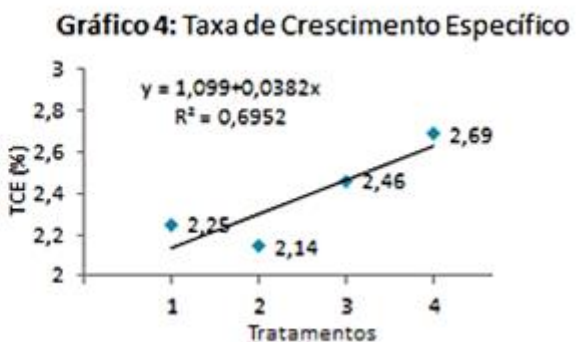
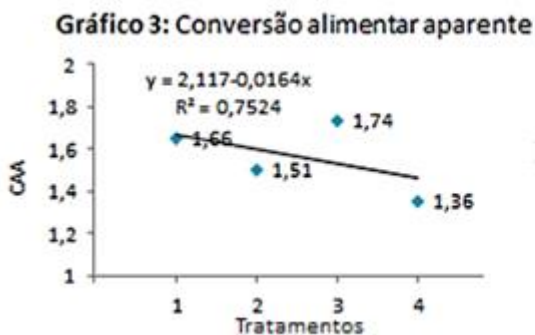
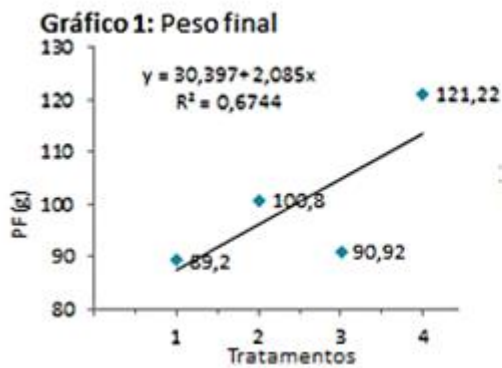
Tabela 2. Valores médios dos parâmetros de desempenho zootécnico de juvenis de matrinxã alimentados com diferentes níveis de proteína bruta.

| Variáveis | NÍVEIS DE PROTEÍNA | | | | P Valor |
|-----------|--------------------|--------------|--------------|--------------|---------|
| | 27% | 32% | 36% | 40% | |
| PI (g) | 27,73±0,87 | 33,13±2,29 | 25,38±2,09 | 29,85±1,69 | 0,080 |
| PF (g) | 89,20±3,54 | 100,80±4,54 | 90,92±3,35 | 121,22±10,59 | 0,023 |
| GP (g) | 61,47±2,97 | 67,67±3,73 | 65,53±2,89 | 91,37±8,98 | 0,015 |
| CRT (g) | 507,62±18,07 | 507,95±13,50 | 528,62±16,41 | 579,05±73,04 | 0,557 |
| CAA | 1,66±0,06 | 1,51±0,05 | 1,74±0,09 | 1,36±0,02 | 0,008 |
| TEA (%) | 0,61±0,02 | 0,67±0,02 | 0,65±0,04 | 0,67±0,07 | 0,775 |
| TCE (%) | 2,25±0,05 | 2,14±0,10 | 2,46±0,14 | 2,69±0,07 | 0,018 |
| TEP (%) | 2,24±0,07 | 2,07±0,07 | 1,81±0,12 | 1,68±0,19 | 0,044 |
| TRP(%) | 21,33±0,53 | 20,08±0,78 | 17,22±0,75 | 18,97±1,51 | 0,081 |
| TRL (%) | 50,75±1,21 | 62,76±1,00 | 57,07±4,32 | 73,18±4,30 | 0,010 |
| IHS (%) | 1,30±0,07 | 1,33±0,08 | 1,33±0,13 | 1,16±0,12 | 0,704 |
| SOB | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

Legenda: PI – Peso inicial; PF –Peso final; GP- Ganho de peso; CRT- Consumo Total de ração; CAA – conversão alimentar aparente; TEA – Taxa de eficiência alimentar; TCE – Taxa de crescimento específico; TEP – Taxa de eficiência protéica; TRP- Taxa de retenção protéica; TRL- Taxa de retenção lipídica; IHS- Índice hepatossomático; SOB – Sobrevivência.

O nível de 40% de PB apresentou valor de conversão alimentar aparente mais satisfatório quando comparado aos outros níveis de proteína bruta na dieta (Gráfico 3). No trabalho realizado por Izel *et al.*(2004), verificou-se uma CAA no valor de 2,04 para os níveis de 25% e 28% de PB, no entanto os tratamentos contendo 27% e 40% de PB do presente trabalho apresentaram os valores de 1,66 e 1,36, respectivamente de CAA, sendo um resultado mais satisfatório do que o observado por Izel *et al.* (2004), esta diferença pode estar relacionada à composição da dieta e densidade de estocagem.

A TEP apresentou efeito linear negativo para as dietas testadas, sugerindo que a proteína da dieta de maior nível pode não ter sido utilizada para deposição de proteína, mas sim para a deposição de gordura corporal (Gráfico 5). Essa afirmação pode ser apoiada nos resultados encontrados para TRP, TRL e EE na carcaça, pois à medida que aumentou o nível de proteína na dieta, os peixes obtiveram maior retenção de gordura corporal. Esses resultados corroboram com estudos similares em que foi observado estas mesmas constatações (Lee *et al.*, 2001; Zafer *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2016).



5.2 Parâmetros hematológicos e composição centesimal da carcaça

Não foram observadas diferenças significativas entre as médias das variáveis hemoglobina e índices hematimétricos (HG, HCM, VCM e CHCM) em relação à ingestão de níveis crescentes de proteína bruta na dieta, o que indica que os teores de proteína não interferem nos resultados de eritrograma (tabela 3). No entanto, hematócrito e reticulócitos (HT e RBC) apresentaram diferença significativa entre os tratamentos com aumento linear (Gráficos 6 e 7). O valor mais expressivo de hematócrito foi observado no tratamento da dieta contendo 40% de PB, porém o valor de 33,23% de hematócrito é considerado normal por estar dentro dos valores de referência (23-35%) para a espécie, não acarretando em problemas de saúde (TAVARES-DIAS, 2008). Higuchi *et al.* (2011), avaliando parâmetros hematológicos e bioquímicos de jundiás alimentados com níveis de 25%, 30% e 35% de PB,

não observou diferenças estatísticas entre os tratamentos. Segundo Pádua *et al.*, (2013) podem ocorrer alterações nos parâmetros hematológicos relacionados ao uso do eugenol (óleo de cravo).

Ferreira *et al.* (2013), testando níveis de 36% e 45% de PB na dieta associado a treinamento físico sobre parâmetros fisiológicos de juvenis de matrinxã, concluíram que não há interação entre o nível proteico e variações eritropoiéticas. Freitas (2015) avaliou respostas hematológicas da tilápia-do-nilo em relação aos níveis crescentes (22,1%, 25,6%, 28,6%, 31,9% e 33,9% de PB) em dietas, porém não observou alterações na eritropoiese, o que confirma que não há alterações de eritrograma relacionado ao nível de proteína bruta.

Tabela 3. Valores médios do eritrograma e do perfil bioquímico de juvenis de matrinxã alimentados com diferentes níveis de proteína bruta.

| NÍVEIS DE PROTEÍNA | | | | | |
|----------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|---------|
| Variáveis | 27% | 32% | 36% | 40% | P Valor |
| HT | 30,69±0,84 | 30,14±0,62 | 32,00±0,69 | 33,23±0,72 | 0,019 |
| HG | 1,32±0,06 | 1,39±0,10 | 1,37±0,06 | 1,25±0,04 | 0,529 |
| RBC | 2,71±0,11 | 2,68±0,09 | 2,80±0,12 | 3,34±0,17 | 0,002 |
| HCM | 5,05±0,39 | 5,35±0,53 | 4,87±0,28 | 4,13±0,28 | 0,168 |
| VCM | 116,74±7,26 | 115,23±4,02 | 114,85±7,73 | 110,16±7,07 | 0,916 |
| CHCM | 4,23±0,19 | 4,70±0,37 | 4,37±0,26 | 3,78±0,14 | 0,122 |
| BIOQUÍMICA SANGUÍNEA | | | | | |
| Variáveis | 27% | 32% | 36% | 40% | P Valor |
| GLI | 5,06±0,12 | 4,82±0,11 | 4,76±0,09 | 4,95±0,12 | 0,256 |
| TRI | 181,87±8,43 | 177,50±8,18 | 118,46±7,20 | 138,59±10,38 | 0,0001 |
| PT | 8,71±0,22 | 8,25±0,24 | 6,43±0,24 | 6,90±0,33 | 0,0001 |
| COL | 89,05±7,22 | 93,43±6,78 | 69,07±8,45 | 100,88±16,83 | 0,181 |

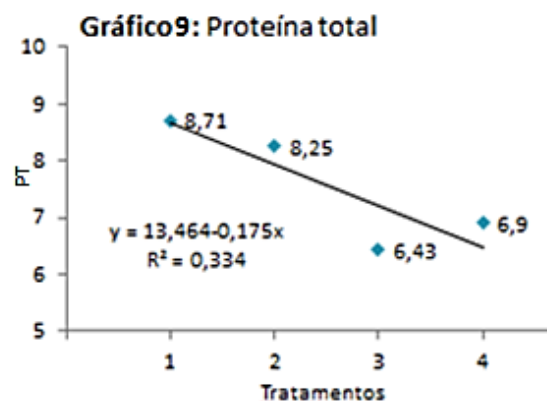
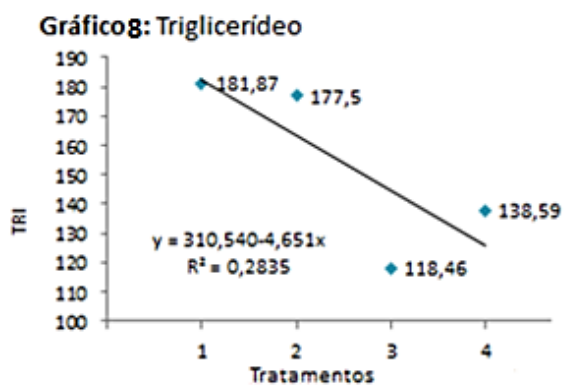
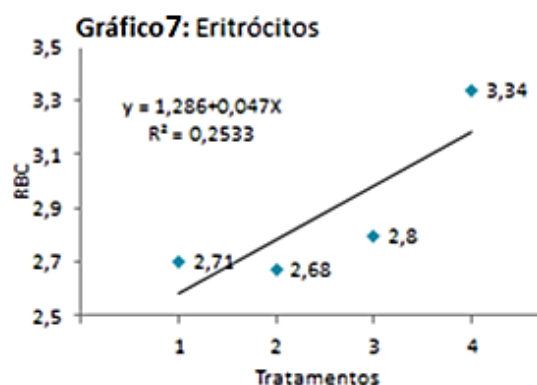
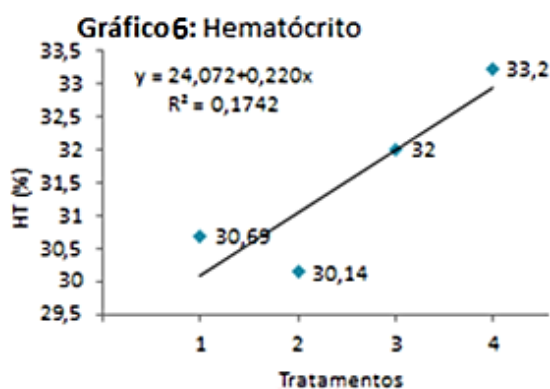
Legenda: HT – Hematócrito; HG – Hemoglobina; RBC- Eritrócitos; HCM- Hemoglobina corpuscular média; VCM – Volume corpuscular médio; CHCM – Concentração de hemoglobina corpuscular média. GLI – Glicose; TRI – Triglicerídeo; PT – Proteína Total; COL – Colesterol.

Valores de referência de RBC para *B. amazonicus*, conforme Tavares-Dias (2008) variam entre 1,13-1,56 ($\times 10^6/\mu\text{L}$), contudo foram observados valores superiores de RBC entre 2,68-3,34 ($\times 10^6/\mu\text{L}$). Esse aumento pode estar relacionado não aos níveis de inclusão proteica na dieta, mas a fatores de estresse provenientes do manejo ou ainda do exercício físico forçado no momento da captura destes animais para a realização de biometria final. Rojas, *et al.*, (2007) ao realizar estudo avaliando respostas hematológicas e plasmáticas de matrinxãs exercitados e submetidos ao transporte verificaram o valor de RBC aumentado, concluindo que esta alteração refletia uma adaptação metabólica desta espécie ao exercício.

O estresse é sinalizado a partir do hipotálamo para ativar os tecidos cromafins situados no rim prônáfrico, onde ocorre liberação de catecolaminas (adrenalina e noradrenalina). As

catecolaminas são responsáveis pela contração esplênica, liberando eritrócitos circulantes que estavam armazenados, culminando no aumento do RBC ou aumento do volume de eritrócitos e conseqüente aumento do hematócrito (MARIANO, 2006).

Os parâmetros sanguíneos podem ser usados como indicadores biológicos no monitoramento do bem estar dos peixes, como ferramenta para o diagnóstico de estresse animal, onde a composição bioquímica do plasma sanguíneo reflete de modo fiel a situação metabólica dos tecidos nos animais, sendo possível a avaliação de alterações no funcionamento de órgãos e adaptação do animal diante de desafios nutricionais e fisiológicos e desequilíbrios metabólicos específicos ou de origem nutricional (DALLAGNOL *et al.*, 2014).



Níveis de triglicerídeos e proteína total plasmáticos apresentaram diferença estatística significativa com efeito linear negativo (Gráficos 8 e 9). A diminuição de triglicerídeos e proteína total apresenta uma relação inversamente proporcional aos níveis de extrato etéreo (EE) da carcaça, que apresentou aumento linear conforme a inclusão dos níveis de proteína bruta na dieta (tabela 4). Esta resposta sugere que a redução da proteína total seja reflexo da redução dos níveis de albumina circulante, uma vez que os níveis de triglicerídeos circulantes

também foram menores. Desta forma faz-se necessário realizar testes para quantificar os níveis de albumina para confirmar esta hipótese, em experimentos futuros. O soro sanguíneo representa a fração líquida do sangue coagulado e a fração proteica é constituída pela albumina e globulina. A albumina é uma lipoproteína que se apresenta em abundância no plasma sanguíneo, atuando na pressão oncótica do plasma vascular e transporte de ácidos graxos insolúveis do sistema circulatório para os tecidos. Sua síntese é influenciada pela nutrição, balanço hormonal, estado geral do fígado e estresse. Enquanto que as globulinas atuam principalmente no sistema imune, fatores de coagulação, transporte de lipídios, vitaminas, hormônios e íons metálicos (HASEGAWA *et al.*, 2002; NELSON & COX, 2002; ANTUNES, 2003; THRALL, *et al.*, 2015).

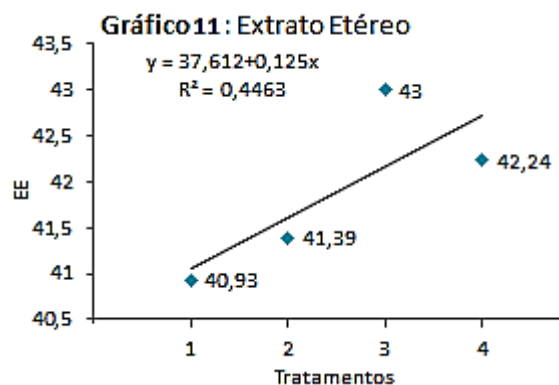
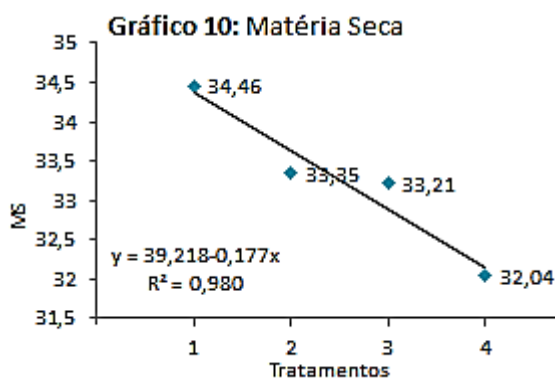
Tabela 4. Valores médios da composição centesimal da carcaça de juvenis de matrinxã alimentados com diferentes níveis de proteína bruta, ao final do período experimental.

| Variáveis | NÍVEIS DE PROTEÍNA | | | | P Valor |
|-----------|--------------------|------------|------------|------------|---------|
| | 27% | 32% | 36% | 40% | |
| MS | 34,46±0,03 | 33,35±0,05 | 33,21±0,05 | 32,04±0,04 | 0,0001 |
| PB | 49,32±0,57 | 49,85±0,47 | 49,34±0,78 | 49,88±0,76 | 0,883 |
| EE | 40,93±0,20 | 41,39±0,12 | 43,00±0,48 | 42,24±0,60 | 0,012 |
| CZ | 7,41±0,26 | 8,39±0,22 | 7,98±0,27 | 8,24±0,33 | 0,104 |

Legenda: MS – Matéria seca; PB – Proteína Bruta; EE- Extrato etéreo; CZ- Cinzas.

Apesar de não observar significância nos níveis de glicose plasmática, estudo prévio mostra aumento dos níveis plasmáticos de glicose e redução de triacilgliceróis com o aumento da proteína dietética, sugerindo que para lidar com a redução de carboidratos, os músculos mobilizam a entrada de lipídios nas células para metabolizar aminoácidos, considerando que as concentrações plasmáticas de triglicerídeos e ácidos graxos livres diminuiram com o aumento de proteínas na dieta (VIEIRA, INOUE e MORAES, 2005).

A Matéria Seca (MS) da carcaça apresentou tendência linear de redução, enquanto o Extrato Etéreo apresentou comportamento inverso da MS (Gráficos 10 e 11). A deposição de lipídios na carcaça com o aumento da proteína dietética não é economicamente desejável (NELSON & COX, 2002; FURUYA, *et al.*, 2005), uma vez que os aminoácidos oriundos da proteína foram oxidados para serem armazenados como reserva de energia ao invés de serem utilizados para crescimento.



5.3 Enzimas digestivas

Foi detectada atividade enzimática para hidrólise de proteína, lipídio e carboidrato nos segmentos do trato digestivo de *Brycon amazonicus*, entretanto não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos (tabela 5).

A distribuição das enzimas digestivas ao longo do trato digestório pode ser considerada como uma adaptação à variação da composição dietética, indicando que os peixes podem adaptar seus processos digestivos, tais como perfil e secreção de enzimas em todos os segmentos do trato gastrointestinal (ALMEIDA, 2006; STECH; CARNEIRO; PIZAURO-JUNIOR, 2009). Neste sentido, Almeida, Lundstedt e Moraes (2006) mostraram inter-relação entre os macronutrientes e as principais enzimas digestivas através da detecção da hidrólise de proteínas, carboidratos e lipídios a partir do intestino anterior e intestino grosso de tambaqui (*Colossoma macropomum*).

Tabela 5. Valores médios da atividade enzimática digestiva de juvenis de matrinxã alimentados com diferentes níveis de proteína bruta na dieta.

| Variáveis | NÍVEIS DE PROTEÍNA | | | | P Valor |
|----------------------------|--------------------|--------------|--------------|--------------|---------|
| | 27% | 32% | 36% | 40% | |
| ESTÔMAGO | | | | | |
| P. ÁCIDA | 185,81±18,76 | 171,54±24,72 | 132,47±13,94 | 130,76±29,73 | 0,258 |
| P. ALCALINA | 0,11±0,01 | 0,09±0,01 | 0,08±0,02 | 0,07±0,02 | 0,652 |
| INTESTINO ANTERIOR | | | | | |
| P. ÁCIDA | 164,96±16,42 | 166,73±10,18 | 206,22±11,08 | 183,97±27,57 | 0,244 |
| P. ALCALINA | 0,18±0,020 | 0,17±0,01 | 0,18±0,01 | 0,19±0,02 | 0,777 |
| LIPASE | 0,24±0,08 | 0,16±0,04 | 0,17±0,13 | 0,06±0,05 | 0,509 |
| AMILASE | 1,22±0,13 | 0,82±0,12 | 0,90±0,09 | 0,93±0,10 | 0,084 |
| INTESTINO POSTERIOR | | | | | |
| P. ÁCIDA | 137,52±17,32 | 213,30±31,09 | 181,09±20,23 | 183,25±23,67 | 0,165 |
| P. ALCALINA | 0,19±0,03 | 0,21±0,04 | 0,17±0,02 | 0,20±0,02 | 0,729 |
| LIPASE | 0,02±0,003 | 0,02±0,004 | 0,03±0,01 | 0,01±0,002 | 0,319 |
| AMILASE | 1,37±0,09 | 1,76±0,19 | 1,69±0,22 | 1,45±0,16 | 0,362 |

Legenda: P. ÁCIDA - Protease ácida; P. ALCALINA – Protease alcalina;

As proteases ácidas e alcalinas inespecíficas foram detectadas em todos os segmentos do trato digestivo, porém as proteases alcalinas apresentaram maior expressão de sua atividade em segmentos do intestino anterior e posterior devido a característica do pH alcalino. Segundo Visentainel; Nunes; Moraes (2007), a atividade proteolítica pode variar em relação ao tempo de passagem do alimento no trato digestivo, pois ao avaliarem a atividade proteolítica do suco digestivo em juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) verificaram que as maiores atividades da protease ácida ocorreram pouco tempo após a ingestão do alimento e à medida que o bolo alimentar entra em contato com outras porções do trato ocorre à secreção das proteases alcalinas e consequentemente suas maiores atividades.

Existem diversos estudos correlacionando a atividade proteolítica variando em função da inclusão de níveis protéicos para peixes, como os realizados por Lazzari, (2005); Almeida; Lundstedt; Moraes, (2006); Arbeláez-Rojas; Inoue; Moraes (2011); Xiong; Xie; Zhang, (2011), contudo não foi observado essa relação neste estudo, sendo ratificado por Almeida (2014).

A atividade lipásica não foi detectada no estômago e apresentou a maior expressão de sua atividade no intestino anterior. Este resultado pode estar correlacionado à presença dos cecos pilóricos que foram homogeneizados com a porção do intestino anterior. Ribeiro *et al.*, (2007) afirma que a ação da lipase é mais efetiva na porção proximal do intestino e cecos pilóricos, cuja ação se estende com redução de atividade nas demais porções do trato digestivo. No estômago, a lipase é responsável por hidrolisar lipídios emulsificados e de baixo ponto de fusão, demonstrando menor atuação lipolítica neste segmento. A lipase oriunda do pâncreas é secretada na porção inicial do lúmen intestinal e exerce maior importância na hidrólise de lipídios (ROTTA, 2003). Os cecos pilóricos são equivalentes ao pâncreas exócrino e por esta razão podem produzir amilases, lipases, carboxipeptidases e estar envolto em tecido pancreático associado ao seu tecido adiposo (BALDISSEROTTO; CYRINO; URBINATI, 2014).

A atividade da amilase pode ser localizada em todo o trato digestório dos peixes, porém a maior degradação de carboidratos ocorre em todo o segmento intestinal. Dentre as carboidrases, a amilase é a enzima mais comum. Sua produção ocorre através da estimulação de insulina liberada pelo pâncreas (STECH; CARNEIRO, PIZAURO-JUNIOR, 2009) e sua atividade máxima ocorre em pH 6,0 - 8,0 (CANDIOTTO, 2013) e, quando necessária é secretada em cecos pilóricos e intestino, onde ocorre sua adsorção (MUNILLA-MORAN; REY, 1996). Peixes carnívoros possuem intestino mais curto quando comparados com peixes de hábito alimentar herbívoro e onívoro, devido a essa característica morfológica, a atividade

da amilase fica limitada a degradar apenas uma pequena quantidade de carboidratos em espécies carnívoras (SILVEIRA; LOGATO; PONTES, 2009), ao passo que em peixes onívoros a atividade da enzima amilase pode estar relacionada com a adaptação do perfil de secreção enzimática (GOULART, *et al.*,2013).

6. CONCLUSÕES

O nível de 40% de proteína bruta na dieta resultou em melhores índices de desempenho zootécnico, no que se refere ao peso final, ganho de peso, taxa de crescimento específico e conversão alimentar aparente, porém a taxa de eficiência proteica foi menor, sugerindo que as proteínas foram depositadas na forma de gordura corporal, que pode ser verificada com o aumento do extrato etéreo da carcaça, o que não é desejável.

As alterações de eritrograma encontradas eram compatíveis com situação de estresse, evidenciando que a inclusão de níveis protéicos não influenciou em alterações hematológicas e a inclusão de níveis crescentes de proteína não interferiu na expressão das atividades enzimáticas digestivas.

Sugere-se a realização de estudos futuros para determinação de proteína digestível, ideal e perfil de aminoácidos a fim de determinar as exigências nutricionais para a espécie.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBRO, P. W.; HALL, R. D.; CORBETT, J. T.; SCHROEDER, J. Activation of non-specific lipase (EC 3.1.1.) by bile salts. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 835, p.477-490, 1985.
- ALMEIDA FILHO, R. L.; HONORATO, C. A.; ALMEIDA, L. C.; USHIZIMA, T. T., SANTAMARIA, F. M. Nutrição de surubim (*Pseudoplatystoma* sp.) – Desafio para aquicultura. *Revista Eletrônica Nutritime*, Viçosa, v. 9, n. 5, p. 1995-2010, 2012.
- ALMEIDA, A. P. G. Composição do conteúdo gastrintestinal e enzimas digestivas em teleósteos com diferentes hábitos alimentares. Dissertação de mestrado. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2014. 60p.
- ALMEIDA, L. C. Perfil digestivo e metabólico de juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818), alimentados com diferentes teores de proteína e lipídio. Dissertação de mestrado. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos, 2006. 91p.
- ALMEIDA, L. C.; LUNDSTEDT, L. M.; MORAES, G. Digestive enzyme responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) fed on different levels of protein and lipid. *Aquaculture Nutrition*, v.12, p. 443-450, 2006.
- ANTUNES, A.J. Funcionalidade de proteínas do soro de leite bovino. Barueri: Manole, 2003. 135 p.
- AOAC, (2012). Official methods of analysis, Association of official analytical chemist 19th edition, Washington D.C., USA.
- ARAÚJO, D. M.; PEZZATO, A.C.; BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E.; NAKAGOME, F. K. Hematologia de tilápias-do-nilo alimentadas com dietas com óleos vegetais e estimuladas pelo frio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.46, n..3, mar. 2011.
- ARBELÁEZ-ROJAS, G. A.; INOUE, L. A. K. A.; MORAES, G. Atividade proteolítica e crescimento de matrinxã em natação sustentada e alimentado com dois níveis de proteína. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.46, n.11, p.1521-1529, nov. 2011.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PISCICULTURA – ABP. Anuário Peixe BR da Piscicultura, 2018. 71p.
- Avaliação sérica de pacus submetidos a dietas com diferentes níveis de proteína e energia cultivados em tanques-rede. *Acta Iguazu*, Cascavel, v.3, n.2, p. 97-108, 2014.

- BALDISSEROTTO, B; CYRINO, J. E. P; URBINATI, E. C. Fisiologia de peixes neotropicais de água doce. Jaboticabal: Funep, 2014. 336p.
- BERNFELD, P. Amylases α and β : colorimetric assay method. In: COLOWICH, S. P.; KAPLAN, N. O. (Ed.) Methods in Enzymology. New York: Academic Press,, pp. 149-154, 1955.
- BEZERRA, R. S; VIEIRA, V. L. A.; CARVALHO JR., L. B. Proteases no trato digestivo de peixes: Tripsina do tambaqui (*Colossoma macropomum*), modelo alternativo para o aproveitamento de sub-produtos na indústria pesqueira. Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento, v. 22, set.-out., 2001.
- BICUDO, A. J. A.; ABIMORAD, E. G. Nutrição adequada a cada espécie é desafio para a pesquisa e produção. Visão Agrícola, n.11, p.77-79, jul./dez. 2012.
- BOSCOLO, W. R.; SIGNOR, A.; FREITAS, J. M. A.; BITTENCOURT, F.; FEIDEN, A. Nutrição de peixes nativos. Revista Brasileira de Zootecnia, v.40, p.145-154, 2011.
- BROWN, B. A. Hematology: principles and procedures. 2nd ed. Philadelphia: Lea e Febiger, 1976. 504 p.
- CANDIOTTO, F. B. Caracterização de enzimas digestórias do linguado (*Paralichthys orbignyanus*). Dissertação de mestrado. Rio Grande: Universidade Federal do Rio Grande, 2013. 73p.
- COSTA, M. L.; RADÜNZ NETO, J.; LAZZARI, R.; VEIVERBERG, C. A.; SUTILI, F. J.; LORO, V.L. Enzimas digestivas de juvenis de carpa-capim alimentadas com forragem e ração. Arch. Zootec., v. 60, n. 231, p. 563-570, 2011.
- DALLAGNOL, J.M.; HIGUCHI, L. H.; MALUF, M. L. F.; FEIDEN, A.; BOSCOLO, W.R.
- DAMASCENO, T. C. Determinação do melhor nível de proteína bruta na dieta para neon cardinal (*Paracheirodon axelrodi*). Salvador: Universidade Federal da Bahia; 2016. 19 p.
- FAO. 2018. The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 - Meeting the sustainable development goals. Rome. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- FERREIRA, M. S.; ARIDE, P. H. R.; SILVA, M. N. P.; VAL, A. L. Efeito da quantidade de proteína na dieta e treinamento físico sobre parâmetros fisiológicos e zootécnicos de matrinhã (*Brycon amazonicus*, Gunther 1869). Acta Amazônica, v. 43, n. 4,p.439-446, 2013.

- FRACALOSSI, D. M.; CYRINO, J. E. P. Nutriaqua: Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira. 1ed. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2013. 375p.
- FREITAS, J. M. A. Desempenho produtivo e respostas hematológicas da tilápia-do-nylo submetida a diferentes níveis de proteína e condições de estresse. Tese de doutorado. Botucatu: SP, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2015. 114p.
- 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-nylo (*Oreochromis niloticus*). R. Brasileira de Zootecnia, v. 34, n. 5, p.1433-1441, 2005.
- GADELHA, E. S.; ARAÚJO, J. C. Criação de Matrinxã em Cativeiro. PUBVET, Londrina, v. 7, n.5, ed. 228, art. 1507, Março, 2013.
- GONZÁLEZ, F.H.D. Uso de perfil metabólico para determinar o status nutricional em gado de corte. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; BARCELLOS, J.O; OSPINA, H.; RIBEIRO, L.A.O. (Eds). Perfil Metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre, Brasil, Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000.
- GOULART, F.R.; SPERONI, C.S.; LOVATTO, N. M.; LOUREIRO, B.B.; CORRÊIA, V.; NETO, J.R.; SILVA, L.P. Atividade de enzimas digestivas e parâmetros de crescimento de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com farelo de linhaça in natura e demucilada. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 34, n. 6, p. 3069-3080, nov./dez. 2013.
- GUEVARA, M. J. P. Metabolismo energético em híbrido de *Pseudoplatystoma reticulatum* X *Leiarius marmoratus*. Tese de doutorado. Minas Gerais: Universidade Federal de Lavras, 2014. 185p.
- HALVER, J. E.; R. W. HARDY. Nutrient Flow and Retention. In: J. E. HALVER, HARDY, R. W. (Ed.). Fish Nutrition. San Diego: Academic Press, p.755-770, 2002.
- HASEGAWA, M.Y.; FONTEQUE, J.H.; KOHAYAGAWA, A. et al. Avaliação do perfil eletroforético das proteínas séricas em matrizes pesadas (*Gallus Gallus domesticus*) da linhagem Avian Farm. Rev. Bras. Cienc. Avic., v.4, p.203- 207, 2002.
- HIGUCHI, L. H.; FEIDEN, A.; MALUF, M. L. F.; DALLAGNOL, J. M.; ZAMINHAN, M.; BOSCOLO, W.R. Avaliação eritrocitária e bioquímica de jundiás (*Rhamdia quelen*)

- submetidos à dieta com diferentes níveis protéicos e energéticos. *Ciência Animal Brasileira*, n.1, 2011.
- HOUSTON, A.H. Blood and circulation. In: SCHRECK, C.B. e MOYLE, P.B. (Eds.). *Methods for fish biology*. Maryland: American Fisheries Society, p. 273-334, 1990.
- INOUE, L. A. K. A.; SANTOS NETO, C.; MORAES, G. Óleo de cravo como anestésico para juvenis de matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 33, n. 5, p. 943-947, set./out. 2003.
- IZEL, A. C. U.; PEREIRA-FILHO, M.; MELO, L. A. S.; MACÊDO, J. L. V. Avaliação de níveis protéicos para a nutrição de juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*). *Acta Amazônica*, v.. 34, p. 179 – 184, 2004.
- IZEL, A.C.U.; PERIN, R.; MELO, L.A.S. Desempenho de matrinxã *Brycon cephalus* submetidos a dietas com diferentes níveis protéicos na Amazônia Central. *Anais da XXXII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*. Fortaleza. p.258-259, 1996.
- KAMPEN, E.; J. VAN; e ZIJLSTRA, W.G. Standardization of haemoglobin om e try. In: *Congress of the European Society of Haematology*, 9 Lisbon, 1963. *Proceedings*. Basel, S.Karger, . p.68-72, 1964.
- KAVITHA, C.; RAMESH, M.; KUMARAN, S.S.; LAKSHMI, S. A. Toxicity of Moringa oleifera seed extract on some hematological and biochemical profiles in a freshwater fish, *Cyprinus carpio*. *Experimental and Toxicologic Pathology*, Hannover, v.64, n.7-8, p.681-687, nov, 2012.
- KHALED, H. B.; GHORBEL-BELAAJ, O.; HMIDET, N.; JELLOULI, K.; ALI, N. E-L.; GHORBEL, S.; NASRI, M., 2011: A novel aspartic protease from the viscera of Sardinelle (*Sardinella 1495 aurita*): Purification and characterization. *Food Chem.* 128, 847-853.
- LALL, S.P.; ANDERSON, S. Amino acid nutrition of salmonids: Dietary requirements and bioavailability. *Cahiers Options Méditerranéennes*, Montpellier, v.63, p.73-90, 2005.
- LAZZARI, R. Estudos de enzimas digestivas, crescimento e composição centesimal de filés de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com diferentes fontes protéicas. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS, 2005. 83p.

- LAZZARI, R.; RADÜNZ NETO, J.; CORRÊIA, V.; ROSSATO, S.; FERREIRA, C. C.; SUTILI, F. J.; DUARTE, M. M. M. F. Hematologia de jundiás em resposta ao nível de proteína na dieta. *Ciência Animal Brasileira*. v.12, n.2, 2011.
- LEE, H.Y.M., CHO, K., LEE, J., YANG, S. Dietary protein requirement of juvenile giant croaker, *Nibea japonica* Temminck & Schlegel. *Aquaculture Research*. 32, 112–118, 2001.
- LIMA, M. A. C. Farelo de soja e farelo de castanha da Amazônia como substituto da proteína animal na dieta de juvenis de matrinxã: Aspectos zootécnicos, fisiológicos e econômicos. Dissertação de Mestrado. Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia – INPA e Universidade Federal do Amazonas – UFAM, Manaus, AM, 2009. 43p.
- MARIANO, W. S. Respostas fisiológicas e bioquímicas do jeju, *Hopleryrhinus unitaeniatus* (Characiformes, Erythrinidae) a exposição aérea. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, 2006.
- MELO, J. F. B.; LUNSTEDT, L. M.; MORAES, G.; INOUE, L. A. K. A. Effect of different concentrations of protein on the digestive system of juvenile silver catfish (jundiá). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 64, n.2, p. 450-457, 2012.
- MELO, J.F.B; LUNDSTEDT, L. M.; METÓN, I.; BAANANTE, I. V.; MORAES, G. Effects of dietary levels of protein on nitrogenous metabolism *Rhamdia quelen* (Teleostei:Pimelodidae). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, v. 145, p. 181-187, 2006.
- MUNILLA-MORAN, R.; SABORIDO-REY, F. Digestive Enzymes in Marine Species. II. Amylase Activities in Gut from Seabream (*Sparus aurata*), Turbot (*Scophthalmus maximus*) and Redfish (*Sebastes mentella*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 113(4): 827-834, 1996.
- National Research Council. Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. National Academies Press, Washington DC, USA, 2011.
- NELSON, D.L.; COX, M. M. Lehninger Princípios de Bioquímica. 3ªed. São Paulo: Sarvier, 2002. 975p.
- NELSON, D.L.; COX, M. M. Lehninger Princípios de Bioquímica. 4ªed. São Paulo: Sarvier, 2005. 1125p.

- OLIVEIRA, A. M.; SILVA, M. N. P.; ALMEIDA-VAL, V. M. F.; VAL, A. L. Caracterização da atividade de piscicultura nas mesoregiões do estado do Amazonas, Amazônia brasileira. *Revista Colombiana Ciência Animal*, v. 4, p.154-162, 2012.
- PÁDUA, S. B.; NETO, J. D.; SAKABE, R.; CLAUDIANO, G. S.; CHAGAS, E. C.; PILARSKI, F. Variáveis hematológicas em tambaquis anestesiados com óleo de cravo e benzocaína. *Pesquisa agropecuária brasileira*, Brasília, v.48, n.8, p.1171-1174, ago. 2013.
- PAVLIDIS, M.; FUTTER, W. C.; KATHARIOS, P.; DIVANACH, P. Blood cell profile of six Mediterranean mariculture fish species. *Journal of Applied Ichthyology*, Neu Wulmstorf, v. 23, n.1, p. 70-73, feb, 2007.
- PEREZ-CASANOVA, J.C.; MURRAY, H.M.; GALLANT, J. W.; ROSS, N. W.; DOUGLAS, S. E.; JOHNSON, S. C. Development of the digestive capacity in larvae of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) and Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture*, v. 251, n. 2-4, p. 377-401, 2006.
- PIZANGO-PAIMA, E. G.; PEREIRA-FILHO, M.; OLIVEIRA-PEREIRA, M.I. Composicao corporal e alimentar do matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869), na Amazonia Central. *Acta Amazônica*, v. 31, n. 3, p. 509-520, 2001.
- PORTZ, L.; FURUYA, W. M. Energia, Proteína e Aminoácidos. In.: FRACALOSSO, D. M.; CYRINO, J.E.P. Nutriaqua- Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira. Ministério da Pesca e Aquicultura, Florianópolis, p.65-78, 2012.
- RANZANI-PAIVA, M. J. T., FELIZARDO, N. N. e LUQUE, J. Parasitological and hematological analysis of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1757 from Guarapiranga reservoir, São Paulo State, Brazil. *Acta Scientiarum Biology Science*, Maringá, v. 27, n. 3, p. 231-237, 2005.
- RANZANI-PAIVA, M. J. T.; PÁDUA, S. B., TAVARES-DIAS, M.; EGAMI, M. I. Métodos para análise hematológica em peixes. Maringá: EdUEM, 2013.
- RANZANI-PAIVA, M. J. T.; SILVA-SOUZA, A. Hematologia de peixes Brasileiros In: RANZANI-PAIVA, M. J. T.; TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M.A.P. Sanidade de Organismos Aquáticos, Varela, São Paulo, p. 89-120, 2004.
- REIMER, G.. The influence of diet on the digestive enzyme of the Amazon fish matrinxã, *Brycon cf. melanopterus*. *Journal of Fish Biology*, v.21, p.637-642, 1982.

- RIBEIRO, P. A. P.; MELO, D. C.; COSTA, L. S.; TEIXEIRA, E. A. Manejo Nutricional e Alimentar de Peixes de Água Doce. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2012. 92p.
- RIBEIRO, P.A.P.; BRESSAN, M.C.; LOGATO, P.V.R.; GONÇALVES, A.C.S. Nutrição lipídica para peixes. Revista Eletrônica Nutritime, v.4, n° 2, p.436-455, Março/Abril 2007.
- ROJAS, G.; HACKBARTH, A.; INOUE, L. A. K. A.; SIMÕES, G. S.; MORAES, G. Respostas hematológicas e plasmáticas de matrinxãs *Brycon amazonicus* exercitados e submetidos ao transporte. In: 1o Congresso Brasileiro de Produção de Peixes Nativos de Água Doce, 2007, Dourados - MT.
- ROTTA, M. A. Aspectos Gerais da Fisiologia e Estrutura do Sistema Digestivo dos Peixes Relacionados à Piscicultura - Documentos 53. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), ISSN 1517-1973, Dezembro, 2003. 49p.
- SANTOS, F. W. B. Nutrição de peixes de água doce: definições, perspectivas e avanços científicos. Rio de Janeiro, Brasil – 2007.
- SARATH, G., DE LA MOTTE, R. S., WAGNER, F. W. Protease assay methods. In: Proetolitic enzymes, A practical approach. (Ed. By Beymon, R.J., and Bond, J.S.), 1989.
- SAS. Statistical Analysis System [CD-ROM]. SAS/STAT Software Version 9.2. Cary: SAS Institute Inc, 2008.
- SEBRAE - Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. Aquicultura no Brasil: série estudos mercadológicos, 2015. 76 p.
- SEIXAS, M. S. Uso do sistema de fluxo contínuo de água na recria de juvenis de matrinxã (*Brycon Amazonicus* SPIX E AGASSIZ,1829). Dissertação de Mestrado. Manaus: Universidade Federal do Amazonas. 2010.
- SEIXAS-FILHO, J. T. Revisão sobre as enzimas digestivas nos peixes teleósteos e seus métodos de determinação. Augustus, Rio de Janeiro, v.08, n. 17, Jul./Dez.2003.
- SILVA, A. S. E.; LIMA, J. T. A. X.; BLANCO, B. S. Hematologia em peixes. Revista Centauro, v.3, n.1, p. 24 - 32, 2012 .
- SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos, v.3, 2002.

- SILVA, S. A.A. Dieta natural de brycon sp. n. “cristalino”- matrinxã no parque estadual cristalino, Região norte de Mato Grosso, Brasil. Tese de Doutorado. São Paulo:Universidade Estadual Paulista – UNESP, Jaboticabal, 2007. 75f.
- SILVEIRA, U.S.; LOGATO, P.V.R; PONTES E.C. Utilização e metabolismo dos carboidratos em peixes. Revista Eletrônica Nutritime, v.6, nº 1, p.817-836, 2009.
- STECH, M.R.; CARNEIRO, D.J.; PIZAURO JUNIOR, J.M. Fatores que afetam a produção de enzimas digestivas em peixes e o uso de enzimas exógenas como ferramentas em nutrição de peixes. Ensaio e Ciência – Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde, n.13, 79–93, 2009.
- SUSSEL, F. R. Fontes e Níveis de Proteína na alimentação do lambari-do-rabo-amarelo: desempenho produtivo e análise econômica. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012. 105p.
- TAVARES-DIAS, M.; AFFONSO, E. G.; OLIVEIRA, S. R.; MARCON, J. L.; EGAMI, M. I.Comparative study on hematological parameters of farmed matrinxã, *Brycon amazonicus* Spix and Agassiz, 1829 (Characidae: Bryconinae) with others Bryconinae species. Acta Amazonica, vol.38 no.4, Manaus, dezembro, 2008.
- TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R. 2004. Hematologia de Peixes Teleosteos. 1 ed. Eletronica e Arte Final. Ribeirão Preto. 144 p.
- THRALL, M.A; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. Hematologia e bioquímica clinica veterinária. São Paulo: Roca, 2015, 1590p.
- VIEIRA, V. P.; INOUE, L. A.; MORAES, G. Metabolic responses of matrinxã (*Brycon cephalus*) to dietary protein level. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A 140, p. 337-342, 2005.
- VISENTAINEL, J.; NUNES, C. S. ; MORAES, G. Atividade proteolítica do suco digestivo em juvenis de pacu *Piaractus mesopotamicus*. In: 1º Congresso Brasileiro de Produção de Peixes Nativos de Água Doce 1º Encontro de Piscicultores de Mato Grosso do Sul, 2007, Dourados-MS. 1º Congresso Brasileiro de Produção de Peixes Nativos da Água Doce, 2007.
- XIONG, D.M.; XIE, C.X.; ZHANG, H.J. et al. Digestive enzymes along digestive tract of a carnivorous fish *Glyptosternum maculatum* (Sisoridae, Siluriformes). J. Anim. Physiol. Anim. Nutrit., v.95, p.56-64, 2011.

- YANG, M.; WANG, J.; HAN, T.; YANG, Y.; LI, X.; JIANG, Y. Dietary protein requirement of juvenile bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). *Aquaculture Research*, n. 459, p.191–197, 2016.
- ZAFER, A.; HUSEYIN, S.; TALIP, Ö; Abdullah, D., YILMAZ, E. Dietary protein requirement of juvenile shi drum, *Umbrina cirrosa* (L.). *Aquaculture Research* 43 (3), 421–429, 2012.
- ZANIBONI FILHO, E.; REYNALTE-TATAJE, D.; WEINGARTNER, M. Potencialidad del género *Brycon* en la piscicultura brasileña. *Rev. Col. Cienc. Pec.*, v.19, n.2, p.233-240, 2006.
- ZANIBONI-FILHO, E. *Biologia da reprodução do matrinxã, Brycon cephalus*(Gunther, 1869) (Teleostei, Characidae). Dissertação (Mestrado) – Instituto Nacional de Pesquisa da Amazonia, Manaus, 1985. 134p.