

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS (PIPGCF UFSCar – UNESP)**

CLEUJOSÍ DA SILVA NUNES

**CRESCIMENTO, HEMATOLOGIA E METABOLISMO DE PACU (*Piaractus
mesopotamicus*) SUBMETIDO AO EXERCÍCIO AERÓBICO E ALIMENTADO
COM NÍVEIS CRESCENTES DE PROTEÍNAS**

São Carlos-SP

2011

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FISIOLÓGICAS (PIPGCF UFSCar – UNESP)**

CLEUJOSÍ DA SILVA NUNES

**CRESCIMENTO, HEMATOLOGIA E METABOLISMO DE PACU (*Piaractus
mesopotamicus*) SUBMETIDO AO EXERCÍCIO AERÓBICO E ALIMENTADO
COM NÍVEIS CRESCENTES DE PROTEÍNAS**

Tese apresentada ao Programa de Interinstitucional de Pós-graduação e Ciências Fisiológicas (PIPGCF UFSCar-UNESP), como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Fisiológicas.

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Moraes

São Carlos-SP

2011

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

N972ch

Nunes, Cleujosí da Silva.

Crescimento, hematologia e metabolismo de pacu
(*Piaractus mesopotamicus*) submetido ao exercício aeróbico
e alimentado com níveis crescentes de proteínas / Cleujosí
da Silva Nunes. -- São Carlos : UFSCar, 2011.
144p.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos,
2011.

1. Peixe. 2. Adaptação metabólica. 3. Crescimento. 4.
Exercícios aeróbicos. 5. Nutrição. 6. Proteínas. I. Título.

CDD: 597 (20^a)

Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências
Fisiológicas
Associação Ampla UFSCar/UNESP

Folha de Aprovação

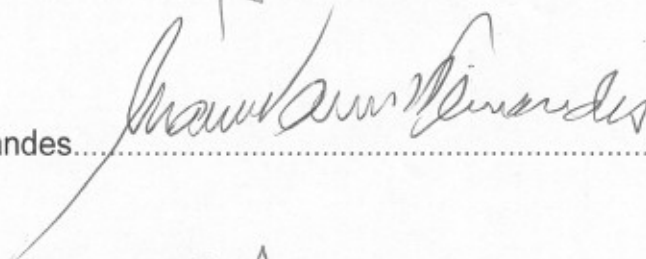
Defesa de Tese de Cleujosí da Silva Nunes

Dia 24/05/2011

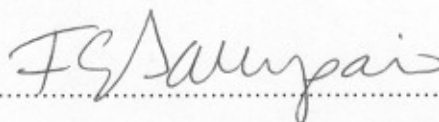
Prof. Dr. Gilberto Moraes



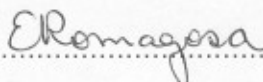
Prof^a. Dr^a. Marisa Narciso Fernandes.....



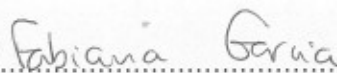
Prof^a. Dr^a. Fernanda Garcia Sampaio.....



Prof^a. Dr^a. Elisabeth Romagosa.....



Prof^a. Dr^a. Fabiana Garcia.....



DEDICATÓRIA

*Aos meus pais, José e Cleuza,
que sempre me incentivaram e
pelo exemplo de vida, respeito,
dedicação e doação.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus, o Todo Poderoso e Criador, pela minha vida.

Aos meus pais pelo amor, carinho e dedicação, pelo apoio e incentivo para realização dos meus dos objetivos, pela educação e formação do meu carácter.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Gilberto Moraes, pela competente orientação, lições de vida e pela experiência compartilhada.

Às Doutoras Elizabeth Romagosa, Fabiana Garcia, Fernanda Garcia Sampaio e Marisa Fernandes pelas valiosas sugestões e participação na banca examinadora.

Aos companheiros e colegas do Laboratório de Bioquímica Adaptativa, pela ajuda, carinho, amizade, troca de idéias e convívio; todos vocês foram importantes em minha vida.

Às minhas amigas Paula, Juliana Sá e Lívia pela preciosa amizade, companheiro, respeito, momentos de descontração e alegria.

Ao Sr. Toninho pela ajuda indispensável, respeito, profissionalismo, carinho e atenção.

À Piscicultura São Geraldo, Sertãozinho – SP, pela doação dos exemplares de pacus que foram utilizados no experimento.

Aos meus queridos professores da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – UEMS e das Escolas Roberto Scaff e Maria Correa Dias, pela minha formação.

A todas as pessoas de São Carlos – SP, Anastácio e Aquidauana – MS, as quais me auxiliaram na conclusão do meu trabalho e na minha vida pessoal.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pela bolsa concedida.

E a todos que não foram mencionados, mas contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

MUITO OBRIGADA

RESUMO - A dieta deve atender as necessidades de cada espécie. O conhecimento do teor de proteína adequado é fundamental, pois maximiza a eficiência da conversão alimentar, reduz os custos e a carga de nutrientes lançados para o ecossistema aquático. Sabe-se que o exercício aeróbico pode contribuir para a criação mais eficiente de peixes aumento as taxas de crescimento devido a aumento da eficiência alimentar, diminuição da dominância, aumento da síntese protéica e catabolismo lipídico e glicídico. No Brasil, o pacu, *Piaractus mesopotamicus*, destaca-se pela rusticidade, crescimento rápido, carne de excelente qualidade. Essa espécie pode responder ao exercício utilizando menores níveis de proteínas para o catabolismo e direcionando-as para o crescimento. Assim, uma dieta balanceada e o exercício aeróbico bem estabelecido poderiam promover maior crescimento para o pacu. Esse estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da associação de teores diferentes de proteína bruta da dieta e exercício aeróbico em pacu através das respostas de crescimento, índices hepatossomático e víscerosomático, variáveis hematológicas e metabólicas. O experimento obedeceu a um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 3, constituído de duas atividades natatórias (exercitado- E; não-exercitado- SE), e três níveis percentuais de proteína na dieta (24, 28 e 32). Os pacus exercitados e alimentados com 24 % proteína bruta (PB) apresentaram melhor crescimento. As variáveis hematológicas foram responsivas a condição nutricional e ao exercício. Quando comparados os pacus exercitados entre si, observou-se que os altos teores de PB na dieta aumentaram o catabolismo protéico e lipogênese no fígado e músculo branco e o catabolismo lipídico no músculo vermelho. Altos níveis de PB na dieta de pacus não-exercitados aumentaram o catabolismo protéico no músculo branco e a lipogênese no fígado. A atividade natatória sustentada aumentou o uso de glicogênio hepático em todos os níveis de proteína avaliados e o anabolismo protéico e lipogênese nos pacus que receberam o maior teor de proteína na dieta. Com base nas respostas obtidas neste estudo podemos inferir que para pacus exercitados, o nível adequado de proteína na dieta foi 24 % PB e que níveis acima promovem o uso da proteína como fonte energética.

Palavras-Chave: Adaptação metabólica, crescimento, exercício sustentado, nutrição, pacu, proteína.

ABSTRACT - The composition of the diet, the metabolic adaptations and variations in the activity of the fish are the main factors responsible for seasonal changes in physiological variables. It is known that aerobic exercise can improve the fish growth due to: the enhancement of feed conversion, reduced dominance, increased protein synthesis and lipid and glucose catabolism. The diet must satisfy the nutritional requirements of each species. Knowledge of the appropriate protein level is critical because maximizes feed conversion efficiency, lowers costs and reduces the load of nutrients released to the aquatic ecosystem. In Brazil, the pacu, *Piaractus mesopotamicus*, is an important fish in aquaculture, especially for hardiness, fast growth, excellent meat quality. This species may respond to exercise with lower levels of protein catabolism and for directing them to growth. Thus, a balanced diet and a well established aerobic exercise protocol could promote better growth for pacu. This study aimed to evaluate the effects of the combination of different levels of crude protein in the diet and sustained exercise in pacu through growth performance, hepatosomatic and viscerosomatic indexes, metabolic and hematological parameters. The experiment followed a completely randomized 2 x 3 factorial arrangement, consisting of two swimming activities (exercised-E, non-exercising) and three levels of dietary protein percentage (24, 28 and 32). The pacu exercised and fed 24 % crude protein (CP) showed better growth. The hematologic variables were responsive to nutritional status and exercise. When comparing the exercised groups all together, it was observed that the high levels of CP in the diet increased protein catabolism and lipogenesis in the liver and white muscle and lipid catabolism in red muscle. High levels of CP in the diet of non-exercised pacu increased protein catabolism in white muscle and lipogenesis in the liver. Sustained swimming activity increased the use of liver glycogen at all levels of protein studied, and protein anabolism and lipogenesis in pacu fed higher-protein diet. Based on the responses obtained in this study we can infer that for exercised pacu, the appropriate level of protein in the diet is 24 % of crude protein and levels above that promote the use of protein as an energy source.

Keywords: growth, metabolic adaptation, nutrition, pacu, protein, sustained exercise.

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1. Esquema morfológico de tecido muscular vermelho e branco de três espécies de peixes.....	32
Figura 2. Esquema do sistema de exercício do laboratório de Bioquímica Adaptativa da UFSCar (São Carlos, SP).....	57

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1. Composição bromatológica das dietas experimentais.....	56
Tabela 2. Desempenho produtivo de <i>P. mesopotamicus</i> não-exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína bruta.....	67
Tabela 3. Índices hepatosomático e viscerosomático de <i>P. mesopotamicus</i> não-exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína bruta.....	68
Tabela 4. Respostas hematológicas de <i>P. mesopotamicus</i> não-exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína bruta.....	68
Tabela 5. Respostas metabólicas plasmáticas de <i>P. mesopotamicus</i> não exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína bruta.....	69
Tabela 6. Respostas metabólicas hepáticas de <i>P. mesopotamicus</i> não-exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína bruta.....	69
Tabela 7. Respostas metabólicas no músculo branco e vermelho de <i>P. mesopotamicus</i> não-exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína.....	70
Tabela 8. Atividades enzimáticas no fígado, músculo branco e vermelho de <i>P. mesopotamicus</i> não-exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína.....	71
Tabela 9. Desempenho produtivo de <i>P. mesopotamicus</i> exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína bruta.....	72
Tabela 10. Índices hepatosomático e viscerosomático de <i>P. mesopotamicus</i> exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína bruta.....	72
Tabela 11. Respostas hematológicas de <i>P. mesopotamicus</i> exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína bruta.....	73
Tabela 12. Respostas metabólicas plasmáticas de <i>P. mesopotamicus</i> exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína bruta.....	74
Tabela 13. Respostas metabólicas hepáticas de <i>P. mesopotamicus</i> exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína bruta.....	74
Tabela 14. Respostas metabólicas no músculo branco e vermelho de <i>P. mesopotamicus</i> exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína bruta.....	75
Tabela 15. Atividades enzimáticas no fígado, músculo branco e vermelho de <i>P.</i>	

<i>mesopotamicus</i> exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína bruta.....	76
Tabela 16. Desempenho produtivo de pacus exercitados e não-exercitados e alimentados com 24 % de PB.....	77
Tabela 17. Índices hepatossomático e viscerossomático de pacus exercitados e não-exercitados e alimentados com 24 % de PB.....	77
Tabela 18. Respostas hematológicas de <i>P. mesopotamicus</i> exercitados e não-exercitados alimentados com 24 % PB.....	78
Tabela 19. Respostas metabólicas plasmáticas de <i>P. mesopotamicus</i> exercitados e não-exercitados e alimentados com 24 % PB.....	78
Tabela 20. Respostas metabólicas hepáticas de <i>P. mesopotamicus</i> exercitados e não-exercitados e alimentados com 24 % PB.....	79
Tabela 21. Respostas metabólicas no músculo branco e vermelho de <i>P. mesopotamicus</i> exercitados e não-exercitados e alimentados com 24 % PB.....	80
Tabela 22. Atividades enzimáticas no fígado, músculo branco e vermelho de <i>P. mesopotamicus</i> exercitados e não-exercitados e alimentados com 24 % PB.....	81
Tabela 23. Desempenho produtivo de pacus exercitados e não-exercitados e alimentados com 28 % de PB.....	81
Tabela 24. Índices hepatossomático e viscerossomático de pacus exercitados e não-exercitados e alimentados com 28 % de PB.....	82
Tabela 25. Respostas hematológicas de <i>P. mesopotamicus</i> exercitados e não-exercitados alimentados com 28 % PB.....	82
Tabela 26. Respostas metabólicas plasmáticas de <i>P. mesopotamicus</i> exercitados e não-exercitados e alimentados com 28 % PB.....	83
Tabela 27. Respostas metabólicas hepáticas de <i>P. mesopotamicus</i> exercitados e não-exercitados e alimentados com 28 % PB.....	83
Tabela 28. Respostas metabólicas no músculo branco e vermelho de <i>P. mesopotamicus</i> exercitados e não-exercitados e alimentados com 28 % PB.....	84
Tabela 29. Respostas enzimáticas no fígado, músculo branco e vermelho de <i>P. mesopotamicus</i> exercitados e não-exercitados e alimentados com 28 % PB.....	85
Tabela 30. Desempenho produtivo de pacus exercitados e não-exercitados e alimentados com 32 % de PB.....	85
Tabela 31. Índices hepatossomático e viscerossomático de pacus exercitados e não-exercitados e alimentados com 32 % de PB.....	86

Tabela 32. Respostas hematológicas de <i>P. mesopotamicus</i> exercitados e não-exercitados alimentados com 32 % PB.....	86
Tabela 33. Respostas metabólicas plasmáticas de <i>P. mesopotamicus</i> exercitados e não-exercitados e alimentados com 32 % PB.....	86
Tabela 34. Respostas metabólicas hepáticas de <i>P. mesopotamicus</i> exercitados e não-exercitados e alimentados com 32 % PB.....	87
Tabela 35. Respostas metabólicas no músculo branco e vermelho de <i>P. mesopotamicus</i> exercitados e não-exercitados e alimentados com 32 % PB.....	87
Tabela 36. Atividades enzimáticas no fígado, músculo branco e vermelho de <i>P. mesopotamicus</i> exercitados e não-exercitados e alimentados com 32 % PB.....	88

SÚMARIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1. Crescimento.....	17
2.2. Nutrição de peixes.....	18
2.3. Nutrientes.....	19
2.3.1. Proteína	19
2.3.2. Carboidratos	24
2.3.3. Lipídeos	26
2.4. O exercício.....	27
2.4.1. Exercício explosivo ou de exaustão.....	29
2.4.2. Exercício prolongado ou natação aeróbica máxima	30
2.4.3. Exercício aeróbico de longa duração ou exercício sustentado....	30
2.4.3.1. Exercício aeróbico e comportamento.....	34
2.4.3.2. Exercício e o desempenho produtivo.....	36
2.4.3.3. Hematologia.....	40
2.4.3.4. Exercício e o metabolismo.....	42
2.5. O pacu.....	49
3. JUSTIFICATIVA.....	53
3.1. Hipóteses	53
3.2. Estratégia experimental.....	53
3.3. Objetivos	54
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	55
4.1. Dietas experimentais.....	55
4.2. Desenho experimental.....	56
4.3. Procedimentos analíticos	58

4.4.	Variáveis de desempenho produtivo.....	58
4.5.	Índice hepatosomático e viscerosomático.....	59
4.6.	Variáveis hematológicas	59
4.6.1.	Hematócrito (Ht).....	59
4.6.2.	Hemoglobina (Hb).....	59
4.6.3.	Contagem de eritrócitos (RBC).....	60
4.6.4.	Índices hematimétricos	60
4.7.	Intermediários metabólicos e enzimas.....	60
4.7.1.	Preparação dos extratos ácidos e neutros.....	60
4.8.	Metabolismo intermediário	61
4.8.1.	Glicogênio	61
4.8.2.	Glicose	61
4.8.3.	Lactato.....	61
4.8.4.	Piruvato	62
4.8.5.	Proteína total	62
4.8.6.	Aminoácidos livres	62
4.8.7.	Amônia	63
4.8.8.	Triacilgliceróis	63
4.8.9.	Ácidos graxos livres	63
4.9.	Enzima do metabolismo intermediário	64
4.9.1.	Lactato desidrogenase (LDH).....	64
4.9.2.	Alanina aminotransferase (ALAT).....	64
4.9.3.	Aspartato aminotransferase (ASAT).....	65
4.9.4.	Malato desidrogenase (MDH).....	65
4.10.	Delineamento experimental e análises estatísticas.....	65
5.	RESULTADOS	67
5.1.	Efeitos dos níveis de proteína da dieta em pacus não-exercitados.....	67

5.2. Efeitos dos níveis de proteína da dieta em pacus exercitados	71
5.3. Efeitos da atividade natatória aeróbica em pacus alimentados com mesmos níveis de proteína na dieta.....	76
6. DISCUSSÃO	89
6.1. Efeitos dos níveis de proteína bruta da dieta em pacus não- exercitados.....	89
6.1.1. Desempenho produtivo.....	89
6.1.2. Índices hepatossomático e viscerossomático dos pacus não- exercitados.....	90
6.1.3. Hematologia.....	91
6.1.4. Metabolismo	92
6.2. Efeitos dos níveis de proteína da dieta em pacus em atividade natatória	96
6.2.1. Desempenho produtivo	96
6.2.2. Índices hepatossomático e viscerossomático de pacus exercitados....	100
6.2.3. Hematologia	101
6.2.4. Metabolismo	103
6.3. Efeito da atividade natatória aeróbica em pacus alimentados com mesmos níveis de PB na dieta.....	111
6.3.1. Desempenho produtivo.....	111
6.3.2. Hematologia	113
6.3.3. Metabolismo	115
7. CONCLUSÕES	123
8. REFERÊNCIAS	124

1. INTRODUÇÃO

O potencial do Brasil para o desenvolvimento da aquicultura é imenso, pois o país conta com 8,5 mil km de costa marítima e 5,5 milhões de hectares de reservatórios de água doce, o que equivale à aproximadamente 12 % da água doce disponível no planeta. Além disso, o país conta com clima extremamente favorável para o crescimento dos organismos aquáticos de criação, terras disponíveis, mão-de-obra abundante e crescente demanda por pescado no mercado interno (AQUAFAIR, 2010).

Atualmente o Brasil produz aproximadamente 1,25 milhões de toneladas de pescado, sendo 38 % de criação comercial. A atividade gera PIB pesqueiro de R\$ 5 bilhões, mobiliza 800 mil profissionais entre pescadores e aquicultores e proporciona 3,5 milhões de empregos diretos e indiretos (MPA, 2010).

Segundo levantamento estatístico divulgado pelo MPA (Ministério da Pesca e Aquicultura) em 2010, a aquicultura apresentou significativo crescimento nos últimos anos, passando de 278 mil toneladas em 2003 para 415 mil em 2009, o que equivale a 35 % de incremento em menos de uma década. A produção da piscicultura atingiu 60,2 % de crescimento entre 2007 e 2009. Em conjunto, a aquicultura cresceu 43,8 %, entre 2007 e 2009, tornando a produção de pescado a que mais cresceu no mercado nacional de carnes no período. Nos parques aquícolas continentais, os peixes preferidos são a tilápia, o pacu, o tambaqui e a pirapitinga (MPA, 2010).

Segundo o Ministério da Pesca e Aquicultura a expectativa até 2011 é de que a produção total de pescado atinja a meta de 1,43 milhão de toneladas. De acordo com essas projeções, a aquicultura responderá por cerca de 570 mil toneladas/ano e a pesca extrativa (marítima e continental) com cerca de 860 mil toneladas/ano (MPA, 2010).

O Brasil possui grande número de espécies com potencial de produção em cativeiro e pelo menos 25 delas são criadas comercialmente. No entanto, os dados do IBAMA mostram que a produção se concentra em três grupos: (1) tilápias, com 47,7 % do total; (2) peixes redondos, como pacu, tambaqui e híbridos, com 28 %; (3) carpas, com 18,4 %. Outras quatro espécies aparecem de forma menos

expressiva, mas como destaques regionais, entre elas estão o piau, no Centro-Oeste, o matrinxã, no Norte, o curimatá (curimatã), no Nordeste e a truta, no Sudeste e no Sul (ANUALPEC, 2010).

Nos sistemas de criação de peixes, a alimentação representa mais da metade dos custos de produção (KUBITZA, 1998). Isto faz com que vários estudos sejam direcionados à otimização das condições de criação e sua viabilização econômica, de forma que se obtenha um produto final de alta qualidade e de baixo custo para o consumidor (FURUYA, 2001). Dentre os nutrientes que compõem a dieta, a proteína é o ingrediente mais custoso da ração.

Sabe-se que o exercício aeróbico na criação de peixes pode contribuir significativamente para aumentar o crescimento. Isto se deve à diminuição do efeito do comportamento de dominância, à melhora da conversão alimentar, ao aumento da síntese protéica, aumento do catabolismo lipídico e glicídico e ao aproveitamento metabólico dos nutrientes ofertados (JOBILING, 1993; YOUNG & CECH Jr., 1994; JOBLING, 1994; DAVISON, 1997; SHANGAVI & WEBER, 1999; YOGATA & OKU, 2000; AZUMA et al., 2002; BUGEON et al., 2003; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007; FABRIZZI, 2010; HACKBARTH, 2010). Todavia, não existem, até o presente, dados que relacionam teores de proteína na dieta e exercício aeróbico (ou sustentado) de longa duração para pacu. Em vista disso, a aplicação desta prática de manejo no processo de criação de peixes pode contribuir para a diminuição dos custos da produção, maximizando a utilização dos nutrientes em favor do crescimento a partir do uso das fontes não-nitrogenadas para a demanda energética, poupando assim a proteína para esse fim e direcionando-a para síntese de massa muscular e, conseqüentemente, maior crescimento; além de trazer melhorias para o comportamento dos peixes, diminuindo a dominância e reduzindo o estresse. A combinação dos dois fatores (níveis de proteína na dieta e exercício aeróbico de longa duração) pode promover mudanças adaptativas metabólicas e fisiológicas capazes de beneficiar a saúde e o desempenho produtivo dos peixes, poupando proteína para o crescimento e utilizando os outros nutrientes não-nitrogenados para a demanda metabólica. Desta forma, poderemos esclarecer e fornecer subsídios sobre os mecanismos de utilização dos nutrientes e a dinâmica metabólica de peixes exercitados e em diferentes condições nutricionais, elegendo o melhor nível de proteína para pacus exercitados. Futuramente, os dados aqui fornecidos poderão servir de base para novos estudos e aperfeiçoamento de novas

técnicas de manejo operacional e alimentar aplicáveis à piscicultura brasileira, trazendo maior produtividade, economia e bem-estar animal.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Crescimento

O crescimento pode ser definido como o aumento de tamanho (largura, altura e comprimento de massa corporal). Assim sendo, deve-se considerar o crescimento como aumento na massa dos tecidos estruturais e órgãos, acompanhado por mudança na forma ou composição resultante do crescimento diferencial das partes que compõem o corpo do indivíduo (ELIAS, 1998). Na produção de peixes o maior rendimento de filé é o objetivo comum tanto da indústria processadora de pescado como, da aqüicultura. Esses setores estão interessados em maximizar seus sistemas de produção para um produto de ótima qualidade e com retorno econômico atraente (SHEARER, 1994). Para esses setores, o conceito de crescimento é definido como a deposição de proteína, isto é, aumento de massa protéica em intervalo de tempo dado em função da quantidade e qualidade do alimento assimilado pelo peixe. Para que isso ocorra, o crescimento demanda energia e representa grande porção da energia total consumida pelo animal (JOBILING, 1985; WIESER, 1994, ARAUJO-LIMA & GOULDING, 1998).

O crescimento dos peixes depende de fatores, como o potencial genético, razão pela qual algumas espécies crescem mais que outras. Porém, pode-se aumentar o crescimento dos peixes desde que as condições de criação sejam adequadas. Esta condição compreende a densidade de estocagem adequada, a alimentação adequada e quantidade correta, temperatura adequada da água, qualidade de água, bom sistema de prevenção de doenças e outras condições do manejo em geral (CECCARELLI et al., 2000).

A alimentação é fundamental para o crescimento dos peixes e deve suprir as necessidades nutricionais do animal para que se obtenha ganho satisfatório de biomassa (KUBITZA, 1997). A alta exigência em proteína nas fases iniciais de crescimento é devido ao aumento expressivo na taxa de síntese protéica na maior parte dos tecidos corporais e também por causa de seu alto “turnover” metabólico (WEATHERLEY & GILL, 1989; HOULIHAN et al., 1995). O “turnover” metabólico é a contínua quebra e reposição de proteínas e providencia o fluxo necessário para a regulação e adaptação metabólica.

A deposição de proteína é a diferença entre as taxas intracelulares de síntese e degradação protéica. No início do desenvolvimento, a taxa anabólica é bem maior que a taxa catabólica e há crescimento do tecido muscular. Porém, à medida que o peixe se torna adulto, a razão entre o processo anabólico e catabólico tende a diminuir e o tecido pára de crescer (PEARSON & YOUNG, 1989). A síntese de proteína é o processo central no crescimento de larvas e peixes jovens, mas tem grande impacto devido a seu alto custo energético que pode representar mais de 40% da energia ingerida pelo organismo (PEDERSEN, 1997; CONCEIÇÃO et al., 1997; CONCEIÇÃO et al., 1998).

Em algumas espécies de animais, como os peixes, o crescimento do tecido muscular estriado, no período pós-embrionário, ocorre pela hipertrofia das fibras e aumento do número de fibras (hiperplasia). No entanto, no período pós-natal, ocorre predominantemente por hipertrofia das fibras musculares (GOLDSPINK, 1972; DAL PAI-SILVA et al, 2005).

O músculo estriado possui alta plasticidade, podendo alterar suas características morfológicas, metabólicas e funcionais, em resposta a mudanças na atividade neuromuscular. Os fatores que modulam estas respostas estão na dependência do estado nutricional, idade, programas de treinamento de natação forçada ou condições patológicas do animal. Essas adaptações qualitativas e quantitativas podem alterar as propriedades fisiológicas do músculo para satisfazer melhor a nova demanda funcional (DAL PAI-SILVA et al., 2005). A hipertrofia muscular pode ocorrer fisiologicamente como resposta ao aumento da duração e intensidade do exercício natatório, ou pode ser induzida pela ação de hormônios de crescimento (WEATHERLEY & GILL, 1989).

2.2. Nutrição de peixes

A nutrição de peixes é um ramo da fisiologia que se destina amplamente ao estabelecimento da relação entre a dieta e o crescimento, à comparação entre possíveis ingredientes alimentares e à determinação das exigências nutricionais. Têm-se dado bastante ênfase à composição do alimento e à avaliação adequada do significado das respostas obtidas, pois a nutrição fornece matérias-primas para a manutenção da vida (metabolismo) (CARTER et al., 2001).

A qualidade nutricional da dieta é importante para a criação de peixes e pode determinar em grande parte o seu sucesso. Atualmente, o estudo de nutrição de peixes tem o papel de reconhecer e entender a inter-relação entre os níveis dos nutrientes da dieta, digestibilidade, absorção dos nutrientes, crescimento, reprodução e saúde dos animais utilizados na aquicultura (HALVER, 2001). Segundo Fillips (1969), o valor nutricional da dieta é avaliado, primeiramente, pela presença dos elementos necessários e catalíticos (minerais e vitaminas), pelo abundante suprimento em alimentos auxiliares (água e oxigênio) e pelo balanço adequado de alimentos energéticos e construtores (carboidratos, lipídeos e proteínas). A supressão de qualquer nutriente exigido pelo peixe reduzirá o crescimento, aumentará a conversão alimentar e poderá causar doenças e mortalidade aos animais (HEPHER et al., 1989).

A nutrição de peixes encontra-se longe de estabelecer padrões de exigências, que possam ser utilizados pelos nutricionistas de forma padronizada. Entre os fatores que contribuem para tal estagnação, destaca-se o fato de que os peixes, por serem animais aquáticos, apresentam dependência direta e indireta do meio onde vivem, estando sujeitos a condições ambientais de difícil manipulação, se comparados com os demais animais terrestres (PEZZATO et al., 2004).

Os estudos nutricionais têm demonstrado que a dieta influencia o comportamento, a integridade estrutural, a saúde, as funções fisiológicas, a reprodução e o crescimento dos peixes. Portanto, a determinação das necessidades qualitativas e quantitativas dos nutrientes essenciais na dieta é de fundamental para a adequada formulação de rações para peixes (PEZZATO et al., 2004).

2.3. Nutrientes

2.3.1. Proteína

As proteínas são polímeros de α -aminoácidos e correspondem ao nutriente da dieta de máxima importância para o desenvolvimento dos peixes. Desempenham variedade de funções dinâmicas e estruturais essenciais ao organismo como: transporte (hemoglobina e transferrina), controle metabólico (hormônios), contração (miosina e actina), catálise de transformações químicas (enzimas), papel protetor do organismo contra infecções bacterianas e virais

(imunoglobulinas e interferon) e desenvolvimento da matriz óssea e tecido conjuntivo (colágeno e elastina) (DEVLIN, 1998). O perfil de aminoácidos presentes nas proteínas é fundamental para a qualidade da proteína e determina seu valor como componente da dieta (PEZZATO et al., 2004).

Os peixes são considerados melhores conversores de proteína alimentar em energia comparada com os vertebrados terrestres (KAUSHIK & SEILIEZ, 2010). A inclusão de proteína na dieta pode chegar a valores muito altos, dependendo da espécie de peixe e a fase do desenvolvimento. Tacon (1987) relata que os níveis de proteína variam de 42% para os alevinos e 35% para o crescimento de adultos para espécies de peixes onívoros. Diversos autores confirmam que os peixes exigem maior nível de proteína na dieta comparado aos vertebrados terrestres de criação (COWEY & LUQUET, 1983; BOWEN, 1987; COWEY, 1994, 1995). Geralmente, as rações para peixes contêm entre 24 a 50 % de proteína bruta (PB), em função da fase de desenvolvimento, do ambiente e da espécie. As dietas de animais de produção como, frangos e suínos, contêm de 18 a 23 %, ou de 14 a 16 % de PB, respectivamente (PEZZATO et al., 2004). Kaushik & Seiliez (2010) complementam que os peixes têm alta necessidade aparente de proteína e necessidade de energia basal inferiores aos de animais terrestres, devido ao modo de vida aquático: pecilotérmico e amoniotélico. Segundo Loures & Lima (2001) os peixes são vertebrados aquáticos pecilotérmicos, ou seja, possuem a capacidade de variar a sua temperatura corporal, de acordo com a do meio ambiente. Sendo assim, Pezzato et al. (2004) complementam que os peixes têm facilidade para utilizar a proteína como fonte energética, visto que apresentam menor consumo energético, principalmente pelo fato de não precisarem regular a temperatura corpórea, como no caso de aves e mamíferos. Além disso, os peixes são capazes de utilizar mais eficientemente a proteína como fonte de energia, uma vez que a excreção dos subprodutos de metabolização dos aminoácidos (íon amônio – NH_4^+ ou amônia não-ionizada – NH_3) é feita passivamente nas brânquias, com custo energético reduzido.

Assim sendo, o conhecimento da exigência de proteína para cada espécie de peixe durante o período de crescimento é fundamental para o manejo de criação, levando assim, a maior eficiência de conversão alimentar, redução de custos e redução de carga de nutrientes para o ecossistema aquático. Portanto, a dieta para peixe deve ser cuidadosamente formulada para atender as necessidades do organismo em criação (ABDEL-TAWWAB & AHMAD, 2009). Entretanto, faz-se

necessário a compreensão completa da base fisiológica para as exigências e exploração eficiente das fontes disponíveis de proteína para satisfazer essas necessidades (KAUSHIK & SEILIEZ, 2010). Neste contexto, o estudo do metabolismo intermediário junto com outras variáveis pode ser um indicador do estado fisiológico e nutricional dos peixes.

A proteína consumida na dieta dos peixes pode ser utilizada em duas rotas metabólicas: 1) via catabólica, produzindo energia para manutenção e 2) via anabólica, principalmente, para síntese de proteínas, onde a composição de aminoácidos da dieta é fundamental (HEPHER et al., 1989). Como o excesso de proteína não pode ser estocado, normalmente, os excedentes são direcionados para vias catabólicas e os aminoácidos, desaminados ou descarboxilados, os quais são utilizados como fonte de energia, no lugar dos carboidratos e lipídios (DE SILVA & ANDERSON, 1995). Os autores ressaltam ainda que a quantidade de proteína consumida pelos peixes, através da dieta, afeta diretamente seu estado metabólico. Sendo assim, altos níveis de proteína resultam em aumento nas concentrações de aminoácidos livres circulantes, da excreção de amônia, da síntese protéica, da atividade das enzimas gliconeogênicas e declínio da atividade das enzimas glicolíticas.

De modo geral, os peixes tendem a oxidar aminoácidos mais eficientemente, transformando-os em glicose, preferencialmente. Isso ocorre porque a utilização de proteínas como fonte de energia é vantajosa, do ponto de vista nutricional, para os peixes, visto que produzem mais energia livre com o mesmo equivalente em peso quando comparada ao catabolismo de carboidratos (LOVELL, 1989).

Segundo Halver & Hardy (2002), a facilidade dos peixes em promover o catabolismo de proteína para fins energéticos, está na possibilidade de excreção direta de amônia como produto final do metabolismo de nitrogênio. Desta forma, não ocorre gasto energético para sua eliminação na forma de produto menos tóxico, diferentemente de outros animais de produção. Além disso, a oxidação direta de aminoácidos evita o gasto energético da síntese de moléculas de estoque como glicogênio ou lipídio, para subsequente utilização. Também, o ambiente aquático apresenta escassez de carboidratos, e dessa forma, os sistemas digestório e metabólico dos peixes parecem estar mais bem adaptados à utilização de proteínas como recurso energético (LOVELL, 1989).

As proteínas seriam mais eficientes, do ponto de vista econômico, se fossem destinadas somente para o crescimento, para o qual são essenciais, enquanto as fontes não protéicas, mais baratas, como carboidratos e lipídeos, seriam utilizados como energia (HEPHER et al., 1989), poupando proteínas da dieta (CHOU et al., 2001). Todavia, acredita-se que os peixes apresentem preferência pelas proteínas, e a quantidade de aminoácidos requerida está relacionada diretamente ao seu estado nutricional, variando de acordo com a espécie (MOYES & WEST, 1995). Um dos objetivos dos estudos em nutrição é a busca pelo menor valor de proteína necessária, pois seu excesso na dieta diminui o desempenho, aumenta o custo de produção e deteriora a qualidade da água (KIM & LEE, 2005). Quando o peixe é alimentado com quantidades elevadas de proteína, o excedente é utilizado tanto para crescimento como para a gliconeogênese, como é o caso do jundiá, *Rhamdia quelen* (MELO et al., 2006), entretanto, a conversão de glicose via compostos nitrogenados pode ser diminuída, pois poderia ser mantida por carboidratos e lipídeos. O excesso de proteína também pode ser armazenado como gordura após deaminação ou mesmo ser usado como fonte de energia. Sendo assim, torna-se necessário determinar a concentração de proteínas adequada para cada espécie, já que pouca proteína poderia causar prejuízos metabólicos e de crescimento, e seu excesso poderia levar a excreção desnecessária de compostos nitrogenados.

As taxas de síntese protéica são altas no fígado, que é extremamente sensível a qualquer variação na dieta (CARTER & HOULIHAN, 2001). Ele é responsável pela manutenção do “pool” de aminoácidos corpóreo (LOVELL, 1998), desempenhando papel fundamental no metabolismo e na regulação do transporte desses aminoácidos para os tecidos (CARTER et al., 2001). Somado a isso, o fígado representa o principal sítio de produção de amônia do organismo (ALEXIS & PAPARASKEVA-PAPOUTSOGLU, 1986).

Os aminoácidos, oriundos da dieta ou da quebra de proteínas, desempenham numerosas funções em peixes, como a construção de blocos de proteínas no organismo (BALLANTYNE, 2001). Além disso, os aminoácidos são necessários para a síntese de outros compostos associados com o metabolismo incluindo hormônios, neurotransmissores, purinas e enzimas metabólicas. Podem ainda ser catabolizados para suprir a demanda energética metabólica. Os aminoácidos para este propósito são provenientes da dieta e o seu “turnover” nos

tecidos ocorre constantemente (HALVER & HARDY, 2002). O principal produto final do catabolismo de proteínas em teleósteos é a amônia e uma proporção significativa de perda nitrogenada é também excretada como uréia (WOOD et al., 1995). Assim, medidas da excreção de amônia e uréia tem sido usadas como indicadores dos efeitos de fatores ambientais e nutricionais no metabolismo protéico e pode indicar o balanço de nitrogênio do peixe (RYCHLY & MARINA, 1977; JOBLING, 1981; BEAMISH & THOMAS, 1984; PEREIRA et al., 1995). O aumento da excreção de nitrogênio é uma consequência da utilização de aminoácidos como compostos energéticos (HIDALGO & ALLIOT, 1988; KIM et al., 1991). Estudos comprovaram que existe uma relação direta entre a ingestão de proteína e a excreção de amônia nos peixes (LI & LOWELL, 1992; CHAKRABORTY & CHAKRABORTY, 1998; YANG et al., 2002; ENGIN & CARTER, 2001; PERES & OLIVA-TELES, 2001; MELO et al., 2006; ABDEL-TAWWAB et al., 2010). De acordo com Van Waarde et al. (1983), o aumento do catabolismo de proteínas tem, como consequência, aumento nos teores de amônia plasmática. Em condições normais, o excesso de amônia produzido pelo catabolismo de proteínas é prontamente excretado pelas brânquias. O músculo branco desempenha papel de destaque no metabolismo de proteínas, pois apresenta a maior quantidade relativa de aminoácidos essenciais do organismo e representa o maior volume de massa corpórea (CARTER & HOULIHAN, 2001).

Quando em excesso, os aminoácidos são desaminados e os resíduos de carbono são oxidados ou convertidos em lipídeos, carboidratos ou ainda outros compostos. O grupamento amino é removido dos aminoácidos principalmente por transaminação ou por desaminação oxidativa. A transaminação parece ser a principal rota inicial para desaminação em peixes, envolvendo a transferência da amônia do grupo amino para um α -cetoácido, usualmente α -cetogluturato. O cetoácido formado na transaminação inicial pode ser oxidado, convertido a lipídeo ou ainda ser usado na síntese de outros compostos (LOVELL, 1998).

A expressão de enzimas chaves do metabolismo intermediário é também modulada pelo estado nutricional dos peixes (METÓN et al., 1999, 2003). Os níveis de aminoácidos de metabolização de enzimas e excreção de nitrogênio são indicadores confiáveis de disponibilidade de proteína na dieta. As atividades da transaminases e desaminases são úteis para avaliar o estado de alimentação (ALEXIS & PAPAPARASKEVA-PAPOUTSOGLU, 1986; MOYANO et al., 1991; MELO et al., 2006). As enzimas envolvidas neste processo são a alanina

aminotransferase (ALAT) e a aspartato aminotransferase (ASAT). Segundo Walton & Cowey (1989), a ALAT e a ASAT são as mais importantes transaminases quantitativas envolvidas neste processo. Segundo os autores, os níveis destas enzimas têm sido estudados em algumas espécies de peixes levando em conta relação à composição da dieta.

Segundo Melo (2004), as quantificações da atividade das enzimas chaves no controle de diferentes rotas metabólicas contribuem para estabelecer as situações específicas das vias metabólicas e, assim, inferir sobre o aproveitamento dos nutrientes das dietas. Além disso, é possível verificar as possíveis situações metabólicas indesejáveis, como por exemplo, a utilização de proteína para a obtenção de energia. Estudos mostram a estreita relação entre as atividades enzimáticas do metabolismo energético e protéico em relação ao estado nutricional (BAANANTE et al., 1991; BONAMUSA et al. 1992; MOON & FOSTER, 1995).

2.3.2. Carboidratos

Os carboidratos são as moléculas orgânicas mais abundantes na natureza. Possuem grande variedade de funções, que incluem o fornecimento de fração significativa de energia na dieta da maioria dos organismos e a atuação como forma de armazenamento de energia no corpo e na membrana celular, mediando formas de comunicação intercelular (CHAMPE et al., 2009)

Os carboidratos são essenciais para o metabolismo da maioria dos organismos, sendo a forma de energia metabólica imediata e de baixo custo. Porém, sua utilização pelos peixes é variável. Em diferentes espécies de peixes, os carboidratos não têm a mesma relevância apresentada no metabolismo de mamíferos, não sendo considerada a fonte preferencial de energia (WEATHERLEY & GILL, 1987).

A glicólise, como uma das principais vias de utilização de glicose, foi descrita em peixes por Fideu et al. (1983), que observaram o aumento na atividade das enzimas da via glicolítica em *Onchorhynchus mykiss* alimentadas com dietas contendo altos níveis de carboidratos. A glicose pode ser utilizada como substrato para produzir energia, incorporando-a em moléculas como o ATP.

No metabolismo de carboidratos, o fígado funciona como regulador da glicemia. Esse órgão produz glicose a partir de reservas de glicogênio e/ou

precursores gliconeogênicos (NEWGARD et al., 1983). A produção e a utilização de glicose no fígado são controladas por atividades enzimáticas reguladas por mecanismos específicos de curto e longo prazo (PILKIS & CLAUS, 1991). Estudos realizados com peixes alimentados com altos teores de carboidratos mostraram aumento das reservas de glicose hepáticas e musculares, as quais podem ser convertidas em ácidos graxos e estocados como triacilgliceróis (COWEY et al., 1975; COWEY & WALTON, 1989; FYNN-AIKINS et al., 1992; DE SILVA & ANDERSON, 1995; PERES et al., 1999).

A glicose proveniente da dieta pode ser armazenada como glicogênio hepático e muscular ou utilizada na síntese de compostos como triacilgliceróis e aminoácidos não-essenciais (CHAMPE & HARVEY, 1994). A quantidade de massa muscular branca de corpo representa estoque substancial de glicogênio, aproximadamente vinte vezes maior do que o do fígado (MOYES & WEST, 1995). Entretanto, em proporções relativas, o fígado estoca mais glicogênio que o músculo branco. Dados relatam que a variação hepática diurna do conteúdo de glicogênio não demonstra relação definida com a ingestão de alimento. Além disso, a maior concentração de glicogênio no fígado pode sofrer efeito retardado do arraçoamento em função da estação do ano e da idade do peixe (DELAHUNTY et al., 1978; LAIDLEY & LEATHERLAND, 1988). O conteúdo de glicogênio hepático é extremamente variável entre indivíduos e espécies de peixes. Em muitas espécies de peixes o glicogênio muscular não é mobilizado, exceto em condições extremas, sendo mantido à custa da glicose sanguínea, que por sua vez, é provida pelos processos hepáticos de gliconeogênese e glicogenólise (NAVARRO & GUTIÉRREZ, 1995). Van Den Thillart & Van Raaij (1995) destacam que os estoques de glicogênio do músculo branco são, normalmente, direcionados para queima repentina devido ao exercício natatório e não rotineiramente, como para manutenção glicêmica.

A avaliação da gliconeogênese é importante no estabelecimento da situação metabólica, visto que sua função é prover glicose a partir de moléculas não glicídicas. Este processo gera glicose a partir de piruvato, lactato, alanina, glicerol, metabólitos intermediários do ciclo de Krebs e aminoácidos glico e cetoglicogênicos (LEMAIGRE & ROUSSEAU, 1994). A gliconeogênese em peixes, cuja dieta natural apresenta poucas fontes de carboidrato, reveste-se de importante papel. De acordo com Cowey et al. (1979), esta é a principal via de síntese de *novo* de glicose em

peixes carnívoros. E nos peixes, a mobilização de glicogênio é muito lenta, de forma que a maior parte da glicose requerida provém da gliconeogênese.

A glicogenólise é uma fonte de glicose, mas não parece ser a maior fonte de glicose para fígado ou músculo quando os níveis de precursores na dieta são adequados. Representa uma estratégia emergencial antes que a glicose esteja disponível a partir da dieta ou pela gliconeogênese de aminoácidos provindos da digestão protéica (WALTON & COWEY, 1989). O tempo de aparecimento da glicose (e outros açúcares simples) no plasma, em relação à alimentação, vai depender de vários fatores. Entre eles, o conteúdo total de carboidratos e dos outros ingredientes da dieta, sua forma de processamento, hábito alimentar, histórico nutricional do indivíduo e temperatura da água (BERGOT & BREQUE, 1983; HUNG, 1991).

2.3.3. Lipídeos

Os lipídios constituem grupo de compostos quimicamente diferentes entre si, que exibem insolubilidade em água como característica definidora e comum a todos (LEHNINGER et al., 2000), sendo solúveis em solventes orgânicos como éter, clorofórmio e benzeno (SILVA & QUEIROZ, 2002). Neste grupo estão as gorduras e/ou óleos e muitos compostos ligados ou associados, tais como terpenos, esteróis, eicosanóides e ceras.

Para os peixes, os lipídios exercem importante papel como fonte energética e são constituintes de membranas celulares, nutrientes essenciais (ácidos graxos essenciais, vitaminas lipossolúveis, etc.), substâncias controladoras do metabolismo, substâncias isolantes de calor e que mantêm a temperatura, protetores contra danos mecânicos externos, entre outras funções. Nos peixes marinhos, os lipídios corporais, mesmo sob baixas temperaturas, encontram-se na forma fluida devido à grande quantidade de ácidos graxos poliinsaturados (AGP) de cadeia longa e aos lipídios não glicerídeos, o que os diferenciam dos animais terrestres (OGAWA & MAIA, 1999). Os peixes que vivem em baixas temperaturas possuem mais ácidos graxos (AG) corporais da série ω -3, contrastando com peixes de água mais quente, que geralmente apresentam concentrações inferiores de AGP (PITCHER & HART, 1982).

Segundo o NRC (1993), as exigências de AG essenciais na dieta de peixes se diferenciam, consideravelmente, entre as espécies. As dietas para peixes

devem fornecer, principalmente, AG da série ω -6 e ω -3, pois estes animais não os sintetizam e devem estar presentes nas dietas em quantidades adequadas (PEZZATO et al., 2004). Segundo New (1987), a exemplo dos mamíferos, os peixes não podem sintetizar AG das séries linolênica ou linoléica. Estes devem ser adicionados à dieta para se obter crescimento satisfatório e manutenção de bom estado de saúde destas espécies.

Os lipídeos são as biomoléculas com maior densidade energética para os animais. Sua função principal é gerar energia metabólica na forma de ATP via β -oxidação, sendo esse processo mitocondrial (HALVER & HARDY, 2002). Os animais aquáticos são hábeis em metabolizar lipídios e estes são considerados a maior fonte de energia metabólica utilizada para a reprodução (HALVER & HARDY, 2002).

A absorção de lipídeos oriundos da dieta é um processo que, em peixes, assemelha-se ao observado em mamíferos (IZQUIERDO et al., 2000). Entretanto, aspectos do metabolismo de lipídeos em peixes, incluindo transporte e deposição, aparentam ser pouco diferentes dos observados para vertebrados homeotérmicos. Conforme proposto por Sheridan (1988), os peixes apresentariam um modelo diferenciado de distribuição de ácidos graxos do plasma para os tecidos que são compostos por componentes de liberação rápida e lenta. Os componentes de liberação rápida são representados por ácidos graxos livres (AGL) de cadeia curta, solúveis no plasma e AGL de cadeia longa que estariam ligados a proteínas carreadoras. O componente de liberação mais lenta, similar aos de mamíferos, representa um sistema de liberação de triacilgliceróis (TG), que consiste na agregação, extrusão e transporte de partículas em TG. Os lipídeos são estocados em órgãos de depósitos. Segundo Van Den Tillart & Van Raaij (1995), os sítios de estocagem mais importantes em peixes é o mesentério adiposo, o fígado e músculo. Além disso, os lipídeos corpóreos refletem os lipídeos da dieta, em termos de qualidade e composição de ácidos graxos, embora possam ser sintetizados a partir de carboidratos e aminoácidos (CARTER et al., 2001).

2.4 O Exercício

Para os peixes, o ato de nadar compreende um sistema complexo de movimentos com os quais eles realizam numerosas atividades relacionadas à sua sobrevivência em diversos habitats (EVANS, 1993).

A prática de exercício (ou natação forçada) para os peixes consiste em submeter os animais a nadarem contracorrente em velocidade e tempo determinados. A velocidade com que eles se exercitam determina o limite do tempo de nado (WEBB, 1994) e sua capacidade de nado é o determinante central de sua condição física, envolvida diretamente com captura, fuga de predadores, migração e seleção de condições ambientais mais favoráveis (MARTINEZ, 2003). Fatores relacionados à alimentação levaram os peixes ao desenvolvimento de adaptações morfológicas e funcionais específicas dos tipos de natação.

Segundo Kieffer (2010) nos últimos 50-60 anos trabalhos foram realizados à respeito da fisiologia de natação e seu desempenho em peixes, onde a maioria tem-se centrado no salmonídeos (MOYES & WEST, 1995), embora este quadro tenha sido modificado ao longo das últimas duas décadas.

O trabalho de Frederick Earnest Joseph Fry (ano e fonte) sobre temperatura e metabolismo abriu caminho para pesquisas com exercício exaustivo (anaeróbico) e sustentado (aeróbico), pois, após vários anos da publicação de seus trabalhos surgiram pesquisas importantes de dois fisiologistas de peixes, JR Brett e E.C Black (KIEFFER, 2010). O pesquisador Black trabalhou na quantificação da produção de ácido láctico em peixes, principalmente salmonídeos (BLACK, 1955, 1957a, b, c) e Brett centrou sua pesquisa na natação e no metabolismo aeróbico (BRETT, 1964). Naquela época, Peter William Hochachka começou a estudar os efeitos do déficit de oxigênio e os combustíveis metabólicos em trutas (HOCHACHKA, 1961).

Brett (1964) também pesquisou os gastos metabólicos da natação em peixes com ênfase nas relações de temperatura e metabolismo aeróbico de salmão. O desenvolvimento por Brett dos chamados túneis de natação e a teoria por trás da sua utilização provaria ser fundamental para o desenvolvimento do teste de velocidade crítica de natação (Ucrit). Este teste é o parâmetro ideal para se determinar a velocidade máxima que um peixe pode sustentar até que ele apresente fadiga. A partir deste valor podem-se categorizar os diferentes tipos de exercício (BRETT, 1964 apud RICHARDS et al., 2002). Basicamente, este protocolo consiste em colocar os peixes em tanques próprios, denominados túneis de natação, onde são submetidos à natação contracorrente, aumentando a velocidade de 5-10 cm/seg a intervalos de tempo predeterminados ou, até que ocorra a fadiga. O momento em que o peixe perde a posição de nado (equilíbrio) por três vezes seguidas, após ter

sido reintroduzido na correnteza, é definido como fadiga e é o ponto onde ele atinge sua velocidade máxima (JOBLING, 1994; RICHARDS et al., 2002). A velocidade é expressa em cm/seg, ou então, em CC/sec (comprimento corporal/segundo).

A atividade natatória nos peixes possui classificação que não indica apenas o tempo e a intensidade do exercício, mas também mostra qual o dispêndio respiratório e os caminhos metabólicos empregados para atender a demanda energética imposta a cada tipo de exercício. A atividade muscular também é diferenciada dependendo da velocidade de natação. Estas atividades podem ser classificadas segundo Jobling (1994) e Holk & Lykkeboe (1998) em: exercício explosivo, exercício aeróbico e exercício prolongado.

2.4.1. Exercício explosivo ou de exaustão

Neste tipo de exercício o peixe é forçado a nadar contra velocidades altas, resultando rapidamente em fadiga (JOBLING, 1994; TAYLOR et al., 1995). O tempo de exercício não ultrapassa 20 segundos e o metabolismo energético é suprido preferencialmente pelo metabolismo anaeróbico. Os peixes podem sofrer grandes distúrbios metabólicos, inclusive apresentar crescimento diminuído. As fibras musculares recrutadas nesse tipo de exercício são as vermelhas (oxidativas), inicialmente, sendo substituídas logo em seguida pelas fibras brancas (glicolíticas) (LACKNER et al., 1988; MOYES & WEST, 1995; TAYLOR et al., 1995; MILLIGAN, 1996; RICHARDS et al., 2002). Como o metabolismo anaeróbico é menos eficiente que o aeróbico, o oxigênio é rapidamente utilizado levando a cessação da atividade natatória. Além destas modificações, a atividade extenuante promove decréscimo do pH sanguíneo e profundos distúrbios hidroeletrolíticos (WOOD, 1991; POSTLETHWAITE & MCDONALD, 1995; HOLK & LYKKEBOE, 1998).

Os efeitos metabólicos decorrentes dos exercícios de alta intensidade – prolongado e explosivo – são mais conhecidos do que os de longa duração (WOOD, 1991; MILLIGAN & GIRARD, 1993; YOUNG & CECH Jr, 1994; WEBER & HAMAN, 1996; DAVISON, 1997; RICHARDS et al., 2002). Todavia, são eventos pouco vivenciados por peixes *in vivo*, exceto quando imposto pelo homem, tanto nos procedimentos de laboratório quanto durante a pesca. Na maior parte do tempo, os peixes nadam naturalmente a velocidades que podem ser sustentadas por longos períodos.

2.4.2. Exercício prolongado ou natação aeróbica máxima

Este tipo de exercício apresenta tempo de duração entre 20 segundos e 200 minutos aproximadamente, após o qual o resultado é a fadiga. Este tipo de atividade é mais exigente e demanda mais da capacidade metabólica do peixe. Assim, os peixes conseguem suportar este tipo de natação somente por curtos períodos. Após esse exercício, deve-se esperar um tempo até que o peixe apresente total recuperação e volte a se alimentar. A demanda energética nesse exercício é atendida tanto pelo metabolismo aeróbico como anaeróbico, que representa o limite máximo antes da exaustão. E os carboidratos têm papel preponderante para atender a demanda energética, sendo o glicogênio utilizado para suportar exercícios submáximos e explosivos (MOYES & WEST, 1995).

2.4.3. Exercício aeróbico de longa duração ou exercício sustentado

Neste tipo de exercício o peixe é capaz de manter a posição contra a corrente por longos períodos sem atingir a exaustão ou fadiga muscular e sem acúmulo de lactato. Esse exercício é realizado com baixa intensidade e a velocidade varia de leve a moderada. Teoricamente o peixe pode ser mantido indefinidamente, mas para fins práticos, nesse exercício ele é mantido por mais de 200 minutos. Este tipo de atividade pode ser observado na natureza para diversas espécies de peixes, enquanto elas atendem suas demandas respiratórias e mantêm flutuabilidade durante a alimentação a baixas velocidades e durante a migração de longa distância (JOBILING, 1994; DAVISON, 1997; HOLK & LYKKEBOE, 1998; AZUMA et al., 2002). Nesta situação, os peixes alimentam-se normalmente e a energia de origem exógena é destinada ao metabolismo basal, à manutenção e ao crescimento.

Acredita-se que o exercício de longa duração seja mantido preferencialmente pela oxidação lipídica e protéica (TOTLAND et al., 1987), o que permite maior mobilização de intermediários lipolíticos, como triacilgliceróis e ácidos graxos (YOUNG & CECH Jr, 1994; THILLART & RAAJI, 1995; WEBER & HAMAN, 1996; FORSTER & OGATA, 1996; BERNARD et al., 1999; YOGATA & OKU, 2000; OGATA & OKU, 2000). Entretanto, hoje se sabe que os carboidratos e os lipídeos são necessários para a manutenção energética do organismo, permitindo maior

síntese protéica favorecendo o crescimento dos peixes (DAVISON, 1997; WOOD, 2001). Quando algumas espécies de peixes realizam atividade aeróbica envolvendo até 80% da Ucrit, elas podem melhorar esse índice (RICHARDS et al., 2002) e aumentar sua tolerância ao exercício, atingindo velocidades maiores nos testes subseqüentes (DAVISON, 1997; HOLK & LYKKEBOE, 1998). Além desta aclimatação, existem duas consequências metabólicas essenciais com a realização de exercício de resistência: os peixes treinados são metabolicamente menos sujeitos à exaustão e o metabolismo retorna aos valores basais muito mais rapidamente do que peixes não treinados (LACKNER et al., 1988; DAVISON, 1997). Admite-se que o exercício de longa duração otimiza a conversão alimentar e o crescimento, sendo a atividade adequada no estudo tanto das respostas metabólicas quanto de crescimento frente ao exercício aeróbico (TOTLAND et al., 1987; JOBLING, 1994; DAVISON, 1997; RICHARDS et al., 2002).

Os músculos dos peixes são constituídos de unidades longas, conhecidas como fibras musculares, que percorrem paralelamente por divisórias de tecido conjuntivo, chamadas de miosepta. Os segmentos musculares situados entre estas divisórias são denominados de miotemas. Morfologicamente e funcionalmente estes músculos dividem-se em três tipos: músculo liso, cardíaco e estriado ou esquelético, sendo que este último representa a maior parte comestível do corpo (filé) (TAKASHIMA & HIBIYA, 1995).

Para cada tipo de exercício, há recrutamento de fibras musculares específicas, que podem atuar em conjunto ou não, dependendo da velocidade de natação. Os peixes em sua maioria são compostos basicamente por dois tipos de fibras musculares de locomoção: vermelha e branca, as quais são histológica e histoquimicamente diferentes (MOYES & WEST, 1995). Na Figura 1, pode-se observar as divisões estruturais dos diferentes tipos de fibras para diferentes espécies de peixes.

Os peixes têm dois tipos de músculo: anaeróbio (branco) e aeróbio (vermelho). O músculo branco é dobrado em série de segmentos em forma de “W”, chamados miômeros, um para cada vértebra (Figura 1A). São vistos como cones em secção transversa (Figura 1B). As tunas e os lamnídeos, por exemplo, têm miômeros alongados e mais anéis. Em peixes não tuniformes, os músculos vermelhos ficam logo abaixo da pele (Figura 1C), mas em atuns, por exemplo, são

encontrados mais internamente, formando lombos nos cones anteriores dos miômeros (Figura 1D).

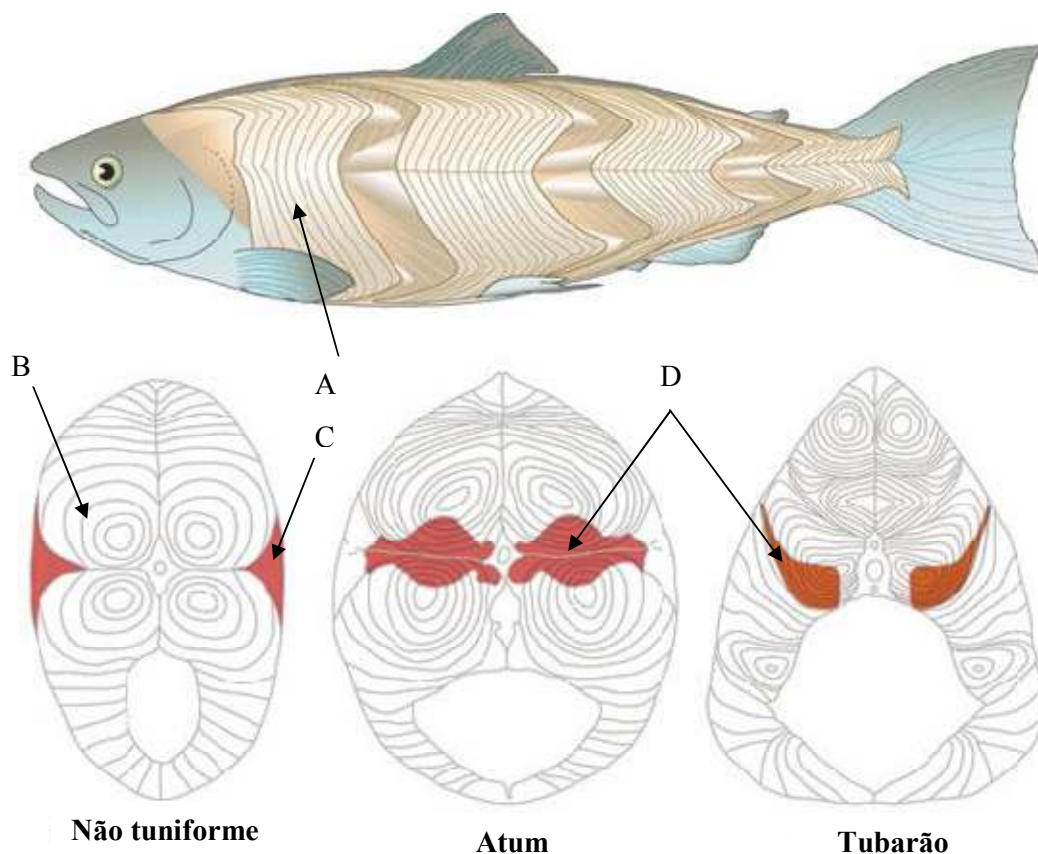


Figura 1. Esquema morfológico de tecido muscular vermelho e branco de três espécies de peixes. Adaptado de AMERICAN SCIENTIST, 2009.

As fibras vermelhas são assim classificadas em razão da alta concentração de mioglobina e maior densidade de vascularização. Este tecido necessita de grande demanda de oxigênio devido à realização de movimentos constantes em condições aeróbicas (MOYES & WEST, 1995). Essas fibras musculares realizam um tipo de contração que as tornam lentas, mas resistem a tempos prolongados de exercício, ou seja, sua ativação ocorre nos exercícios prolongados e aeróbicos. Em contraste, as fibras brancas são utilizadas para realização de atividades explosivas, que resultam em movimento repentino, forte e de curta duração. Demandam bastante energia e necessitam quase que inteiramente do metabolismo anaeróbico (DRIEDZIC & HOCHACHKA, 1978).

Conforme Tsumamoto (1984), as fibras brancas constituem a maior porção da massa muscular, são mais grossas do que as fibras vermelhas, pobres

fornecimento sanguíneos (pouca vascularização) e não possuem pigmentos vermelhos (hemoglobina e mioglobina). Geralmente, o músculo locomotor dos peixes (vermelho + branco) representa 60% de massa corporal, sendo que, o músculo vermelho está aproximadamente entre 0,5 a 13% e o músculo branco entre 60 a 91% de massa muscular (TSUKAMOTO, 1984, GIBB & DICKSON, 2002).

As mitocôndrias de diferentes tipos de fibras musculares de peixes são especializadas na oxidação de tipos diferentes de substratos (MOYES et al, 1989; 1990; 1992). O metabolismo mitocondrial no músculo branco tem papel no estado de repouso e no período de recuperação muscular, ao passo que, no músculo vermelho, o metabolismo da mitocôndria tem função de produção de ATP para a atividade muscular estável (DRIEDZIC & HOCHACHKA, 1978; MOYES et al. 1992). A atividade realizada por fibras musculares brancas é abastecida pela via não oxidativa, por meio da hidrólise fosfatada e glicólise anaeróbica (MOYES et al, 1989).

Fibras musculares vermelhas são aptas a utilizar e metabolizar aerobicamente vários tipos de combustíveis, como ácidos graxos, piruvato e aminoácidos, ao passo que as fibras musculares brancas são especializadas na oxidação do piruvato, proveniente do lactato produzido durante atividades intensas. Moyes et al., (1989; 1992; 2004), em estudos realizados com a carpa, *Cyprinus carpio* verificaram que mitocôndrias isoladas de músculo vermelho e branco diferem em suas propriedades oxidativas e atividade enzimáticas. Os autores observaram que a contração do músculo vermelho depende de elevada produção de ATP mitocondrial para atender as demandas da contração muscular do metabolismo.

Quando se pensa em sistemas de criação de peixes e possíveis aplicações comerciais do exercício, observa-se que a atividade aeróbica pode ser uma coadjuvante na criação mais eficiente de peixes. Estudos, principalmente, com salmões, registram que o exercício aeróbico aumenta o ganho em peso. Além do salmão, espécies como “striped bass” *Morone saxatilis*, “red sea bream” *Pagrus major*, “flounder” *Paralichthys olivaceus*, e “yellowtail” *Seriola quinqueradiata*, também foram beneficiadas pelo exercício moderado, apresentando, por exemplo, maior eficiência alimentar e crescimento (JOBILING, 1993; YOUNG & CECH Jr, 1994; JOBILING, 1994; DAVISON, 1997; YOGATA & OKU, 2000; OGATA & OKU, 2000; AZUMA et al., 2002; BUGEON et al., 2003). Até mesmo peixes considerados sedentários como o “yellowtail” e o “striped bass”, com pouca habilidade natatória,

podem ser beneficiados pelo exercício, apresentando boa conversão alimentar, peso e comprimento maiores do que aqueles mantidos em ambientes de águas estacionárias (YOUNG & CECH Jr, 1994; JOBLING, 1994; FORSTER & OGATA, 1996; AZUMA et al., 2002; OGATA & OKU, 2000; BUGEON et al., 2003).

Existem ferramentas bioquímicas, como análise do metabolismo e de atividades enzimáticas, que nos dão acesso às adaptações metabólicas decorrentes das mudanças das condições ambientais. Através dessas análises pode-se prever quais são os processos fisiológicos envolvidos, bem como, suas mudanças. Se os peixes crescem mais ao se exercitar, provavelmente deve estar havendo mudança na utilização de substratos energéticos, permitindo melhor aproveitamento de fontes energéticas não-protéicas em favor da economia de proteínas. Sendo assim, o maior crescimento em peixes exercitados pode ser explicado por mudanças comportamentais, mas principalmente pela maior facilidade em utilização de carboidratos e lipídeos para os eventos de demanda energética e maior direcionamento de proteínas para os processos de crescimento (MORAES et al, 2009).

2.4.3.1. Exercício aeróbico e o comportamento

Nos sistemas de criação de peixes, independentemente da magnitude da produção, há tendência de surgir lotes de peixes com pesos diferentes (classes de tamanho) (MORAES et al., 2009).

Os peixes que atingem pesos maiores em menor tempo tendem a se tornarem socialmente dominantes, impondo domínio hierárquico sobre os menores (BALDISSEROTTO, 2002; KUBITZA, 2006). Este comportamento agressivo faz com que a mortalidade seja bastante alta e os peixes dominantes se alimentem mais que outros peixes e, portanto, cresçam mais (JOBLING & WANDSVIK, 1983; JOBLING, 1994; DAVISON, 1997).

Entretanto, admite-se que quando o peixe é submetido à natação aeróbica, fica evidente o efeito cardume como a diminuição da agressividade (CHRISTIANSEN & JOBLING, 1990). Ao se exercitarem, os peixes apresentam uma série de comportamentos diferentes: eles se orientam na corrente, melhoram o convívio social, diminuem o nível de dominância, a frequência dos ataques e, muito

provavelmente, reduzem o nível de estresse (TOTLAND et al., 1987; JOBLING, 1994; DAVISON, 1997).

Salmonídeos submetidos a velocidades moderadas demonstram mudanças comportamentais e modificações no modo de natação em resposta às condições do ambiente de criação. Estes peixes geralmente orientam-se e começam a nadar contra a correnteza, formando cardumes. Observa-se comportamento locomotivo sincronizado, posicionando-se na coluna da água em forma hidrodinâmica (formação de diamante) a fim de diminuir o gasto energético (BLAKE, 2004). Dependendo da velocidade da água, os salmonídeos diminuem a frequência dos movimentos operculares e começam a nadar com a boca aberta, a fim de que a água entre com suficiente velocidade e força, perfundindo as lamelas branquiais. Deste modo, conseguem poupar energia que, em alguns casos, pode chegar a aproximadamente 10 % do consumo total de O₂ (STEFFENSEN, 1985). Peixes exercitados também apresentam menores interações antagonistas com tendência reduzida de formação de hierarquia (CHRISTIANSEN & JOBLING, 1990).

Peixes expostos à condição de água parada, contrariamente, tendem a aglomerar-se e exibem padrões de locomoção que variam desde um estado imóvel até movimentos explosivos (LEON, 1989; CHRISTIANSEN et al., 1989; JOBLING, 1993; BLAKE, 2004).

A modificação do comportamento induzido pelo exercício traz duplo benefício aos peixes: diminui o custo energético e reduz a incidência de nadadeiras com feridas ocasionadas por mordeduras. Conseqüentemente, melhora-se a aparência geral dos peixes e também se reduz o risco de infecções ocasionadas por bactérias ou fungos (CHRISTIANSEN et al., 1991; JORGENSEN & JOBLING, 1993). Além disso, a natação aeróbica pode trazer efeitos benéficos no consumo alimentar e, conseqüentemente, no crescimento.

Observações subjetivas sugerem que o comportamento antagonístico, em termos de mordidas e perseguições, foi reduzido em juvenis de “artic charr” *Salvelinus alpinus* criados em altas velocidades. Aproximadamente 80% dos controles (sedentários) mostraram evidências de marcas de mordidas e a proporção foi reduzida em 14 % em peixes exercitados até 2 CC/seg. Peixes que nadaram a 0,5 e 1 CC/seg também mostraram sinais de ferimentos em ambas as nadadeiras, dorsal e caudal. Desta forma, pode-se afirmar que as alterações comportamentais

mostradas pelos peixes exercitados contribuem beneficentemente para o crescimento (CHRISTIANSEN & JOBLING, 1990).

2.4.3.2. Exercício e o desempenho produtivo

O exercício aeróbico é um procedimento que pode contribuir significativamente para a criação mais eficiente de peixes. A prática do exercício aeróbico em peixes aumenta ganho em peso, reduz a conversão alimentar, adapta as respostas fisiológicas e bioquímicas em favor do crescimento, aumentando as taxas de sobrevivência e diminuindo o comportamento agressivo de espécies de peixes (DAVISON, 1997; SHANGAVI & WEBER, 1999; YOGATA & OKU, 2000; AZUMA et al., 2002; HACKBARTH & MORAES, 2006; FABRIZZI, 2010; HACKBARTH, 2010).

Crescimento diferenciado de peixes exercitados ocorre de acordo com a espécie e tipo de treinamento realizado. Mesmo peixes considerados sedentários, com pouca habilidade natatória, podem ser beneficiados pelo exercício (OGATA & OKU, 2000).

Há anos foi amplamente sustentada a idéia entre os criadores de salmonídeos, que a correnteza da água na criação provocava detrimento do crescimento e da eficiência de produção dos peixes. A razão fundamental para isso é que se admitia que altos níveis de energia são requeridos para os peixes manterem a sua posição contra a corrente de água, o que levaria a redução no crescimento e/ou aumento nos custos da alimentação (JOBLING, 1993). No entanto, existem evidências que demonstram o contrário, isto é, o exercício moderado traz efeitos benéficos aos peixes ao nível fisiológico, morfológico e comportamental. Por exemplo, há aumento no crescimento em todas as fases de vida dos salmonídeos quando forçados a nadar em velocidades moderadas por períodos prolongados (DAVISON & GOLDSPINK, 1977; LEON, 1986; TOTLAND et al., 1987; HOULIHAN & LAURENT, 1987; DAVISON, 1997; CHRISTIANSEN & JOBLING, 1990; JOBLING, 1993; YOUNG & CECH Jr, 1994). Este aumento no crescimento foi observado em outras espécies como: bagre do canal *Ictalurus punctatus*; “striped bass” *M. saxatilis*; “whiting” *Merlangius merlagus*; truta *Salmo trutta*, *Oncorhynchus mykiss*, “red sea bream” *P. major* e “yellowtail” *S. quinquerediata* e matrinxã *Brycon amazonicus* (YOUNG & CECH Jr, 1993; YOUNG & CECH Jr, 1994a; JARBOE & GRANT, 1996;

HAMMER & SCHWARZ, 1996; DAVISON, 1997; YOGATA & OKU, 2000; AZUMA et al., 2002; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007, FABRIZZI, 2010, HACKBARTH, 2010).

Além do crescimento, existe mudanças positivas no comportamento alimentar. Concomitante, ao aumento em peso é observada melhoria na eficiência da conversão alimentar (ganho em peso por unidade de peso de alimento consumido), ou seja, os peixes forçados a nadar em velocidades moderadas por períodos prolongados mostram maior ganho em peso por unidade de alimento consumido do que os criados em água parada. Embora a melhoria destas duas variáveis seja devido ao efeito benéfico do exercício aeróbico, há diminuição na frequência de encontros antagonistas entre os peixes cultivados a velocidades moderadas, quando comparados aos peixes criados na condição de água parada. Desta maneira, os baixos níveis de interações agressivas levam à redução nos custos energéticos permitindo, portanto, maior energia canalizada para o crescimento (CHRISTIANSEN & JOBLING, 1990; HALLER, 1991; JORGENSEN & JOBLING, 1993).

Deste ponto de vista, a produção comercial de peixes provenientes de sistemas de criação sob exercício aeróbico, seria interessante devido a dois benefícios: aumento no ganho em peso e eficiência alimentar (CHRISTIANSEN & JOBLING, 1990; KESTEMONT & BARAS, 2001). A base do aumento dessas duas variáveis deve-se às mudanças fisiológicas produzidas pela atividade do nado aeróbico. Em nível muscular, o exercício aeróbico em peixes leva ao aumento no tamanho das fibras dos músculos vermelho e branco (hipertrofia) devido às maiores taxas de síntese de proteínas (HOULIHAN & LAURENT, 1987). Como estes representam 50% a 60% do peso corporal dos peixes, mudanças nestes tecidos terão considerável influência no crescimento do corpo (DAVISON & GOLDSPINK, 1977; JOHNSTON & MOON, 1980; TOTLAND et al., 1987; DAVISON, 1997).

Tecidos como as brânquias e o coração apresentam altas taxas de renovação de proteína e baixa eficiência de deposição de proteína. No entanto, no músculo natatório o processo é inverso; há baixa renovação de proteína e alta eficiência de deposição protéica. Portanto, essa deposição pode ser maior que 70 %, e no corpo inteiro este índice pode variar entre 40 %-50 % de eficiência (JOBLING, 1993). Sendo assim, parece que a melhora de crescimento e eficiência de conversão alimentar observada em peixes, quando forçados a nadar por períodos

prolongados a velocidades moderadas, é o resultado da combinação de mudanças comportamentais e respostas fisiológicas (JOBBLING, 1993).

Com a aplicação do exercício moderado, a ração é mais bem distribuída e os peixes crescem mais uniformemente (JOBBLING, 1994; WOOD, 2001; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007). Quando realizada sem interrupções, esta atividade reorganiza o metabolismo poupando gastos extras provenientes do exercício, permitindo maior síntese protéica e aumentando o catabolismo lipídico e glicídico, o que favorece o crescimento (DAVISON, 1997; MOYES & WEST, 1995; WOOD, 2001; RICHARDS et al., 2002; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007, HACKBARTH, 2010).

Matrinxãs, *B. amazonicus*, exercitados por 72 dias, a velocidade de 1 CC/seg, apresentam maior eficiência alimentar e ganho em peso superior a 38 % em relação aos matrinxãs que não se exercitam (HACKBARTH & MORAES, 2006). Apresentam ainda maior capacidade para oxidar lipídios e carboidratos, com taxa catabólica superior a 40 % e 15 %, respectivamente. Além disso, observa-se 30 % de síntese de proteína muscular (ARBELÁEZ-ROJAS, 2007). Pacu exercitado a 1 e 2 CC/seg apresenta maior ganho em peso, comprimento, altura, eficiência alimentar (EA) e taxa de eficiência protéica (TEP). Pacus exercitados a 2 CC/seg crescem mais de 50 % em peso vivo e apresentam maiores valores de EA e TEP, mostrando que o exercício estimula o crescimento, bem como o aproveitamento dos nutrientes da dieta (HACKBARTH & MORAES, 2006). É de fundamental importância se determinar a velocidade correta para a execução da atividade natatória aeróbica para cada espécie de peixes.

Visto que, o exercício aeróbico favorece o crescimento ao permitir que o peixe metabolize melhor o alimento ofertado, sua execução poderia contribuir para diminuir o problema enfrentado na criação de peixes, o qual está relacionado aos gastos com alimentos. Estes representam de 50 % a 70 % dos custos de produção, e a redução nesta porcentagem pode ser alcançada através da utilização de ingredientes de alta qualidade, do uso de técnicas eficazes de processamento das rações e da aplicação de estratégias na alimentação e na criação (KUBITZA, 1998). O exercício aeróbico poderia, desta forma, auxiliar no aproveitamento da dieta proporcionando maior ganho em peso em menor tempo, pois com sua realização os peixes utilizam melhor as fontes não-protéicas.

Os peixes obtêm energia através do metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas. Todavia, os peixes apresentam preferência pelas proteínas, e a quantidade de aminoácidos requerida está relacionada diretamente ao estado nutricional, variando de acordo com a espécie de peixe (MOYES & WEST, 1995). Dietas para *B. amazonicus* devem conter pelo menos 28 % de proteína (IZIEL et al., 2004). *Pseudobagrus fulvidraco* exige 42 % de PB (KIM & LEE, 2005). Para *P. mesopotamicus*, os melhores resultados de desempenho foram encontrados utilizando-se 22 % de PB para juvenis e 26 % para alevinos (FERNANDES et al., 2000, 2007). Entretanto, o excesso de proteínas na dieta diminui o desempenho, aumenta o custo de produção (KIM & LEE, 2005) e deteriora a qualidade da água. Aumentar a eficiência alimentar significa usar menos ração para produzir a mesma biomassa de peixes, e invariavelmente, aumentar o lucro na atividade (KUBITZA, 1998).

Pesquisas que associam atividade natatória e nutrição animal em peixes são escassas. Os estudos que existem com essa associação demonstram resultados satisfatórios. Salmão do Atlântico, *Salmo salar*, quando a dieta é suplementada com 25 % de lipídeos, apresenta respostas de desempenho produtivo superior, atingindo velocidade máxima quando comparado com os peixes que não receberam dieta não-suplementada com lipídeos (McKENZIE et al., 1998). Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, aclimatada em três temperaturas diferentes e alimentada com dieta enriquecida com gordura poli-insaturada ω -3, apresenta menor excreção de amônia após exercício exaustivo do que tilápia alimentada com ácidos graxos saturados (McKENZIE et al., 1996). Pacus exercitados e alimentados com proporções diferentes de carboidratos e lipídeos apresentam crescimento superior aos peixes que não se exercitaram (HACKBARTH, 2010). A autora sugere que o exercício associado à dieta contendo mais lipídeos e menos carboidratos traz respostas de crescimento satisfatórias para pacus.

O exercício aeróbico associado com densidade adequada de peixes pode trazer melhoria na criação de matrinxã. ARBELÁEZ-ROJAS & MORAES (2009) observaram em juvenis de matrinxã sob condições de exercício aeróbico e em densidade intermediária (176 peixes/m³) melhor desempenho produtivo. Além disso, os autores comprovaram que o exercício de natação aeróbica, independente da densidade de estocagem, traz mudanças na composição corporal de juvenis de matrinxã, as quais se refletem principalmente, em maior deposição de proteína no

músculo branco e de lipídios no músculo vermelho. Isso possibilita aumento de reservas energéticas e maior capacidade de resistência, além de melhor adaptação às condições de adensamento em sistemas intensivos de criação.

2.4.3.3. Hematologia

O sangue medeia às interações metabólicas entre todos os tecidos. Ele transporta nutrientes do intestino para o fígado e do fígado e tecido adiposo para outros órgãos. O sangue transporta: a) produtos residuais dos tecidos para a excreção renal; b) oxigênio dos pulmões para os tecidos e dióxido de carbono no sentido inverso; c) e sinais hormonais de um tecido para outro.

O estudo dos componentes do sangue e de suas funções é importante para o conhecimento das condições de equilíbrio normais e patológicas. A avaliação desses componentes auxilia na determinação da influência de condições fisiopatológicas que possam afetar a homeostase, colaborando, assim, no diagnóstico de condições adversas (TAVARES-DIAS *et al.*, 1999) e na compreensão da relação entre as características sanguíneas e a saúde dos peixes e sua associação com o meio ambiente (TAVARES-DIAS & MORAES, 2004). A variação nas características hematológicas em peixes depende da espécie, idade, sexo, alimentação e ambiente a que estão expostos (SUN *et al.*, 1992; SERPUNIN & LIKHATCHYOVA, 1998).

Os índices hematológicos da série vermelha – eritrócitos, hemoglobina, quantidade de células vermelhas – são considerados primários e indicam a capacidade de transporte de oxigênio através do sangue e da utilização do mesmo pelo organismo. Os eritrócitos são as células mais numerosas no sangue e são repletas de hemoglobina que, por sua vez, fazem o transporte de oxigênio e de dióxido de carbono. O volume de eritrócitos se determina através do hematócrito, o qual indica a porcentagem das células vermelhas presentes no sangue em relação ao seu volume total. A hemoglobina é uma proteína presente nos eritrócitos e além de transportar os gases respiratórios também atua como excelente tampão ácido-básico, de modo que os eritrócitos são responsáveis pela maior parte da capacidade de tamponamento ácido-básico do sangue (GUYTON & HALL, 2002). O número de células vermelhas (RBC) é usualmente calculado por mm^3 de sangue. A quantidade de células é regulada dentro de limites estreitos, de modo que uma quantidade de

eritrócitos sempre esteja disponível para efetuar o transporte de oxigênio suficiente sem impedir o fluxo sanguíneo (GUYTON & HALL, 2002). Os índices hematimétricos como: Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM) e Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM), indicam respectivamente, o estado osmorregulatório (que está diretamente envolvido com a dinâmica cardíaca e com o fluxo sanguíneo), a função respiratória e, o conteúdo de hemoglobina por 100 mL de eritrócitos (HOUSTON, 1990).

Estudos demonstram que diferenças na formação e função das células sangüíneas podem ser indicativas de manipulação da alimentação (GREENE & SELIVONCHICK, 1990; DUNCAN et al., 1993; WISE et al., 1993). O claro conhecimento da resposta hematológica, para diferentes dietas, pode ser útil para novas formulações. Entretanto, a determinação da exigência nutricional baseia-se no teste de desempenho, em diferentes períodos ambientais (GERHANOVICH & KISELEV, 1993), portanto, a falta de padronização de métodos e nomenclatura, as diferentes espécies, o efeito da idade, do sexo, da qualidade de água e os métodos de captura, contribuem para a variabilidade dos parâmetros hematológicos em peixes. Por esta razão, é difícil comparar resultados de diferentes estudos, devendo-se estes serem determinados para cada condição de cultivo (KLINGER et al., 1996).

A determinação das variáveis hematológicas para os peixes exercitados pode-se indicar a condição fisiológica do peixe, visto que o exercício, mesmo moderado, acarreta uma série de modificações no fluxo sanguíneo, no diâmetro das veias e nas funções de oxigenação e respiração (SATCHELL, 1991, SÄNGER & PÖTSCHER, 2000). O exercício aeróbico aumenta a capilarização do tecido muscular e isto traz conseqüências diretas ao organismo, aumentando a capacidade de transporte de oxigênio, lipídeos e açúcares, bem como promovendo remoção mais rápida de resíduos metabólicos (SÄNGER & PÖTSCHER, 2000).

Além de mostrarem o estado fisiológico dos peixes, os índices hematológicos são utilizados nos estudos de controle de patologias e de estresse de qualquer natureza (MARTINEZ et al., 1994). No caso de realização de exercícios extenuantes há grande demanda de oxigênio para os tecidos, e o sistema circulatório precisa atender estas necessidades extras elevando a concentração de eritrócitos. O consumo de oxigênio aumenta 12 a 15 vezes, sendo que 93 % do acréscimo são direcionados para o trabalho muscular, impondo maior estresse ao suprimento de oxigênio para todos os tecidos. Entretanto, o aumento do hematócrito

tem diversas explicações: pode ser devido a maior concentração de hemoglobina, a maior recrutamento dos eritrócitos estocados no baço e liberados por contração esplênica, a entumescimento dos eritrócitos, ou ainda, à volemia resultando em hemoconcentração ou hemodiluição (FRANKLIN et al., 1993). Os ajustes necessários à maximização do fluxo de oxigênio para os tecidos incluem o aumento da ventilação, da frequência cardíaca e da diferença no conteúdo arteriovenoso. Por outro lado, o exercício aeróbico promove maior equilíbrio entre o suprimento e a demanda de oxigênio despendido pelo organismo durante a atividade, aumentando a transferência gasosa do peixe e a capacidade de difusão e extração de oxigênio dos tecidos, sem necessariamente promover alterações nas variáveis hematológicas (RANDAL, 1982; JENSEN et al., 1983).

Matrinxã exercitado a 1 CC/seg. por 72 dias apresenta alterações hematológicas sugestivas de *a)* facilitação e/ou melhora no transporte de oxigênio através do sangue, *b)* melhor captação de oxigênio, *c)* ou talvez manutenção da osmorregulação (HACKBARTH & MORAES, 2006). Os autores acreditam que provavelmente um peixe exercitado aerobicamente apresente melhor transporte de nutrientes, facilitando seu crescimento.

Em outro estudo com matrinxãs exercitados a 1,5 CC/seg. observa-se aumento dos valores de hemoglobina, RBC e hematócrito decorrente da demanda metabólica imposta pela prática de exercício (ARBELÁEZ-ROJAS & MORAES, 2010). Pacus exercitados e alimentados com dieta contendo 27 % de carboidratos e 15 % de lipídeos apresentam elevação de hematócrito e hemoglobina em reflexos da tentativa do peixe em lidar com a situação metabólica e energética aumentadas pelo exercício, especificamente quando alimentados com dietas contendo mais lipídeo (HACKBARTH, 2010).

2.4.3.4.. Exercício e o metabolismo

Durante o exercício aeróbico, a contribuição energética de lipídeos e carboidratos torna-se maior e as proteínas podem ser direcionadas para o crescimento (YOUNG & CECH Jr., 1994; MOYES & WEST, 1995; FORSTER & OGATA, 1996; WEBER & HAMAN, 1996; DAVISON, 1997; OGATA & OKU, 2000; RICHARDS et al., 2002; WOOD, 2001).

Matrinxã exercitado a 1 CC/seg. apresenta maior capacidade em oxidar lipídeos e carboidratos, mostrando preferência por lipólise seguida, por glicólise (HACKBARTH & MORAES, 2006). A mesma espécie, quando exercitada a 1 e 1,5CC/seg. mostrou aumento de 30 % de síntese de proteína muscular (ARBELÁEZ-ROJAS, 2007). Acima destas velocidades, há maior mobilização de aminoácidos como fonte de combustível para atender as demandas energéticas, sugerindo que velocidades de natação muito altas provocam efeitos danosos ao metabolismo e, conseqüentemente, no crescimento (ARBELÁEZ-ROJAS, 2007).

Os lipídios são a principal fonte de energia para os músculos locomotivos da maioria dos peixes e desempenham funções importantes ao longo de suas vidas (SHERIDAN, 1988). Algumas espécies de peixes, ao realizar exercício aeróbico, utilizam os lipídeos de forma continuada, o que favorece o anabolismo protéico (DAVISON, 1997; YOGATA & OKU, 2000). Matrinxãs exercitados a 1 CC/seg. apresentam mobilização de lipídeos totais, triacilglicerol e ácidos graxos no músculo branco (HACKBARTH & MORAES, 2006). “Red sea bream” (*Pagrus major*) e “japanese flounder” ao se exercitarem a 80 % da Ucrit, diminuem seus estoques lipídicos (FORSTER & OGATA, 1996; OGATA & OKU, 2000). Em contrapartida, truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) exercitada a 1 CC/seg. não mobiliza TG e AGL além dos valores de repouso (BERNARD et al., 1999) e “striped bass” apresenta aumento dos estoques lipídicos após exercício a 1,5 – 2,4 CC/seg. e 2,4 – 3,6 CC/seg. (YOUNG & CECH Jr., 1994).

Magnoni et al. (2006) afirmam que durante o exercício de longa duração, lipídeos, carboidratos e proteínas são combustíveis energéticos preferenciais, sendo o músculo vermelho o maior consumidor de fontes lipídicas, visto sua importância em manter as atividades aeróbica e de resistência. Em peixes exercitados, os lipídeos que estão estocados em sua maioria como TG (triacilglicerol) em vísceras e fígado são liberados como ácidos graxos livres para o sangue, e assim, atendem à demanda energética (VAN DEN THILLART & VAN RAAJI, 1995; BERNARD et al., 1999).

Durante a migração, o exercício parece estimular a oxidação lipídica (FORSTER & OGATA, 1996; OGATA & OKU, 2000; MAGNONI et al., 2006), sendo eles os maiores contribuintes energéticos (MAGNONI et al., 2006). Em truta arco-íris exercitada até a exaustão, o aumento na oxidação de TG muscular e AGL no

plasma poderiam indicar maior papel dos lipídeos também durante a recuperação (RICHARDS et al., 2001).

Alguns autores admitem que o papel dos carboidratos seja aumentado apenas quando os peixes se exercitam a velocidades submáximas e máximas, onde há grande consumo de glicogênio (JOBBLING, 1994; van den THILLART & van RAAJI, 1995; WEBER & HAMAN, 1996; SUGITA et al., 2000; SUGITA et al., 2001; RICHARDS et al., 2002; MORAES et al., 2004). Entretanto, matrinxã, truta arco-íris e carpas sob exercício aeróbico mostram maior atividade glicolítica em favor de economizar proteínas (MOYES & WEST, 1995; DAVISON, 1997; KIEFFER et al., 1998; RICHARDS et al., 2002; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007; HACKBARTH, 2010).

Existem três maneiras de fornecer carboidratos para o músculo vermelho de peixes exercitados: 1) mobilização das reservas de glicogênio intramuscular; 2) captação de glicose circulante derivada de gliconeogênese/glicogenólise hepática, e 3) oxidação do lactato produzido a partir de glicogênio do músculo branco. O glicogênio intramuscular não deve ser o principal combustível para o estado de exercício constante uma vez que o glicogênio total do músculo vermelho é um depósito relativamente pequeno. Se for utilizado exclusivamente, o glicogênio do músculo vermelho seria mantido no máximo, no exercício aeróbico, por menos de 1 h (MOYES & WEST, 1995). Em carpa, *Carassius carassius*, o conteúdo de glicogênio no músculo vermelho parece ser 2-8 vezes maior do que o músculo branco (JOBBLING, 1980; MOYES & WEST, 1995). Maior mobilização de glicogênio endógeno do músculo vermelho foi mostrado na carpa durante aumento gradual de velocidade de natação (MOYES & WEST, 1995). O glicogênio parece ser o combustível oxidativo com menor potencial para manter o exercício aeróbico de longa duração, embora possa aumentar a oferta de combustível, nas fases iniciais de transição do repouso à atividade natatória (SPRIET et al., 1990).

A liberação de glicose do fígado de peixes decorre do fluxo gliconeogênico e da glicogenólise. Ambos os processos são regulados pela ação de vários hormônios e peptídeos funcionais (MOMMSEN et al., 1987; MOMMSEN, 1988; PERTESSEN et al., 1987; REID et al., 1992; SUAREZ & MOMMSEN, 1987; WRIGHT et al., 1989). Em salmonídeos, a resposta dos estoques de glicogênio para as catecolaminas quando observadas no plasma não se alteram durante o exercício

submáximo, sugerindo que a glicose pode ser derivada a partir de glicogênio hepático (REID et al, 1992; WRIGHT et al., 1989; RISTORI et al., 1985, BANGSBO et al, 1991; BUTLER et al., 1986).

A capacidade de músculo vermelho para utilizar a glicose pode ser afirmada indiretamente pela atividade da hexoquinase (MOYES & WEST, 1995).

Segundo Moyes & West (1995), a dependência de glicose plasmática no músculo vermelho durante o exercício aeróbio máximo parece ser limitado pela disponibilidade no plasma, aparentemente, uma vez que o turnover pode não corresponder demanda aeróbia para substrato. A utilização da glicose no músculo vermelho em truta é baixa, ou talvez inibida, para que possa ser poupado para o uso em outros tecidos (WEST et al., 1993).

O papel do lactato não parece ser grande durante exercícios aeróbicos, sendo evidente em exercícios submáximos e explosivos e, durante a transição do repouso para o exercício (WEBER & HAMAN, 1996). Matrinxã exercitado a 1 CC/seg. também apresenta diminuição de lactato no músculo branco, sugerindo menor participação das vias oxidativas (HACKBARTH & MORAES, 2006).

Submetidos ao exercício “danube bleak”, *Alburnus chalcoides* e “nase”, *Chondrostoma nasus*, apresentam discreto aumento das enzimas glicolíticas no músculo branco (LEONARD et al., 2002). Durante o exercício, o bacalhau, *Gadus morhua*, também apresenta aumento da atividade enzimática glicolítica e lipolítica (MARTÍNEZ et al., 2003). Durante a migração “lacustrine masou”, *O. masou*, e “sockeye salmon”, *O. nerka*, apresentam diminuição da atividade de piruvato quinase, lactato desidrogenase e malato desidrogenase de músculo branco, provavelmente devido ao consumo de alimento e à migração propriamente. Todavia, enzimas como β -hidroxil CoA desidrogenase, fosfofrutoquinase e aspartato aminotransferase não apresentam diminuição da atividade, provavelmente por serem responsáveis pela manutenção energética durante o exercício decorrente da migração (LEONARD et al., 2002).

O metabolismo aeróbico e anaeróbico pode ser confirmado pelas alterações nas atividades de outras enzimas, como a malato desidrogenase (MDH) e a lactato desidrogenase (LDH). Quando os tecidos animais não podem ser supridos com oxigênio suficiente para suportar a oxidação aeróbica do piruvato e, do NADH produzidos na glicólise, o NAD^+ é regenerado a partir do NADH pela redução do piruvato a lactato, através da ação da LDH. O lactato formado por músculos nos

vertebrados em atividade pode ser reciclado. Para que isso ocorra, o lactato é transportado pelo sangue até o fígado onde é convertido em glicose. A associação da concentração do lactato e a atividade da LDH nos diferentes tecidos podem, portanto, predizer o caminho metabólico empregado pelo peixe em decorrência da atividade que ele realiza.

A MDH, por sua vez, é uma enzima encontrada na última reação do ciclo do ácido cítrico e catalisa a oxidação de malato em oxaloacetato, estando envolvida diretamente com o processo oxidativo de obtenção de energia. Além disso, esta enzima participa da gliconeogênese, ao reduzir o oxaloacetato a malato dentro da mitocôndria e formar NADH necessário para que a sequência de eventos possa continuar. Ambas as enzimas são ferramentas úteis ao predizer se o exercício aplicado foi um evento anaeróbico ou aeróbico e, se foi exaustivo ou não para o peixe. Além disso, a MDH serve de ferramenta indicativa de possível gliconeogênese.

Diferenças de atividades de LDH, PK (piruvato quinase) e GDH (glutamato desidrogenase) em matrinxã exercitado reforçam a hipótese que o exercício aeróbico diminui a oxidação protéica e aumenta a utilização de outras fontes energéticas para manter a atividade (HACKBARTH & MORAES, 2006).

Quando uma espécie de peixe possui habilidade para utilizar carboidratos e lipídeos como substrato energético, as proteínas podem ser direcionadas para o crescimento (DAVISON, 1997; WOOD, 2001; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007; MORAES et al., 2009). Diferentemente, durante o exercício submáximo as proteínas podem corresponder a cerca de 90 % do total de substratos utilizados (JÜRSS & BASTROP, 1995; WEBER & HAMAN, 1996), o que pode prejudicar o crescimento e comprometer as condições fisiológicas do animal (KIEFFER et al., 2001; HERNÁNDEZ et al., 2001).

Richards et al. (2002) evidenciaram que a truta arco-íris, ao nadar entre 55-85 % da Ucrit, oxida preferencialmente lipídeos, seguidos por carboidratos e depois proteínas. Em peixes exercitados a velocidades moderadas, a contribuição energética da oxidação protéica permanece a mesma, ou em alguns casos pode até diminuir (WOOD, 2001).

O exercício por si só é um estimulador da oxidação lipídica, sendo os músculos locomotores os principais consumidores desta fonte (MAGNONI et al., 2006). O aumento do catabolismo lipídico em peixes exercitados vem se tornando

um fato concreto, independente do habitat ou do hábito alimentar, visto os resultados mostrados por diversos autores (VAN DEN THILLART & VAN RAAJI, 1995; BERNARD et al., 1999; FORSTER & OGATA, 1996; OGATA & OKU, 2000; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007; HACKBARTH, 2010).

Truta arco-íris submetida ao exercício aeróbico, carboidratos e lipídeos suportam o dispêndio energético; mas quando não é submetida à atividade, são os carboidratos que contribuem primariamente como combustível oxidativo (RICHARDS et al., 2002). Bacalhau sob exercício aeróbico aumenta a oxidação de carboidratos e lipídeos (MARTÍNEZ et al., 2003). Davison (1997) afirma que o exercício estimula o metabolismo aeróbico, particularmente o que está envolvido com a oxidação de lipídeos. Matrinxãs submetidos à velocidade moderada também demonstram maior capacidade para metabolizar lipídeos seguidos de carboidratos (HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007).

Apesar dos peixes obterem energia através do metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas, acredita-se que exista preferência pelas proteínas (MOYES & WEST, 1995). No entanto, a quantidade de aminoácidos requerida está relacionada diretamente ao seu estado nutricional, variando de acordo com a espécie. São estas características que tornam as proteínas parte importante da dieta de peixes, especialmente dos carnívoros (VAN DEN THILLART & VAN RAAJI, 1995). A quantidade de aminoácidos tissulares está relacionada ao estado nutricional dos peixes e varia de acordo com a espécie; porém, a maior concentração de aminoácidos está no fígado, sendo este o principal regulador do seu metabolismo e fornecedor de substratos metabólicos através da gliconeogênese ou lipogênese. Muitos estudos utilizam a concentração de aminoácidos e a produção de amônia para inferir sobre o metabolismo protéico, apesar de estes metabólitos poderem sofrer influência da hipóxia e do exercício extenuante (MOYES & WEST, 1995).

As enzimas glutamato desidrogenase (GDH), alanina aminotransferase (ALAT) e aspartato aminotransferase (ASAT) estão envolvidas diretamente com a transdesaminação e maior ou menor catabolismo protéico, como já descrito anteriormente no item nutrição e metabolismo.

Trabalhos afirmam que as proteínas e os lipídeos parecem ser os combustíveis preferidos para suprir a demanda energética durante os exercícios mais intensos, e estima-se que as proteínas sejam responsáveis por 80 % de todo

substrato energético utilizado durante o repouso e 90 % durante o exercício (JÜRSS & BASTROP, 1995; VAN DEN THILLART & VAN RAAJI, 1995). Tal fato, no entanto, não parece ser observado em matrinxãs exercitadas, pois os mesmos não utilizam as proteínas como substrato energético de forma tão relevante em comparação aos peixes que não realizam exercício, sendo sua síntese maior que o seu catabolismo (HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007). Neste caso, os lipídeos assumem papel principal na manutenção energética, tanto para atender a demanda aumentada de energia dos músculos quanto para manter sua posição na correnteza da água (MORAES et al., 2009). Entretanto, se o peixe é exposto a velocidades de natação maiores do que aquela considerada adequada para sua espécie há maior redirecionamento de aminoácidos para os processos catabólicos. Sabe-se que para juvenis de matrinxã a velocidade sustentável recomendada para seu ótimo crescimento situa-se entre 1 a 1,5 CC/seg. Acima destas velocidades ocorre mobilização de aminoácidos para atender as demandas energéticas. Isto indica que velocidades de natação muito altas provocam efeitos danosos no metabolismo e, conseqüentemente, afetam o crescimento de matrinxã (MORAES et al., 2009).

Durante o exercício de longa duração, o uso de lipídios e carboidratos se torna maior, favorecendo o crescimento e o efeito poupador de proteína (YOUNG & CECH Jr, 1994; MOYES & WEST, 1995; FORSTER & OGATA, 1996; WEBER & HAMAN, 1996; DAVISON, 1997; OGATA & OKU, 2000; RICHARDS et al., 2002; WOOD, 2001). O aproveitamento dos nutrientes em pacu sob exercício é evidente. Os valores de TEP, GP e CAA sugerem que em pacu exercitado a 2 CC/seg as proteínas da dieta estão sendo direcionadas para o crescimento ao invés da manutenção energética. Estes pacus ingerem menos ração e utilizam melhor os nutrientes ofertados o que, conseqüentemente, leva ao maior ganho em peso. Os dados de CA mostram que pacus que nadam a 2 CC/seg consomem 15 % menos ração que os demais, indicando que o exercício, além de não estimular o aumento do consumo de alimento, também favorece seu aproveitamento para fins de crescimento. O mesmo fato é observado para outras espécies em exercício, nas quais o crescimento não é necessariamente devido ao maior consumo de alimento, mas sim, à capacidade de convertê-lo melhor (DAVISON, 1997; JOBLING, 1994; HACKBARTH & MORAES, 2006).

O conjunto de dados atuais sobre o nado aeróbico versus utilização de nutrientes reforça a idéia de que este tipo de exercício direciona as proteínas para o anabolismo, aumentando o desempenho produtivo (DAVISON, 1997). Os dados obtidos com pacu em exercício a 1 e 2 CC/seg são altamente sugestivos de que carboidratos e lipídios são utilizados não somente para atender a demanda imposta pela atividade física mas para maior aproveitamento das proteínas, fato já descrito para algumas espécies (THILLART & RAAVI, 1995; WEBER & HAMAR, 1996; FORSTER & OGATA, 1996; BERNARD et al., 1999; YOGATA & OKU, 2000; OGATA & OKU, 2000).

2.5 O pacu

O pacu, *Piaractus mesopotamicus*, é um peixe importante na piscicultura brasileira, destacando-se tanto em termos de rusticidade no manejo, pelo crescimento rápido, pela sua carne de excelente qualidade. Além disso, é uma espécie popular nos “pesque-pagues”, devido à facilidade de produção e esportividade na pesca (FERNANDES et al., 2000, ABIMORAD et al., 2007). Naturalmente, é encontrado nas Bacias dos rios Paraná, Paraguai e Uruguai (GODOY, 1975), sendo que sua maior distribuição ocorre nas planícies alagadas da região Centro-Oeste do Mato Grosso (PETRERE, 1989). É um dos peixes mais estudados no Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil e recebe os nomes de caranha, pacu-caranha ou pacu-guaçu (URBINATI & GONÇALVES, 2005). De acordo com Machado-Allison (1983) a classificação sistemática do pacu é:

Classe: OSTEICHTHYES;
Sub-classe: ACTINOPTERYGII;
Superordem: OSTARIOPHYSIS;
Ordem: CHARACIFORME;
Família: CHARACIDAE;
Sub-família: SERRALMINAE;
Gênero: *Piaractus*;
Espécie: *Piaractus mesopotamicus*.

Esta espécie de peixe é considerada de grande porte, atingindo 50 a 100 cm de comprimento padrão e, até 20 kg de peso. Quando jovens, possuem

coloração prateada, com máculas escuras no flanco. Os adultos são castanho escuro, com ventre amarelo-dourado. Possui corpo alto, discoidal, lateralmente comprimido, com escamas ventrais em forma de quilha serrilhada, formada por espinhos. As nadadeiras são escuras, a boca é terminal, com seis a oito dentes molariformes (SHIBATT & DIAS, 2006).

A espécie é onívora, alimentando-se, principalmente, de folhas, caules, flores, frutos e sementes e, quando necessário, de insetos, aracnídeos, moluscos e peixes (URBINATI & GONÇALVES, 2005). Segundo Shibatt & Dias (2006) a espécie alimenta-se preferencialmente durante o dia, buscando frutos que caem da vegetação ciliar, restos de vegetais, crustáceos e insetos. Devido ao seu hábito alimentar também é conhecido popularmente como *porco d'água* (DOMINGUES, 2009). A dentição dessa espécie é especializada em fragmentar e triturar os alimentos duros, especialmente frutos e sementes (SILVA, 1985; MENTÓN, 1989). No ambiente natural, o pacu não tem comportamento alimentar contínuo e seu ciclo de vida está estreitamente relacionado a períodos de alta ingestão de carboidratos, sofrendo flutuações de acordo com a disponibilidade do alimento, em conseqüências de variações ambientais e da migração reprodutiva (URBINATI & GONÇALVES, 2005). Os autores complementam que na estação chuvosa, o pacu permanece nas áreas de inundação, onde se alimenta de alimentos de origem vegetal; na seca, fica no leito dos rios, com pouca disponibilidade de alimento.

O pacu apresenta desova total e fecundação externa. As desovas ocorrem principalmente em novembro, e em menor ocorrência, nos meses de outubro e dezembro (estação chuvosa). O tamanho médio da primeira maturação gonadal, na fêmea é de 34 cm (comprimento total) e a idade média de 3 anos. À partir de 42 cm, 100 % da população estão aptas à reprodução, com aproximadamente 5 anos de idade (FERRAZ de LIMA et al., 1984).

A criação de pacu, bem como, da maior parte dos organismos aquáticos, depende principalmente de alimentos artificiais, e sua alimentação geralmente, constitui a fração elevada dos custos operacionais das pisciculturas (TACON, 1989). Assim sendo, os estudos sobre as exigências nutricionais das espécies aquáticas tornam-se indispensáveis ao desenvolvimento da aquicultura.

No Brasil, o aumento da produção de organismos aquáticos estimulou o avanço das indústrias de ração (URBINATI & GONÇALVES, 2005). A demanda por ração para peixes alcançou quase 180 mil toneladas e registrou crescimento de

15 % durante o primeiro semestre de 2009, em comparação com o mesmo período no ano anterior (SINDIRAÇÕES, 2009). No caso do pacu, este insumo pode representar 34,5 % (SCORVO FILHO et al., 1998) a 50,5 % (CHABALIN et al., 1988) do custo operacional total, de acordo com a tecnologia de produção empregada e a região em que se localizam as pisciculturas. Em termos de preço médio por kg em 2009 o pintado alcançou o maior valor (R\$ 13,52), seguido pelo piau (R\$ 6,91), a traíra (R\$ 5,32) e o pacu (R\$ 5,16) (ANUALPEC, 2010).

Vários estudos foram realizados com pacu a fim de encontrar teores de proteína bruta adequadas em diferentes faixas de peso vivo. Para pacus de 240,3 g de peso é recomendado dietas contendo 22 % PB e 4000 kcal ED kg⁻¹ de ração (CARNEIRO et al., 1992a), enquanto em juvenis de 7,9 g (FERNANDES et al., 2000) e de 112,1 g (FERNANDES et al., 2001), os níveis protéicos recomendados são de 26 e 22 %, respectivamente, com o mesmo nível de energia bruta (4200 kcal EB kg⁻¹ de ração). Cantelmo, (1993) recomenda para pacus de 27,9 g 26 % PB e 2600 kcal ED kg⁻¹ de ração. Esses estudos foram fundamentados em resposta do desempenho produtivo.

Fracalossi (2002) a partir de uma coletânea de dados calculou a relação PD:ED (proteína digestível:energia digestível) adequada que proporciona o melhor desempenho para o pacu e constatou que varia de 72 a 109 mg kcal⁻¹.

Em geral, os aminoácidos são indispensáveis na dieta e devem estar presentes em quantidade suficiente para manter a síntese protéica, principalmente os aminoácidos essenciais (AAE), que totalizam 11 nos peixes. As formulações de dieta para peixes devem suprir totalmente a quantidade de AAE, pois estes não são sintetizados pelo organismo (MENTÓN, 1989). Para o pacu alimentado com farelo de trigo e/ou farelo de soja, farinha de peixe e milho, a lisina e metionina são os AAE mais limitantes, pois tem as menores relações de AAE ingredientes/AAE filé (MUÑOZ-RAMÍREZ & CARNEIRO, 2000). Esse resultado foi obtido pela determinação da qualidade da proteína dos ingredientes citados anteriormente a partir da composição dos aminoácidos essenciais (AAE) e não-essenciais (AANE) de cada ingrediente. Desta maneira, foi possível determinar os aminoácidos limitantes nos alimentos, calculando-se o correspondente escore químico (EQ) e relacionando-o AAE de cada ingrediente com o padrão de AAE do filé de pacu.

O pacu é considerado uma espécie que aproveita bem a energia vinda dos carboidratos e lipídios (ABIMORAD et al., 2007). Pacus de 21,6 g arraçados

com dietas contendo 50 % de amido de cereais em formulações isoprotéicas (26 % PB) e isocalóricas (3900 kcal EB kg⁻¹ ração) apresentam melhor crescimento em relação aos que são alimentados com 35 % destes nutrientes (FIGUEREDO-GARUTTI, 1996). O autor relata que não há diferença na gordura corporal de pacus dos dois tratamentos (6,3 e 7,2 % para dietas com 35 e 50 % de carboidratos, respectivamente). A conversão alimentar para pacus de 28,6 e 32 g é de 1,79 e 1,65, respectivamente, quando usa-se dietas contendo 45 % de carboidratos (26 % PB e 4000 kcal EB kg⁻¹ de ração) (TAKAHASHI et al., 2003). A atividade enzimática da amilase em pacu (enzima que hidrolisa as moléculas de amido) é induzida de acordo com diferentes teores de carboidratos fornecidos na dieta (MORAES & BIDINOTTO, 1995). Os autores afirmam a relação entre os nutrientes e o perfil enzimático do trato digestório em peixes.

Pacus com peso inicial de 29,7 g alimentados com dieta contendo 25,6 % PB e 7 % de lipídeos possuem maiores ganho em peso, taxa de eficiência protéica e retenção de proteína (ALVES, 1998). O autor destaca que dietas contendo 3 % de lipídeos não atendem às exigências nutricionais dos juvenis de pacu e se observa maior consumo. Além disso, a dieta com 9 % de lipídeos limita a ingestão de ração nos animais.

Pacus de 45 g alimentados com dieta contendo 16 % de fibra bruta, 30 % PB e 3000 kcal ED kg⁻¹ de ração apresentam maiores ganhos em peso e comprimento e eficiência e menor conversão alimentar (ZANONI, 1996). A taxa de trânsito gastrointestinal é inversamente proporcional ao aumento da fibra bruta (16, 12, 8 e 4 % FB e 9h30min, 10, 11 e 12h horas, respectivamente).

3. JUSTIFICATIVA

O pacu é uma espécie que aproveita a energia advinda dos carboidratos e lipídios (ABIMORAD et al., 2007). Sabe-se que o exercício aeróbico de longa duração para peixes promove grande variedade de respostas fisiológicas, hematológicas, metabólicas, de crescimento e de comportamento. O exercício aeróbico de longa duração é um procedimento que pode contribuir significativamente para a criação mais eficiente de peixes. Esta prática melhora o crescimento, pois os animais utilizam com maior eficiência os carboidratos e lipídeos para demanda energética e direciona proteína para síntese. Porém, o fator nutricional é importante para o desenvolvimento e crescimento dos peixes. Portanto, uma dieta balanceada é capaz de influenciar o comportamento, a integridade estrutural, a saúde, as funções fisiológicas, a reprodução e o crescimento dos peixes. Considerando-se esses fatos, a combinação dos níveis de proteína na dieta e do exercício aeróbico de longa duração poderia promover mudanças adaptativas, metabólicas e fisiológicas, capazes de beneficiar a saúde e o desempenho produtivo.

3.1. Hipóteses

Em vista do exposto, as hipóteses desta pesquisa foram:

1. A utilização de dietas com menores teores de proteína, associada à natação aeróbica, aumenta a oxidação dos metabólitos não-nitrogenados em pacu.
2. A utilização de dietas com menores teores de proteína, associada à natação aeróbica redireciona as proteínas em favor do crescimento em pacu.

3.2. Estratégia experimental

Para testar essas hipóteses foram avaliadas as respostas de crescimento, hematológicas e metabólicas de pacu exercitado em velocidade adequada, em associação à alimentação com dietas contendo diferentes teores de proteína bruta.

3.3. Objetivos

- 1) Avaliar o crescimento de pacu submetido ao exercício aeróbico e alimentados com diferentes teores de proteína bruta;
- 2) Avaliar os efeitos da associação de teores diferentes de proteína bruta da dieta e do exercício aeróbico em pacu através das respostas dos índices hepatossomático e víscerosomático, hematológicas e metabólicas;
- 3) Obter o teor adequado de proteína bruta da dieta para pacu submetido ao exercício aeróbico.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Juvenis de pacu, obtidos na Piscicultura São Geraldo, Sertãozinho, SP, foram transportados para as dependências do laboratório de Bioquímica Adaptativa de Peixes de Água Doce, do Departamento de Genética e Evolução da Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, São Carlos, SP. Este experimento ocorreu no período de fevereiro a abril de 2009. Os peixes foram aclimatados por 20 dias em tanques de 2000 L, sob fluxo contínuo, aeração constante e temperatura da água de 28 ± 1 °C. Após o período de aclimação, 90 juvenis de pacus com peso médio de $23,9 \pm 4,7$ g e comprimento total médio de $10,6 \pm 0,77$ cm foram anestesiados com eugenol (INOUE et al., 2003), submetidos à biometria e marcados com “transponders” de identificação (Animal TAG) implantados na cavidade abdominal. Cada peixe recebeu um número específico, identificável através de leitor, o que permitiu o acompanhamento individual durante o período experimental. Após estas intervenções, os peixes passaram por quatro dias de recuperação.

4.1. Dietas experimentais

As dietas experimentais foram formuladas através de programa de formulação de ração para pacus feito no Microsoft Office Excel. Os valores de carboidratos e lipídeos foram determinados com base em resultados de crescimento de pacus (MORAES et al., 2009), considerados adequados sob condição de exercício.

Os ingredientes da ração foram analisados quanto ao conteúdo nutricional (proteína bruta, lipídeos, fibra bruta, extrativo não-nitrogenado, matéria seca, matéria mineral e energia bruta) no Laboratório de Nutrição Animal (LANA) da Universidade Estadual Paulista – UNESP, Jaboticabal, SP, conforme metodologia descrita pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1990). Os valores nutricionais dos ingredientes serviram de base para os cálculos das dietas. Foram elaboradas três dietas experimentais (Tabela 1), todas com 15 % de lipídeos totais (LT) e 25 % de extrativo não-nitrogenado (ENN). Foram utilizados níveis crescentes de proteína bruta (PB): 24, 28 e 32 %. A energia bruta de cada uma das três rações foi: 3933, 4003 e 4222 kcal kg⁻¹, respectivamente. As dietas experimentais foram confeccionadas no laboratório de Bioquímica Adaptativa, utilizando-se processo de

extrusão com umidade de 10 %. Posteriormente, as dietas foram secadas em estufa com circulação forçada de ar, por 6 horas a 55 °C, resfriadas à temperatura ambiente, e conservadas em refrigeração em -20 °C. Por fim, analisou-se a composição bromatológica das dietas experimentais no Laboratório de Nutrição Animal (LANA) da Universidade Estadual Paulista – UNESP, Jaboticabal, SP para confirmação dos valores nutricionais.

Tabela 1. Composição bromatológica das dietas experimentais.

Ingredientes	Níveis de proteína bruta da dieta (%)		
	24	28	32
Milho (%)	24	24	24
Quirera de arroz (%)	5	5	5
Farelo de soja (%)	14,5	11	10,1
Farinha de peixe (%)	26	33	41
Óleo de soja (%)	13	12	11,6
Premix vitamínico e mineral ¹ (%)	2	2	2
CMC (carboximetilcelulose) (%)	15,5	12,3	6,8
Composição de nutrientes das dietas			
Matéria seca (MS) (%)	90,7	90,6	90,6
Proteína bruta (PB) (%)	24,1	28,1	32,0
Lipídeos totais (LT) (%)	15,7	15,1	15,1
Extrato não-nitrogenado (ENN) (%)	25,7	25,03	25,03
Fibra bruta (FB) (%)	15,7	12,5	7,2
Matéria mineral (MN) (%)	7,6	7,9	9,4
Energia bruta (EB)	3933	4003	4222
Relação EB:PB	163,2	142,4	131,9
Relação CHO:Lip	1,63	1,65	1,65
Relação CHO:PB	1,06	0,89	0,78

Valores apresentados em porcentagem. Energia bruta em kcal kg⁻¹ de ração. ¹ Rovimix Peixe – Roche® (ingrediente/kg suplemento): Vitaminas: A = 5000.000 UI, D3 = 200.000 UI, E = 5.000 UI, K3 = 1.000 mg, B1 (tiamina) = 1.500 mg, B2 (riboflavina) = 1.500 mg, B6 (piridoxina) = 1.500 mg, B12 = 4.000 mg, C = 15.000 mg, Ácido Fólico = 500 mg, Ácido Pantotênico = 4.000 mg, B.H.T. = 12,25 g, Biotina = 50 mg, Inositol = 1.000 mg, Nicotinamida = 7.000 mg, Colina = 40 g, Cobalto = 10 mg, Cobre = 500 mg, Ferro = 5000 mg, Iodo = 50 mg, Manganês = 1.500 mg, Selênio = 10 mg, Zinco = 5.000 mg, veículo q.s.p. = 1.000 g.

4.2. Desenho experimental

Os 90 juvenis de pacu foram igualmente divididos em seis caixas circulares com capacidade para 200 L, dotadas de abastecimento contínuo e aeração constante, tendo se estabelecido o seguinte protocolo experimental: Três grupos denominados SE24, SE28 e SE32 não realizaram atividade natatória aeróbica e receberam, respectivamente, dietas contendo 24, 28 e 32% de PB e três

outros grupos denominados E24, E28 e E32 foram submetidos à atividade natatória aeróbica e alimentados, respectivamente, com as mesmas dietas do grupo anterior. A alimentação era fornecida três vezes ao dia até a saciedade. A atividade natatória foi de 2 CC seg^{-1} (dois comprimentos corporais por segundo) durante 45 dias. A velocidade de nado foi previamente determinada e escolhida por ser considerada adequada à espécie (MORAES et al., 2009). É importante ressaltar, que os peixes não eram forçados a nadar continuamente contra a corrente, pois esporadicamente ou durante a alimentação eles repousavam nadando a favor da corrente ou eram levados pela mesma.

Os tanques de natação foram devidamente adaptados para a realização deste protocolo. Cada tanque circular de 200 L está interligado a um bio-filtro através de um cano, pelo qual passa a água do sistema. Após filtragem, a água era devolvida aos tanques por meio de torneira exclusiva para cada tanque. Os tanques em que os peixes não realizavam exercício (controle) recebiam entrada de água da mesma qualidade dos tanques de exercício e continuamente, de modo a não alterar as condições ambientais dos peixes que não se exercitavam. A diferença entre os tanques é que nos de exercício foram introduzidos dois canos com vários furos (um na posição horizontal e outro na vertical), os quais promoviam a distribuição da água em forma de corrente. O fluxo de entrada da água era regulado pela vazão da torneira, permitindo que a velocidade de correnteza da água fosse controlada. A figura 2 apresenta um esquema dos tanques de natação aeróbica.

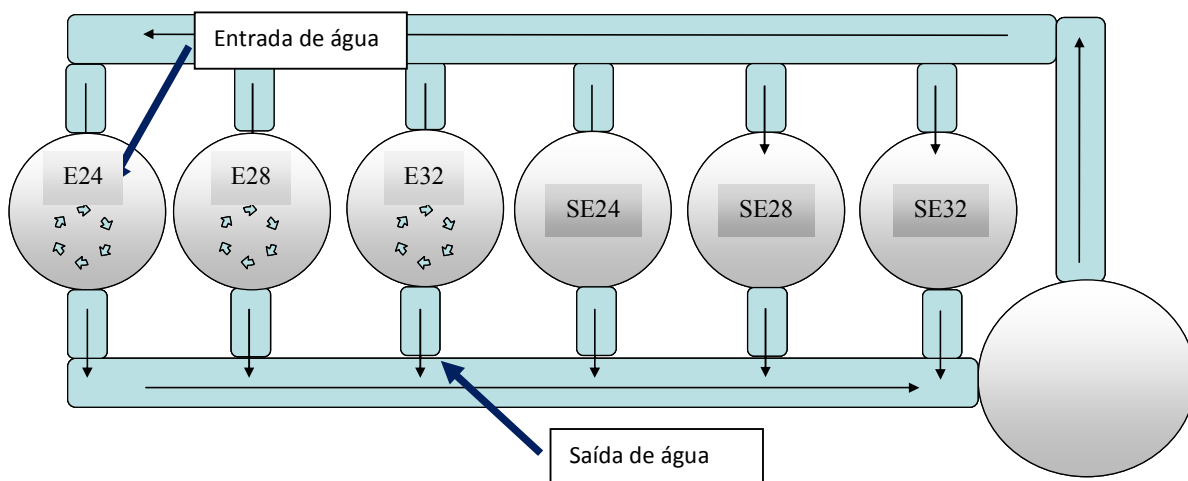


Figura 2. Esquema do sistema de exercício do laboratório de Bioquímica Adaptativa da UFSCar (São Carlos, SP). Adaptado de HACKBARTH (2010).

A velocidade de correnteza da água foi determinada por fluxômetro mecânico (General Oceanics Inc.) e controlada em cada tanque, sendo reavaliada em dias alternados. O reajuste de velocidade foi feito no momento da segunda biometria, 22 dias após o início do experimento. A velocidade de nado foi mensurada por fluxômetro mecânico (General Oceanics Inc) e expressa em comprimentos corporais/segundo ($CC \text{ seg}^{-1}$), sendo calculada por regra de proporção simples. Em síntese, um peixe com 11 cm de comprimento total dá 115 voltas medidas no fluxômetro durante 1 minuto, que equivale 1 CC seg^{-1} . A partir daí, aplica-se uma regra de proporção simples utilizando-se a média do comprimento total dos peixes do experimento e multiplica-se o resultado por 2, que equivale $2CC \text{ seg}^{-1}$.

As variáveis físicas e químicas de qualidade de água: temperatura: $27,9 \pm 1,8 \text{ }^\circ\text{C}$; oxigênio dissolvido: $6,01 \pm 0,39 \text{ mgL}^{-1}$; amônia: $0,05 \pm 0,0001 \text{ mgL}^{-1}$; pH $7,1 \pm 0,61$ foram mantidas constantes sendo estas as condições ideais para a espécie.

Após o período experimental, oito peixes de cada tratamento foram anestesiados com eugenol (INOUE et al., 2003) e amostrados, seguindo-se: biometria, coleta de sangue para análise das variáveis hematológicas e obtenção de plasma, excisão de fígado, músculo branco e músculo vermelho. Partes dos tecidos foram imediatamente congelados em nitrogênio líquido e armazenados parte a $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ para uso em análises bioquímicas posteriores e a outra parte conservada a $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ para os ensaios enzimáticos.

4.3. Procedimentos analíticos

Foram avaliados o desempenho produtivo, variáveis hematológicas, intermediários metabólicos, atividades enzimáticas e os índices hepatossomático e víscerosomático.

4.4. Variáveis de desempenho produtivo

A partir dos dados de biometria e da quantificação da dieta consumida foram calculadas as seguintes variáveis de desempenho: a) Ganho em peso diário (GPD), em gramas: $GPD = (\text{Peso final} - \text{Peso inicial}) / \text{Dias}$; b) Ganho em comprimento total (GCT), em centímetros: $GCT = (\text{Comprimento total final} -$

Comprimento total inicial)/ dias; c) Ganho em altura (GA), em centímetros: $GA = (\text{Altura final} - \text{Altura inicial}) / \text{dias}$; d) Conversão alimentar (CA): $CA = \text{Consumo de alimento total} / \text{ganho em peso}$; e) Taxa de crescimento específico (TCE): $TCE = (\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial}) \times 100 / \text{dias}$; f) Taxa de eficiência protéica (TEP): $TEP = \text{Ganho em peso} / \text{proteína bruta consumida}$.

4.5. Índices Hepatosomático e Viscerosomático

Ao final do experimento quatro peixes de cada tratamento foram capturados, pesados, anestesiados com eugenol e abatidos com gelo para a retirada do fígado e vísceras para determinação dos índices hepatossomático [IHS = (peso do fígado (g)/peso corporal (g)) x 100] e viscerossomático [IVS = (peso das vísceras (g)/peso corporal (g)) x 100].

4.6. Variáveis hematológicas

As variáveis hematológicas avaliadas foram: hematócrito (Ht) (GOLDENFARB et al., 1971), hemoglobina total (Hb) (DRABKIN, 1948) e RBC (contagem de eritrócitos) (LIMA et al., 1969).

4.6.1. Hematócrito (Ht)

Amostras de sangue foram transferidas para tubos de microhematócrito heparinizado, fechado com massa apropriada, centrifugados por três minutos a 12.000 x g. A porcentagem de sedimentação dos eritrócitos foi lida em cartão padronizado.

4.6.2. Hemoglobina total (Hb)

A hemoglobina total (Hb) foi determinada adicionando-se 10 µL de sangue em 2 mL de solução de Drabkin (KCN/ KH₂PO₄/ K₃[Fe(CN)₆] em água destilada. A densidade óptica foi determinada em 540nm (DRABKIN, 1948).

4.6.3. Contagem de eritrócitos (RBC)

Foram diluídos 10 µL de sangue, em 2 mL de solução de citrato-formol (isotônica) e desta mistura 10 µL para a contagem em microscópio de luz, em câmara de Neubauer (LIMA et al., 1969).

4.6.4. Índices hematimétricos

A partir das variáveis hematológicas foram calculados os índices hematimétricos (LIMA et al, 1969): a) HCM (hemoglobina corpuscular média) = HCM (pg/célula) = Hb total (g%)/ RBC (milhões/mm³); b) VCM (volume corpuscular médio): $VCM \mu\text{mm}^3 = (\text{Ht} (\%)/\text{RBC} (\text{milhões}/\text{mm}^3) \times 100$; c) CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média) = CHCM (%) = (Hb total (g%)/Ht (%))x100.

4.7. Intermediários metabólicos e enzimas

No plasma foram quantificados: ácidos graxos livres (AGL), triacilgliceróis (TG), aminoácidos livres (AAL), proteína total, amônia, glicose, piruvato e lactato. No fígado, músculo branco e músculo vermelho as análises foram: AGL, TG, AAL, proteína total, amônia, teor de glicogênio, glicose, lactato, piruvato. As determinações enzimáticas em fígado, músculo branco e músculo vermelho foram: lactato desidrogenase (LDH), malato desidrogenase (MDH) (somente no músculo vermelho), alanina aminotransferase (ALAT) e aspartato aminotransferase (ASAT). Esses variáveis foram determinados em extratos celulares neutros ou ácidos.

4.7.1. Preparação dos extratos ácidos e neutros

Para obtenção dos extratos ácidos foi adicionado 1 mL de ácido tricloroacético (TCA) 20 % em quantidade padronizada de plasma e a mistura centrifugada por três minutos a 12.000 x g. O sobrenadante foi utilizado como extrato celular. Fígado, músculos branco e vermelho foram pesados em quantidades padronizadas para as determinações dos intermediários metabólicos. Os tecidos foram homogeneizados em homogeneizador rotativo a 1.000 rpm, sob banho de

gelo, seguido de centrifugação por três minutos a 12.000 x *g*. Os sobrenadantes foram utilizados como extratos celulares ácidos.

Para confecção dos extratos neutros, alíquotas de plasma, fígado, músculos branco e vermelho foram diluídos na proporção de 1:10 com água destilada. Os tecidos foram homogeneizados como descrito anteriormente, seguido de centrifugação por três minutos a 12.000 x *g*, e os sobrenadantes utilizados como extratos celulares neutros.

4.8. Metabolismo intermediário

4.8.1. Glicogênio

O glicogênio foi determinado conforme descrito por Bidinotto et al. (1997). Amostras de fígado, músculo branco e músculo vermelho foram transferidas para tubos de ensaio contendo 1,0 mL de KOH 6,0 N e incubados por cinco minutos em banho-maria a 100 °C. Em seguida, 250 µL de extrato foram transferidos para tubos onde foram adicionados 3 mL de etanol e 100 µL de K₂SO₄ 10 %, seguidos de agitação. As amostras foram centrifugadas a 3.000 x *g* por três minutos e o precipitado re-suspenso em 2,5 mL de água destilada, seguido de agitação. Em volume adequado desta dissolução foi determinado o teor de açúcares totais redutores (DUBOIS et al., 1956).

4.8.2. Glicose

Os teores de glicose foram mensurados através do método da glicose oxidase (TRINDER, 1969). Em princípio, a glicose reagindo com o oxigênio e com a água, libera ácido glucônico e peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio, reagindo com 4-aminoantipirina e fenol sob a ação catalisadora da peroxidase através da reação oxidativa de acoplamento, forma a antipirilquinonímia vermelha que é quantificada em 525 nm contra o padrão contendo 25 nmols de glicose.

4.8.3. Lactato

O lactato foi quantificado no extrato ácido pelo método de Harrower & Brown (1972). O volume padronizado de extrato era adicionado a 20 µL de

$\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 4 %, 3,5 mL de ácido sulfúrico concentrado e 80 μL de p-fenilfenol (1,5 g de p-fenilfenol em solução aquosa de NaOH 2 %). Após uma hora, os tubos eram fervidos por 90 segundos e imediatamente após, resfriados em banho de água. Foi utilizado padrão de lactato contendo 20 nmols e a leitura óptica, realizada em 570 nm.

4.8.4. Piruvato

O piruvato foi determinado em extrato ácido segundo Lu (1939). Volume padronizado de extrato era adicionado a 250 μL de dinitrofenilhidrazina 0,1 % em HCL 2,0 N. Após 30 minutos de repouso, a 37 °C, eram adicionados 3 mL de NaOH 1,3 N e a leitura óptica era efetuada em 440 nm, contra o padrão de piruvato contendo 100 nmols.

4.8.5. Proteína total

Os teores de proteína total foram determinados pelo método de Bradford et al. (1976). Este método consiste na mistura de 10 μl de plasma, ou extrato neutro hepático ou muscular previamente diluídos em água, com o reativo de Bradford. Após essa mistura ter sido incubada a 25 °C por 5 minutos, a leitura óptica das amostras é feita em leitor de micro-placas (Molecular Devices) a 620 nm e a concentração de proteína, estimada contra a solução padrão de albumina 1 mg mL⁻¹. O extrato das amostras de plasma e fígado para as determinações de proteína era diluído 50 vezes, o de músculo branco 5 vezes e o de músculo vermelho era utilizado puro.

O reagente de Bradford é composto de 100 mg de Comassie blue G250 em 50 mL de etanol 95 %. A essa solução são adicionados 100 mL de ácido fosfórico 85 % e o volume completado para 1 L com água destilada.

4.8.6. Aminoácidos livres

Os aminoácidos livres foram determinados pelo método de Copley (1941) em que se utiliza volume padronizado de plasma, ou de extrato neutro de fígado ou músculo. As amostras de plasma ou os extratos foram transferidos para

tubos de ensaio e adicionados de 2 mL de ninhidrina 0,1 % em propanol. Os tubos foram vedados e então colocados sob banho-maria a 40 °C, por 40 minutos. Após este período, a leitura óptica foi realizada em 570 nm contra padrão contendo 100 nmols de ácido aminoacético.

4.8.7. Amônia

O volume adequado de extrato ácido (plasma ou tecido) era transferido para tubos de ensaio contendo água destilada com volume final de 2 mL e adicionado 0,5 mL de reativo de Nessler (GENTZKOW & MASEN, 1942). A leitura óptica era realizada em 420 nm, contra padrão de amônia contendo 100 nmols.

4.8.8. Triacilgliceróis

A determinação de triacilgliceróis foi feita com o Kit Labtest Liquiform. Em um volume de 10 µL de plasma total ou de extrato neutro de fígado e músculo branco, eram adicionados 190 µL de reativo do Kit. Após esta mistura ser incubada a 37 °C por 10 minutos, a leitura das amostras era feita em 525 nm em um leitor de micro-placas (Termomax[®], Molecular Devices). A leitura foi realizada contra um padrão de triacilgliceróis contendo 200mg dL⁻¹. As concentrações de triacilglicerol das amostras estão expressas em mg g⁻¹ de tecido ou mg mL⁻¹ de plasma.

4.8.9. Ácidos graxos livres

A determinação de ácidos graxos livres foi feita segundo Norvák (1965). Às amostras de plasma e tecidos era adicionado 1,0 mL de solução Dole (heptana, álcool isopropílico e ácido sulfúrico 1 N na proporção de 1:4:0,1) seguida de agitação. Posteriormente, eram adicionados 1,0 mL de heptano e 2,0 mL de água destilada, agitando-se novamente por inversão. Da fase superior de cada amostra eram retirados 600 µL e adicionados à mistura de clorofórmio e heptano (5:1 v/v) mais 1,0 mL de reagente de cobalto (1,32 volumes de trietanolamina mais 10 volumes de solução A- solução saturada de K₂SO₄, 6 g de nitrato de cobalto e 0,8 mL de ácido acético glacial) mais 7 volumes de solução B (solução saturada de Na₂SO₄). As amostras eram fortemente agitadas e centrifugadas por dois minutos a

3.000 x g. Desta mistura, era retirada uma alíquota de 600 µL à qual se adicionavam 600 µL de solução indicadora (0,4 % de α -nitroso- β -naftol em etanol, diluída 12,5 vezes). A leitura óptica era realizada em 500 nm contra um padrão de ácido palmítico 0,4 mM.

4.9. Enzimas do metabolismo intermediário

O tampão de homogeneização utilizado nas determinações das enzimas do metabolismo intermediário foi tampão fosfato 10 mM/TRIS 20 mM pH 7,0, em glicerina 50 % na proporção de 50 mg de tecido/mL de tampão. As amostras foram homogeneizadas por 15 segundos em banho de gelo. Em seguida, os extratos foram centrifugados a 600 x g por três minutos a 4 °C e o sobrenadante, submetido à nova centrifugação por oito minutos a 6000 x g. O sobrenadante foi utilizado como fonte enzimática. O conteúdo de proteínas dos extratos enzimáticos foi determinado pelo método de Bradford (1976). Os protocolos de enzimas foram determinados de acordo com Hochachka et al. (1978)

4.9.1. Lactato desidrogenase (LDH)

A atividade enzimática de LDH foi determinada por ensaios cinéticos nos homogeneizados de músculo branco, músculo vermelho e fígado (HOCHACHKA et al., 1978). Resumidamente, a determinação consistia da transformação de piruvato 30 mM em lactato observando-se a extinção de $\text{NADH} + \text{H}^+$ em 340nm. A atividade da LDH está expressa em unidades (UI) por miligrama de proteína. Uma UI foi definida como a quantidade de enzima capaz de consumir 1µmol de NADH hidrolisado por minuto. O coeficiente de extinção molar utilizado para o NADH foi de 0,85510/mM.cm. $\epsilon_{(340)}\text{NADH} = 6,22 \times 10^6 \text{M} \times \text{cm}^{-1}$.

4.9.2. Alanina aminotransferase (ALAT)

A atividade de ALAT foi determinada em fígado e músculo pelo método cinético segundo BERGMAYER et al., (1978). Essa determinação consiste na transaminação de alanina (500mM) e α -cetoglutarato (200mM), em tampão Tris

(100mM) pH 7,5, com a formação de piruvato e posterior redução a lactato através de LDH exógena (0,1UI) determinando-se a extinção de NADH+H⁺ em 340nm. A atividade da ALAT foi expressa em unidades (UI) por miligrama de proteína. Uma UI foi definida como a quantidade de enzima capaz de hidrolizar 1μmol de NADH por minuto. O coeficiente de extinção molar utilizado para o cálculo foi de 0,85510/mM.cm. $\epsilon_{(340)}\text{NADH} = 6,22 \times 10^6 \text{M} \times \text{cm}^{-1}$.

4.9.3. Aspartato aminotransferase (ASAT)

A atividade de ASAT foi determinada em fígado, músculo branco e vermelho, por método cinético segundo BERGMAYER et al., (1978). Essa determinação consiste na transaminação de aspartato 220mM e α-cetoglutarato 200mM em tampão Tris 80mM, pH 7,8, com a formação de oxaloacetato e posterior redução a malato através de MDH exógena (0,1UI) determinando-se a extinção de NADH+H⁺ em 340nm. A atividade ASAT está expressa em unidades (UI) por miligrama de proteína. Uma UI foi definida como a quantidade de enzima capaz de consumir 1μmol de NADH por minuto. O coeficiente de extinção molar utilizado para o cálculo foi de 0,85510/mM.cm. $\epsilon_{(340)}\text{NADH} = 6,22 \times 10^6 \text{M} \times \text{cm}^{-1}$.

4.9.4. Malato desidrogenase (MDH)

Esse método baseia-se na redução do NAD acompanhada opticamente a 340 nm. A uma solução de malato 250 mM eram adicionados 3,6 mM de NAD em tampão TRIS pH 7,5 e volume adequado de extrato celular. A formação de NADH era monitorada em 340 nm. A atividade da MDH está expressa em unidades (UI) por miligrama de proteína. Uma UI foi definida como a quantidade de enzima capaz de consumir 1μmol de NADH hidrolisado por minuto. O coeficiente de extinção molar utilizado para o NADH foi de 0,85510/mM.cm. $\epsilon_{(340)}\text{NADH} = 6,22 \times 10^6 \text{M} \times \text{cm}^{-1}$.

4.10. Delineamento experimental e análises estatísticas

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 2 x 3, com seis tratamentos, constituído de duas atividades

natatórias (exercitados e não-exercitados) e três níveis de PB na dieta (24, 28 e 32 %). Cada peixe foi considerado uma unidade experimental. O programa SAS v.8.0 (SAS, 2001) foi empregado na análise estatística dos dados. Foram realizados os pré-testes de normalidade e homogeneidade, seguidos pela análise de variância (TWO-WAY ANOVA). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os resultados foram apresentados levando-se em conta três comparações: 1) entre os peixes não-exercitados; 2) entre os peixes exercitados; 3) e entre os peixes exercitados e os peixes não-exercitados alimentados com os mesmos níveis de proteína.

5. RESULTADOS

5.1. Efeitos dos níveis de proteína da dieta em pacus não-exercitados

Desempenho produtivo

Os resultados de desempenho produtivo dos pacus não-exercitados estão apresentados na Tabela 2. Observa-se que os pacus não-exercitados houve diferença significativa somente para a variável TEP, onde os maiores valores foram encontrados no tratamento SE24.

Tabela 2. Desempenho produtivo de *P. mesopotamicus* não-exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína bruta.

Variáveis	Tratamentos		
	SE24	SE28	SE32
GPD	1,97 ± 0,37	1,86 ± 0,29	1,87 ± 0,42
GA	3,80 ± 0,5	3,78 ± 0,67	3,68 ± 0,54
GCT	6,61 ± 1,4	6,90 ± 0,9	6,28 ± 0,67
CA	0,83 ± 0,1	0,85 ± 0,1	0,73 ± 0,1
TCE	3,18 ± 0,42	3,42 ± 0,33	3,10 ± 0,46
TEP	3,70 ± 0,69 A	3,00 ± 0,46 B	2,62 ± 0,59 B

n= 15; média ± desvio padrão. GPD= ganho em peso diário (g/dia); GA = ganho em altura (cm); GCT = ganho em comprimento total (cm); CA= conversão alimentar; TCE = taxa crescimento específico; TEP= taxa de eficiência protéica. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey (P < 0,05).

Índice hepatossomático e viscerossomático

Os resultados dos índices hepatossomáticos e viscerossomáticos estão apresentados na Tabela 3. Verifica-se que não houve diferença significativa do IHS entre os tratamentos. No entanto, houve diferença significativa do IVS entre os tratamentos, sendo o maior valor de IVS foi encontrado no SE28.

Tabela 3. Índices hepatossomático e viscerossomático de *P. mesopotamicus* não-exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína bruta.

Variável	Tratamentos		
	SE24	SE28	SE32
IHS	0,78 ± 0,24	0,88 ± 0,49	0,81 ± 0,14
IVS	6,43 ± 0,74 B	7,02 ± 0,28 A	5,88 ± 0,51 B

n= 15; média ± desvio padrão. IHS= Índice hepatossomático (%); IVS= Índice viscerossomático (%). Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey (P < 0,05).

Hematologia

Com relação aos resultados hematológicos dos pacus não-exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína verificou-se que os maiores valores de hematócrito em SE24 e SE28 e de RBC foram maiores em SE28 e SE32. No tratamento SE32 registraram-se maior CHCM e menor VCM (Tabela 5).

Tabela 4. Respostas hematológicas de *P. mesopotamicus* não-exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína bruta.

Variáveis hematológicas	Tratamentos		
	SE24	SE28	SE32
Ht (%)	30,62 ± 2,83 AB	31,87 ± 1,09 A	28,37 ± 3,40 B
Hb (g%)	7,96 ± 1,01	8,37 ± 0,60	8,23 ± 1,15
RBC (10 ⁶ /mm ³)	1,86 ± 0,32 B	2,06 ± 0,27 A	2,38 ± 0,49 A
VCM (μ ³)	168,87 ± 43,35 A	156,92 ± 18,28 A	126,27 ± 42,22 B
CHCM (%)	26,01 ± 2,53 B	26,32 ± 1,39 B	29,77 ± 1,83 A
HCM (μg)	43,56 ± 7,24	41,20 ± 5,30	35,99 ± 9,00

n= 8; média ± desvio padrão. Ht= hematócrito; Hb= hemoglobina total; RBC= contagem de eritrócitos; VCM= volume corpuscular médio; CHCM= concentração de hemoglobina corpuscular média; HCM= hemoglobina corpuscular média. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey (P < 0,05).

Metabolismo

Os dados de intermediário metabólicos do plasma de pacus não-exercitados estão apresentados na Tabela 5. Foram observados no tratamento SE32 maiores concentração de amônia. Com relação à concentração de proteína plasmática verificaram-se maiores valores para os pacus dos tratamentos SE24 e SE32. O maior valor de lactato plasmático foi verificado no SE28. Os maiores

valores de AGL foram observados nos pacus do tratamento SE32 e de TG nos tratamentos SE24 e SE28.

Tabela 5. Respostas metabólicas plasmáticas de *P. mesopotamicus* não-exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína bruta.

Variáveis Metabólicas	Tratamentos		
	SE24	SE28	SE32
Amônia	3,42 ± 1,65 B	5,21 ± 1,58 B	7,40 ± 0,97 A
AAL	9,81 ± 3,32	10,53 ± 2,00	12,84 ± 1,36
Proteína	7,89 ± 0,80 A	5,14 ± 1,13 B	6,88 ± 1,39 A
Glicose	2,56 ± 0,23	2,84 ± 0,36	1,88 ± 0,21
Piruvato	0,32 ± 0,06	0,39 ± 0,06	0,47 ± 0,19
Lactato	5,91 ± 2,18 B	9,78 ± 2,90 A	5,87 ± 1,27 B
AGL	0,09 ± 0,02 B	0,08 ± 0,02 B	0,24 ± 0,03 A
TG	3,75 ± 0,57 A	3,15 ± 0,94 A	2,46 ± 0,34 B

n= 8; média ± desvio padrão. AAL= aminoácidos livres; AGL= ácidos graxos livres; TG= triacilgliceróis. Amônia, AAL, piruvato, lactato e AGL= $\mu\text{mol/mL}$; TG, proteína e glicose = mg/mL . Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$).

Os resultados dos intermediários metabólicos do fígado estão apresentados na Tabela 6. Observaram-se maiores valores de AAL hepáticos nos pacus dos tratamentos SE28 e SE32. As maiores concentrações de glicogênio e glicose foram observadas nos pacus dos tratamentos SE24 e SE32. As maiores concentrações de AGL foram encontradas no tratamento SE32 e TG nos tratamentos SE28 e SE32.

Tabela 6. Respostas metabólicas hepáticas de *P. mesopotamicus* não-exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína bruta.

Variáveis Metabólicas	Tratamentos		
	SE24	SE28	SE32
Amônia	109,31 ± 13,6	89,39 ± 7,95	111,84 ± 7,69
AAL	52,86 ± 8,45 B	63,68 ± 8,85 A	53,27 ± 7,99 A
Proteína	92,30 ± 15,05	108,11 ± 11,46	119,75 ± 9,56
Glicose	60,75 ± 8,20 A	43,59 ± 7,72 B	63,78 ± 8,22 A
Piruvato	0,27 ± 0,02	0,25 ± 0,02	0,24 ± 0,03
Lactato	14,25 ± 1,14	13,39 ± 1,33	12,79 ± 1,87
Glicogênio	31,10 ± 7,0 A	15,80 ± 5,0 B	30,1 ± 7,0 A
AGL	2,92 ± 0,33 B	2,98 ± 0,48 B	5,03 ± 0,49 A
TG	3,30 ± 0,9 B	4,88 ± 0,66 A	4,31 ± 0,62 A

n= 8; média ± desvio padrão. AAL= aminoácidos livres; AGL= ácidos graxos livres; TG= triacilgliceróis. Amônia, AAL, piruvato, lactato e AGL= $\mu\text{mol/g}$; TG, proteína e glicose = mg/g ; Glicogênio= $\mu\text{molglicosil/mg}$ de tecido. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$).

Os resultados dos intermediários metabólicos do músculo branco e vermelho de pacus não-exercitados alimentados com diferentes teores de proteína estão apresentados na Tabela 7. No músculo branco de pacus não-exercitados observaram-se maiores concentrações de amônia no tratamento SE28 e AAL no tratamento SE32. Com relação à concentração de lactato observa-se maior valor no tratamento SE24. No entanto, no músculo vermelho foram observados maiores concentrações de AAL no tratamento SE32 e de proteína no tratamento SE24 e; o tratamento SE28 foi significativamente semelhante ao tratamento SE24 e SE32. As maiores concentrações de piruvato foram observadas no tratamento SE24 e para lactato nos tratamentos SE28 e SE32.

Tabela 7. Respostas metabólicas no músculo branco e vermelho de *P. mesopotamicus* não-exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína.

Tecido/ Metabólicos	Tratamentos		
	SE24	SE28	SE32
Músculo branco			
Amônia	73,27 ± 10,16 B	114,5 ± 13,41 A	84,54 ± 12,92 B
AAL	19,78 ± 2,55 B	21,59 ± 2,32 B	25,07 ± 3,23 A
Proteína	22,96 ± 1,78	21,20 ± 1,47	24,54 ± 3,79
Glicose	3,08 ± 0,52	3,85 ± 0,50	3,87 ± 0,55
Piruvato	0,21 ± 0,02	0,23 ± 0,02	0,24 ± 0,05
Lactato	48,19 ± 8,24 A	31,07 ± 8,32 B	13,16 ± 6,0 C
Glicogênio	1,57 ± 0,21	1,59 ± 0,29	1,46 ± 0,10
AGL	0,48 ± 0,11	0,60 ± 0,12	0,66 ± 0,18
TG	1,30 ± 0,21	1,16 ± 0,28	1,41 ± 0,21
Músculo vermelho			
Amônia	59,90 ± 8,49	63,94 ± 5,81	64,89 ± 8,22
AAL	18,90 ± 1,58 B	21,60 ± 2,32 B	25,07 ± 3,23 A
Proteína	10,00 ± 0,87 A	9,94 ± 0,89 AB	8,94 ± 0,57 B
Glicose	11,74 ± 1,41	10,13 ± 1,50	11,01 ± 1,95
Piruvato	0,23 ± 0,02 A	0,17 ± 0,03 B	0,15 ± 0,02 B
Lactato	11,02 ± 5,91 B	23,96 ± 5,98 A	30,68 ± 6,98 A
Glicogênio	3,38 ± 0,81	3,27 ± 0,84	2,36 ± 0,74
AGL	0,48 ± 0,11	0,60 ± 0,11	0,66 ± 0,18
TG	5,73 ± 0,96	5,50 ± 0,34	4,64 ± 0,87

n= 8; média ± desvio padrão. AAL= aminoácidos livres; AGL= ácidos graxos livres; TG= triacilgliceróis. Amônia, AAL, piruvato, lactato e AGL= $\mu\text{mol/g}$; TG, proteína e glicose = mg/g ; Glicogênio = $\mu\text{molglicosil/mg}$ de tecido. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$).

Os valores da atividade enzimática no fígado, músculo branco e vermelho dos pacus não-exercitados estão apresentados na Tabela 8. Notaram-se maiores atividades de ASAT e ALAT hepática no tratamento SE32. No músculo branco observaram-se maiores atividades de ALAT no tratamento SE24, seguido de SE28 que foi semelhantes também SE32.

Tabela 8. Atividades enzimáticas no fígado, músculo branco e vermelho de *P. mesopotamicus* não-exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína.

Tecido/ Enzimas	Tratamentos		
	SE24	SE28	SE32
Fígado			
LDH	0,027 ± 0,008	0,021 ± 0,003	0,028 ± 0,003
ASAT	0,083 ± 0,009 B	0,074 ± 0,006 B	0,107 ± 0,015 A
ALAT	0,045 ± 0,006 B	0,044 ± 0,009 B	0,075 ± 0,009 A
Músculo branco			
LDH	0,058 ± 0,008	0,054 ± 0,009	0,076 ± 0,003
ASAT	0,064 ± 0,004	0,076 ± 0,005	0,071 ± 0,009
ALAT	0,263 ± 0,057 A	0,219 ± 0,027 AB	0,203 ± 0,050 B
Músculo vermelho			
LDH	0,038 ± 0,008	0,035 ± 0,007	0,031 ± 0,008
ASAT	0,479 ± 0,076	0,513 ± 0,049	0,436 ± 0,068
ALAT	0,705 ± 0,088	0,736 ± 0,054	0,653 ± 0,098
MDH	0,078 ± 0,009	0,078 ± 0,008	0,079 ± 0,002

n = 8; média ± desvio padrão. LDH = lactato desidrogenase; MDH = malato desidrogenase; ASAT = aspartato aminotransferase; ALAT = alanina aminotransferase. Unidades: ALAT, ASAT, LDH, MDH = UI/mg de proteína. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey (P < 0,05).

5.2. Efeitos dos níveis de proteína da dieta em pacus exercitados

Desempenho produtivo

Os dados de desempenho produtivo dos pacus exercitados e alimentados com diferentes teores de PB estão apresentados na Tabela 9. Observou-se que os maiores valores de GPD ocorreram no tratamento E24, seguidos por E32. Apesar do tratamento E32 ter sido semelhante significativamente do E24, não diferiu do E28. No tratamento E24 foram registrados os maiores valores de TEP.

Tabela 9. Desempenho produtivo de *P. mesopotamicus* exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína bruta.

Variáveis de desempenho produtivo	Tratamentos		
	E24	E28	E32
GPD	2,47 ± 0,45 A	1,90 ± 0,17 B	2,19 ± 0,45 AB
GA	3,95 ± 0,5	3,61 ± 0,6	3,50 ± 0,5
GCT	7,05 ± 0,8	6,44 ± 1,07	6,87 ± 1,8
CA	1,03 ± 0,2	0,99 ± 0,1	0,94 ± 0,1
TCE	3,73 ± 0,59	2,91 ± 0,17	3,40 ± 0,22
TEP	4,63 ± 0,85 A	3,06 ± 0,27 B	3,07 ± 0,64 B

n= 15; média ± desvio padrão. GPD= ganho em peso diário (g/dia); GA = ganho em altura (cm); GCT = ganho em comprimento total (cm); CA= conversão alimentar; TCE = taxa crescimento específico; TEP= taxa de eficiência protéica. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey (P < 0,05).

Índice hepatossomático e viscerossomático

Os resultados dos índices hepatossomático e viscerossomático de pacus exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína da dieta estão apresentados na Tabela 10. Entre os pacus exercitados encontrou-se diferença significativa apenas do IVS (índice viscerossomático), sendo o maior valor observado para E28.

Tabela 10. Índices hepatossomático e viscerossomático de *P. mesopotamicus* exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína bruta.

Variável	Tratamentos		
	E24	E28	E32
IHS	0,71 ± 0,19	1,22 ± 0,31	0,89 ± 0,32
IVS	6,08 ± 0,47 B	6,77 ± 0,31 A	5,36 ± 0,53 B

n= 15; média ± desvio padrão. IHS= Índice hepatossomático (%); IVS= Índice viscerossomático (%). Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey (P < 0,05).

Hematologia

Os dados hematológicos de pacus exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína estão apresentados na Tabela 11. Em os pacus exercitados observaram-se valores aumentados de RBC no tratamento E32, de

VCM e de HCM nos tratamentos E24 e E28, e de CHCM nos tratamentos E28 e E32.

Tabela 11. Respostas hematológicas de *P. mesopotamicus* exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína bruta.

Variáveis hematológicas	Tratamentos		
	E24	E28	E32
Ht (%)	31,69 ± 2,35	30,81 ± 1,09	29,93 ± 3,01
Hb (g%)	7,94 ± 0,99	8,26 ± 0,27	9,25 ± 1,39
RBC (10 ⁶ /mm ³)	1,51 ± 0,25 C	1,74 ± 0,22 B	2,18 ± 0,47 A
VCM (μ ³)	213,22 ± 25,34 A	179,38 ± 20,37 A	142,33 ± 37,12 B
CHCM (%)	25,01 ± 1,91 B	26,83 ± 1,24 A	29,55 ± 3,40 A
HCM (μg)	53,31 ± 7,34 A	48,18 ± 6,30 A	43,37 ± 7,96 B

n= 8; média ± desvio padrão. Ht= hematócrito; Hb= hemoglobina total; RBC= contagem de eritrócitos; VCM= volume corpuscular médio; CHCM= concentração de hemoglobina corpuscular média; HCM= hemoglobina corpuscular média. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey (P < 0,05).

Metabolismo

Os valores dos intermediários metabólicos plasmáticos de pacus exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína estão apresentados na Tabela 12. As maiores concentrações de amônia foram encontradas em pacus do tratamento E32 e de proteína plasmática no tratamento E28 e E32. As maiores concentrações de lactato plasmáticos foram observados nos pacus do tratamento E24 e E28. Os níveis de AGL e TG plasmáticos foram maiores em E24 e E28.

Os dados dos intermediários metabólicos hepáticos de pacus exercitados e alimentados com diferentes teores de PB estão apresentados na Tabela 13. Foram observadas as maiores concentrações de AAL hepáticos no tratamento E28 e E32. As maiores concentrações de glicose foram verificadas nos tratamentos E24 e E32. As maiores concentrações de TG foram observadas em E32 e de AGL no E28.

Os resultados dos intermediários metabólicos do músculo branco e vermelho de pacus exercitados e alimentados com diferentes níveis de PB estão apresentados na Tabela 14. As maiores concentrações de amônia no músculo branco foram encontradas em E32 e; de proteína no tratamento E32 e E28, apesar de que o último não diferiu do tratamento E24. Os níveis de lactato do músculo

branco apresentaram-se aumentados nos pacus do tratamento E28 e E32. Os maiores valores de TG do músculo branco foram observados no tratamento E32 e E28, sendo que o E28 não diferiu significativamente do tratamento E24.

Tabela 12. Respostas metabólicas plasmáticas de *P. mesopotamicus* exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína bruta.

Variáveis	Tratamentos		
	E24	E28	E32
Amônia	3,25 ± 0,53 B	3,29 ± 0,75 B	6,83 ± 1,67 A
AAL	10,56 ± 5,17	9,62 ± 8,76	11,34 ± 11,61
Proteína	4,02 ± 1,70 B	6,44 ± 0,73 A	7,27 ± 1,22 A
Glicose	2,09 ± 0,19	2,24 ± 0,45	2,62 ± 0,52
Piruvato	0,34 ± 0,05	0,35 ± 0,05	0,37 ± 0,06
Lactato	8,21 ± 2,71 A	5,95 ± 1,73 A	5,07 ± 1,40 B
AGL	0,10 ± 0,01 A	0,08 ± 0,01 A	0,05 ± 0,01 B
TG	2,85 ± 0,39 A	3,30 ± 0,14 A	2,56 ± 0,51 B

n= 8; média ± desvio padrão. AAL= aminoácidos livres; AGL= ácidos graxos livres; TG= triacilgliceróis. Amônia, AAL, piruvato, lactato e AGL= $\mu\text{mol/mL}$; TG, proteína e glicose = mg/mL . Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$).

Tabela 13. Respostas metabólicas hepáticas de *P. mesopotamicus* exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína bruta.

Variáveis	Tratamentos		
	E24	E28	E32
Amônia	90,47 ± 5,17	110,27 ± 8,76	72,34 ± 11,61
AAL	38,46 ± 4,47 B	71,08 ± 6,46 A	66,67 ± 9,63 A
Proteína	108,09 ± 15,81	109,68 ± 11,03	102,60 ± 14,34
Glicose	62,82 ± 8,47 A	48,01 ± 8,27 B	66,19 ± 5,63 A
Piruvato	0,25 ± 0,03	0,26 ± 0,02	0,25 ± 0,03
Lactato	13,94 ± 2,27	12,29 ± 1,06	12,95 ± 2,50
Glicogênio	19,4 ± 8,0	20,70 ± 5,0	18,00 ± 5,0
AGL	3,12 ± 0,53 B	3,95 ± 0,67 A	2,60 ± 0,42 B
TG	2,64 ± 0,25 C	3,72 ± 0,30 B	5,27 ± 0,67 A

n= 8; média ± desvio padrão. AAL= aminoácidos livres; AGL= ácidos graxos livres; TG= triacilgliceróis. Amônia, AAL, piruvato, lactato e AGL= $\mu\text{mol/g}$; TG, proteína e glicose= mg/g ; Glicogênio= $\mu\text{molglicosil/mg}$ de tecido. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$).

No músculo vermelho observou-se maior concentração de amônia nos pacus do tratamento E32. As maiores concentrações de glicose foram dos tratamentos E32 seguidos do tratamento E24, que não deferiu do tratamento E28. O tratamento E32 apresentou-se maior valor de AGL. O tratamento E24 apresentou-se maior valor de TG seguido do tratamento E32, que não diferiu do tratamento E28.

Tabela 14. Respostas metabólicas no músculo branco e vermelho de *P. mesopotamicus* exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína bruta.

Tecido/ Metabólicos	Tratamentos		
	E24	E28	E32
Músculo branco			
Amônia	66,64 ± 16,62 B	70,37 ± 18,46 B	89,68 ± 10,34 A
AAL	29,03 ± 4,55	33,67 ± 3,09	30,90 ± 3,21
Proteína	21,71 ± 2,04 B	23,25 ± 2,16 AB	24,54 ± 3,79 A
Glicose	3,02 ± 0,77	2,61 ± 0,13	2,40 ± 0,29
Piruvato	0,29 ± 0,07	0,28 ± 0,10	0,20 ± 0,01
Lactato	22,20 ± 6,62 B	51,10 ± 8,45 A	41,31 ± 10,0 A
Glicogênio	1,34 ± 0,37	1,53 ± 0,28	1,40 ± 0,09
AGL	0,66 ± 0,09	0,78 ± 0,14	0,96 ± 0,05
TG	1,09 ± 0,26 B	1,30 ± 0,14 AB	1,66 ± 0,38 A
Músculo vermelho			
Amônia	39,03 ± 3,06 B	46,10 ± 5,14 B	58,94 ± 6,73 A
AAL	27,08 ± 5,88	33,67 ± 3,09	30,90 ± 3,21
Proteína	10,26 ± 0,40	10,24 ± 0,62	9,87 ± 0,29
Glicose	11,08 ± 2,12 AB	8,78 ± 1,96 B	11,85 ± 2,15 A
Piruvato	0,16 ± 0,06	0,18 ± 0,04	0,15 ± 0,01
Lactato	19,05 ± 1,81	17,99 ± 6,44	20,75 ± 0,72
Glicogênio	2,43 ± 0,83	1,96 ± 0,65 b	2,29 ± 0,71
AGL	0,66 ± 0,09 B	0,72 ± 0,20 B	0,96 ± 0,05 A
TG	6,38 ± 0,50 A	5,24 ± 0,41 B	5,80 ± 0,95 AB

n= 8; média ± desvio padrão. AAL= aminoácidos livres; AGL= ácidos graxos livres; TG= triacilgliceróis. Amônia, AAL, piruvato, lactato e AGL= $\mu\text{mol/g}$; TG, proteína e glicose = mg/g ; Glicogênio= $\mu\text{molglicosil/mg}$ de tecido. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$).

Os resultados da atividade enzimática hepática e do músculo branco e vermelho de pacus exercitados e alimentados com diferentes teores de PB estão apresentados na Tabela 15. Entre os pacus exercitados observaram-se no fígado maiores atividades da ASAT nos tratamentos E28 e E32. No músculo branco a maior atividade de LDH foi encontrada nos tratamentos E24 e E28. No músculo vermelho as maiores atividades de LDH foram observados no tratamento E24. Com relação à ASAT e ALAT, os tratamentos E28 e E32 apresentaram as maiores atividades.

Tabela 15. Atividades enzimáticas no fígado, músculo branco e vermelho de *P. mesopotamicus* exercitados e alimentados com diferentes teores de proteína bruta.

Tecido/ Enzimas	Tratamentos		
	E24	E28	E32
Fígado			
LDH	0,026 ± 0,008	0,026 ± 0,006	0,027 ± 0,005
ASAT	0,091 ± 0,007 B	0,107 ± 0,013 A	0,100 ± 0,009 AB
ALAT	0,063 ± 0,007	0,063 ± 0,007	0,059 ± 0,007
Músculo branco			
LDH	0,051 ± 0,009 A	0,058 ± 0,009 A	0,037 ± 0,006 B
ASAT	0,073 ± 0,009	0,070 ± 0,009	0,068 ± 0,009
ALAT	0,267 ± 0,059	0,235 ± 0,076	0,193 ± 0,055
Músculo vermelho			
LDH	0,052 ± 0,009 A	0,032 ± 0,006 B	0,033 ± 0,008 B
ASAT	0,414 ± 0,094 B	0,529 ± 0,049 A	0,437 ± 0,076 AB
ALAT	0,609 ± 0,096 B	1,187 ± 0,098 A	1,013 ± 0,281 A
MDH	0,076 ± 0,008	0,080 ± 0,009	0,077 ± 0,009

n = 8; média ± desvio padrão. LDH = lactato desidrogenase; MDH = malato desidrogenase; ASAT = aspartato aminotransferase; ALAT = alanina aminotransferase. Unidades: ALAT, ASAT, LDH, MDH = UI/mg de proteína. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey (P < 0,05).

5.3. Efeitos da atividade natatória aeróbica em pacus alimentados com os mesmos níveis de proteína na dieta

E24 versus SE24

Desempenho produtivo

Os dados de desempenho produtivo de pacus exercitados versus os não-exercitados e alimentados com 24 % de PB estão apresentados na Tabela 16. Observa-se aumento dos valores de GPD e TEP dos pacus E24 em relação ao SE24.

Índice hepatossomático e viscerossomático

Os resultados dos índices hepatossomáticos e viscerossomáticos de pacus exercitados e não-exercitados e alimentados com 24 % estão apresentados na Tabela 17. Não houve diferença nos valores de IHS e IVS os pacus exercitados e seus respectivos controles.

Tabela 16. Desempenho produtivo de pacus exercitados e não-exercitados e alimentados com 24 % de PB.

Variáveis	Tratamentos	
	E24	SE24
GPD	2,47 ± 0,45 a	1,97 ± 0,37 b
GA	3,95 ± 0,5	3,80 ± 0,5
GCT	7,05 ± 0,8	6,61 ± 1,4
CA	1,03 ± 0,2	0,83 ± 0,1
TCE	3,73 ± 0,59	3,18 ± 0,42
TEP	4,63 ± 0,85 a	3,70 ± 0,69 b

n= 15; média ± desvio padrão. GPD= ganho em peso diário (g/dia); GA = ganho em altura (cm); GCT = ganho em comprimento total (cm); CA= conversão alimentar; TCE = taxa crescimento específico; TEP= taxa de eficiência protéica. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey (P < 0,05).

Tabela 17. Índices hepatossomático e viscerossomático de pacus exercitados e não-exercitados e alimentados com 24 % de PB.

Variável	Tratamentos	
	E24	SE24
IHS	0,71 ± 0,19	0,78 ± 0,24
IVS	6,08 ± 0,47	6,43 ± 0,74

n= 15; média ± desvio padrão. IHS= Índice hepatossomático (%); IVS= Índice viscerossomático (%). Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey (P < 0,05).

Hematologia

Os dados hematológicos dos pacus exercitados e não-exercitados e alimentados com 24 % PB estão apresentados na Tabela 18. Houve redução de RBC e aumento de VCM e HCM no tratamento E24 comparado com SE24.

Metabolismo

Os resultados dos intermediários metabólicos do plasma dos pacus exercitados e não exercitados e alimentados com 24 % PB estão apresentados na Tabela 19. Não houve diferença significativa entre os tratamentos com relação aos intermediários metabólicos no plasma.

Tabela 18. Respostas hematológicas de *P. mesopotamicus* exercitados e não-exercitados alimentados com 24 % PB.

Variáveis hematológicas	Tratamentos	
	E24	SE24
Ht (%)	31,69 ± 2,35	30,62 ± 2,83 AB
Hb (g%)	7,94 ± 0,99	7,96 ± 1,01
RBC (10 ⁶ /mm ³)	1,51 ± 0,25 b	1,86 ± 0,32 a
VCM (μ ³)	213,22 ± 25,34 a	168,87 ± 43,35 b
CHCM (%)	25,01 ± 1,91	26,01 ± 2,53
HCM (μg)	53,31 ± 7,34 a	43,56 ± 7,24 b

n= 8; média ± desvio padrão. Ht= hematócrito; Hb= hemoglobina total; RBC= contagem de eritrócitos; VCM= volume corpuscular médio; CHCM= concentração de hemoglobina corpuscular média; HCM= hemoglobina corpuscular média. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey (P < 0,05).

Tabela 19. Respostas metabólicas plasmáticas de *P. mesopotamicus* exercitados e não-exercitados e alimentados com 24 % PB.

Variáveis Metabólicas	Tratamentos	
	E24	SE24
Amônia	3,25 ± 0,53	3,42 ± 1,65
AAL	10,56 ± 5,17	9,81 ± 3,32
Proteína	4,02 ± 1,70	7,89 ± 0,80
Glicose	2,09 ± 0,19	2,56 ± 0,23
Piruvato	0,34 ± 0,05	0,32 ± 0,06
Lactato	8,21 ± 2,71	5,91 ± 2,18
AGL	0,10 ± 0,01	0,09 ± 0,02
TG	2,85 ± 0,39	3,75 ± 0,57

n= 8; média ± desvio padrão. AAL= aminoácidos livres; AGL= ácidos graxos livres; TG= triacilgliceróis. Amônia, AAL, piruvato, lactato e AGL= μmol/mL; TG, proteína e glicose = mg/mL. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey (P < 0,05).

Os resultados dos intermediários metabólicos hepáticos dos pacus exercitados e não-exercitados e alimentados com 24 % PB estão apresentados na Tabela 20. Houve redução da concentração da amônia e do glicogênio hepática nos pacus do tratamento E24 comparado com SE24.

Os dados dos intermediários metabólicos do músculo branco e vermelho dos pacus exercitados e não-exercitados e alimentados com 24 % PB estão apresentados na Tabela 21. Observa-se redução de lactato e aumento de AAL do músculo branco do tratamento E24 comparados com o SE24. No músculo vermelho verifica-se redução de amônia e aumento de AGL e AAL no E24 comparados com SE24.

Tabela 20. Respostas metabólicas hepáticas de *P. mesopotamicus* exercitados e não-exercitados e alimentados com 24 % PB.

Variáveis Metabólicas	Tratamentos	
	E24	SE24
Amônia	90,47 ± 5,17 b	109,31 ± 13,6 a
AAL	38,46 ± 4,47	52,86 ± 8,45
Proteína	108,09 ± 15,81	92,30 ± 15,05
Glicose	62,82 ± 8,47	60,75 ± 8,20
Piruvato	0,25 ± 0,03	0,27 ± 0,02
Lactato	13,94 ± 2,27	14,25 ± 1,14
Glicogênio	19,40 ± 8,0 b	31,10 ± 7,0 a
AGL	3,12 ± 0,53	2,92 ± 0,33
TG	2,64 ± 0,25	3,30 ± 0,9

n= 8; média ± desvio padrão. AAL= aminoácidos livres; AGL= ácidos graxos livres; TG= triacilgliceróis. Amônia, AAL, piruvato, lactato e AGL= $\mu\text{mol/g}$; TG, proteína e glicose= mg/g ; Glicogênio= $\mu\text{molglicosil/mg}$ de tecido. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$).

Os dados de atividade enzimática de hepática, do músculo branco e vermelho de pacus exercitados e não-exercitados estão apresentados na Tabela 22. Houve aumento significativo da atividade de ALAT hepática e de LDH no músculo vermelho de pacus E24 em relação ao SE24.

E28 versus SE28

Desempenho produtivo

Os dados de desempenho dos pacus exercitados e não-exercitados e alimentados com 28 % de PB estão apresentados na Tabela 23. Não houve diferença significativa das variáveis de desempenho entre os tratamentos.

Índice hepatossomático e viscerossomático

Os resultados dos índices hepatossomáticos e viscerossomáticos de pacus exercitados e não-exercitados e alimentados com 28 % estão apresentados na Tabela 24. Não houve diferença nos valores de IHS e IVS os pacus exercitados e seus respectivos controles.

Hematologia

Os resultados hematológicos dos pacus exercitados e não-exercitados e alimentados com 28 % PB estão apresentados na Tabela 25. Houve redução de RBC e aumento de VCM e HCM no tratamento E28 comparado com SE28.

Tabela 21. Respostas metabólicas no músculo branco e vermelho de *P. mesopotamicus* exercitados e não-exercitados e alimentados com 24 % PB.

Variáveis	Tratamentos	
	E24	SE24
Metabólicas		
Músculo branco		
Amônia	66,64 ± 16,62	73,27 ± 10,16
AAL	29,03 ± 4,55 a	19,78 ± 2,55 b
Proteína	21,71 ± 2,04	22,96 ± 1,78
Glicose	3,02 ± 0,77	3,08 ± 0,52
Piruvato	0,29 ± 0,07	0,21 ± 0,02
Lactato	22,20 ± 6,62 b	48,19 ± 8,24 a
Glicogênio	1,34 ± 0,37	1,57 ± 0,21
AGL	0,66 ± 0,09	0,48 ± 0,11
TG	1,09 ± 0,26	1,30 ± 0,21
Músculo vermelho		
Amônia	39,03 ± 3,06 b	59,90 ± 8,49 a
AAL	27,08 ± 5,88 a	18,90 ± 1,58 b
Proteína	10,26 ± 0,40	10,00 ± 0,87
Glicose	11,08 ± 2,12	11,74 ± 1,41
Piruvato	0,16 ± 0,06	0,23 ± 0,02
Lactato	19,05 ± 1,81	11,02 ± 5,91
Glicogênio	2,43 ± 0,83	3,38 ± 0,81
AGL	0,66 ± 0,09 b	0,48 ± 0,11 a
TG	6,38 ± 0,50	5,73 ± 0,96

n= 8; média ± desvio padrão. AAL= aminoácidos livres; AGL= ácidos graxos livres; TG= triacilgliceróis. Amônia, AAL, piruvato, lactato e AGL= $\mu\text{mol/g}$; TG, proteína e glicose = mg/g ; Glicogênio= $\mu\text{molglicosil/mg}$ de tecido. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$).

Metabolismo

Os dados dos intermediários metabólicos plasmáticos dos pacus não-exercitados e exercitados e alimentados com 28 % PB estão apresentados na Tabela 26. Notou-se que os pacus do tratamento E28 apresentaram redução de amônia quando comparados com SE28.

Tabela 22. Atividades enzimáticas no fígado, músculo branco e vermelho de *P. mesopotamicus* exercitados e não-exercitados e alimentados com 24 % PB.

Enzima	Tratamentos	
	E24	SE24
Fígado		
LDH	0,026 ± 0,008	0,027 ± 0,008
ASAT	0,091 ± 0,007	0,083 ± 0,009
ALAT	0,063 ± 0,007 a	0,045 ± 0,006 b
Músculo branco		
LDH	0,051 ± 0,009	0,058 ± 0,008
ASAT	0,073 ± 0,009	0,064 ± 0,004
ALAT	0,267 ± 0,059	0,263 ± 0,057
Músculo vermelho		
LDH	0,052 ± 0,009 a	0,038 ± 0,008 b
ASAT	0,414 ± 0,094	0,479 ± 0,076
ALAT	0,609 ± 0,096	0,705 ± 0,088
MDH	0,076 ± 0,008	0,078 ± 0,009

n = 8; média ± desvio padrão. LDH = lactato desidrogenase; MDH = malato desidrogenase; ASAT = aspartato aminotransferase; ALAT = alanina aminotransferase. Unidades: ALAT, ASAT, LDH, MDH = UI/mg de proteína. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey (P < 0,05).

Tabela 23. Desempenho produtivo de pacus exercitados e não-exercitados e alimentados com 28 % de PB.

Variáveis	Tratamento	
	E28	SE28
GPD	1,90 ± 0,17	1,86 ± 0,29
GA	3,61 ± 0,6	3,78 ± 0,67
GCT	6,44 ± 1,07	6,90 ± 0,9
CA	0,99 ± 0,1	0,85 ± 0,1
TCE	2,91 ± 0,17	3,42 ± 0,33
TEP	3,06 ± 0,27	3,00 ± 0,46

n= 15; média ± desvio padrão. GPD= ganho em peso diário (g/dia); GA = ganho em altura (cm); GCT = ganho em comprimento total (cm); CA= conversão alimentar; TCE = taxa crescimento específico; TEP= taxa de eficiência protéica. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey (P < 0,05).

Os resultados dos intermediários metabólicos hepáticos dos pacus não-exercitados e exercitados e alimentados com 28 % de PB estão apresentados na Tabela 27. Observa-se aumento de AGL e amônia hepática nos pacus E28 com relação aos SE28.

Os resultados dos intermediários metabólicos do músculo branco e vermelho dos pacus não-exercitados e exercitados e alimentados com 28 % de PB estão apresentados na Tabela 28. No músculo branco observa-se redução da amônia, da concentração de glicose; aumento de AAL e lactato de pacus E28 quando comparados com SE28. No músculo vermelho houve redução da amônia e de glicogênio e aumento na concentração de AAL em pacus E28 em relação aos SE28.

Tabela 24. Índices hepatossomático e viscerossomático de pacus exercitados e não-exercitados e alimentados com 28 % de PB.

Variável	Tratamentos	
	E28	SE28
IHS	1,22 ± 0,31	0,88 ± 0,49
IVS	6,77 ± 0,31	7,02 ± 0,28

N = 15; média ± desvio padrão. IHS= Índice hepatossomático (%); IVS= Índice viscerossomático (%). Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey (P < 0,05).

Tabela 25. Respostas hematológicas de *P. mesopotamicus* exercitados e não-exercitados alimentados com 28 % PB.

Variáveis hematológicas	Tratamentos	
	E28	SE28
Ht (%)	30,81 ± 1,09	31,87 ± 1,09
Hb (g%)	8,26 ± 0,27	8,37 ± 0,60
RBC (10 ⁶ /mm ³)	1,74 ± 0,22 b	2,06 ± 0,27 a
VCM (μ ³)	179,38 ± 20,37 a	156,92 ± 18,28 b
CHCM (%)	26,83 ± 1,24	26,32 ± 1,39
HCM (μg)	48,18 ± 6,30 a	41,20 ± 5,30 b

n= 8; média ± desvio padrão. Ht= hematócrito; Hb= hemoglobina total; RBC= contagem de eritrócitos; VCM= volume corpuscular médio; CHCM= concentração de hemoglobina corpuscular média; HCM= hemoglobina corpuscular média. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey (P < 0,05).

Os dados de atividade enzimática hepática, do músculo branco e vermelho de pacus exercitados e não-exercitados e alimentados com 28 % de PB estão apresentados na Tabela 29. Houve aumento significativo da atividade de ASAT e ALAT hepáticas e ALAT do músculo vermelho de pacus E28 comparados com SE28.

Tabela 26. Respostas metabólicas plasmáticas de *P. mesopotamicus* exercitados e não-exercitados e alimentados com 28 % PB.

Variáveis Metabólicas	Tratamentos	
	E28	SE28
Amônia	3,29 ± 0,75b	5,21 ± 1,58 a
AAL	9,62 ± 8,76	10,53 ± 2,00
Proteína	6,44 ± 0,73	5,14 ± 1,13
Glicose	2,24 ± 0,45	2,84 ± 0,36
Piruvato	0,35 ± 0,05	0,39 ± 0,06
Lactato	5,95 ± 1,73	9,78 ± 2,90
AGL	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,02
TG	3,30 ± 0,14	3,15 ± 0,94

n= 8; média ± desvio padrão. AAL= aminoácidos livres; AGL= ácidos graxos livres; TG= triacilgliceróis. Amônia, AAL, piruvato, lactato e AGL= $\mu\text{mol/mL}$; TG, proteína e glicose = mg/mL . Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$).

Tabela 27. Respostas metabólicas hepáticas de *P. mesopotamicus* exercitados e não-exercitados e alimentados com 28 % PB.

Variáveis Metabólicas	Tratamentos	
	E28	SE28
Amônia	110,27 ± 8,76 a	89,39 ± 7,95 b
AAL	71,08 ± 6,46	63,68 ± 8,85
Proteína	109,68 ± 11,03	108,11 ± 11,46
Glicose	48,01 ± 8,27	43,59 ± 7,72
Piruvato	0,26 ± 0,02	0,25 ± 0,02
Lactato	12,29 ± 1,06	13,39 ± 1,33
Glicogênio	20,7 ± 5,0	15,80 ± 5,0
AGL	3,95 ± 0,67 a	2,98 ± 0,48 b
TG	3,72 ± 0,30	4,88 ± 0,66

n= 8; média ± desvio padrão. AAL= aminoácidos livres; AGL= ácidos graxos livres; TG= triacilgliceróis. Amônia, AAL, piruvato, lactato e AGL= $\mu\text{mol/g}$; TG, proteína e glicose= mg/g ; Glicogênio= $\mu\text{molglicosil/mg}$ de tecido. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$).

E32 versus SE32

Desempenho produtivo

Os dados de desempenho dos pacus exercitados e não-exercitados e alimentados com 32 % de PB estão apresentados na Tabela 30. Não houve diferença significativa das variáveis de desempenho entre os tratamentos.

Tabela 28. Respostas metabólicas no músculo branco e vermelho de *P. mesopotamicus* exercitados e não-exercitados e alimentados com 28 % PB.

Variáveis Metabólicas	Tratamentos	
	E28	SE28
Músculo branco		
Amônia	70,37 ± 18,46 b	114,5 ± 13,41 a
AAL	33,67 ± 3,09 a	21,59 ± 2,32 b
Proteína	23,25 ± 2,16	21,20 ± 1,47
Glicose	2,61 ± 0,13 b	3,85 ± 0,50 a
Piruvato	0,28 ± 0,10	0,23 ± 0,02
Lactato	51,10 ± 8,45 a	31,07 ± 8,32 b
Glicogênio	1,53 ± 0,28	1,59 ± 0,29
AGL	0,78 ± 0,14	0,60 ± 0,12
TG	1,30 ± 0,14	1,16 ± 0,28
Músculo vermelho		
Amônia	46,10 ± 5,14 b	63,94 ± 5,81 a
AAL	33,67 ± 3,09 a	21,60 ± 2,32 b
Proteína	10,24 ± 0,62	9,94 ± 0,89
Glicose	8,78 ± 1,96	10,13 ± 1,50
Piruvato	0,18 ± 0,04	0,17 ± 0,03
Lactato	17,99 ± 6,44	23,96 ± 5,98
Glicogênio	1,96 ± 0,65 b	3,27 ± 0,84 a
AGL	0,72 ± 0,20	0,60 ± 0,11
TG	5,24 ± 0,41	5,50 ± 0,34

n= 8; média ± desvio padrão. AAL= aminoácidos livres; AGL= ácidos graxos livres; TG= triacilgliceróis. Amônia, AAL, piruvato, lactato e AGL= $\mu\text{mol/g}$; TG, proteína e glicose = mg/g ; Glicogênio= $\mu\text{molglicosil/mg}$ de tecido. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$).

Índice hepatossomático e viscerossomático

Os resultados dos índices hepatossomáticos e viscerossomáticos de pacus exercitados e não-exercitados e alimentados com 32 % estão apresentados na Tabela 31. Não houve diferença nos valores de IHS e IVS os pacus exercitados e seus respectivos controles.

Hematologia

Os dados de hematológicos dos pacus exercitados e não-exercitados e alimentados com 32 % de PB estão apresentados na Tabela 32. Não houve diferença significativa das variáveis de hematológicas entre os tratamentos.

Tabela 29. Respostas enzimáticas no fígado, músculo branco e vermelho de *P. mesopotamicus* exercitados e não-exercitados e alimentados com 28 % PB.

Enzima	Tratamentos	
	E28	SE28
Fígado		
LDH	0,026 ± 0,006	0,021 ± 0,003
ASAT	0,107 ± 0,013 a	0,074 ± 0,006 b
ALAT	0,063 ± 0,007 a	0,044 ± 0,009 b
Músculo branco		
LDH	0,058 ± 0,009	0,054 ± 0,009
ASAT	0,070 ± 0,009	0,076 ± 0,005
ALAT	0,235 ± 0,076	0,219 ± 0,027
Músculo vermelho		
LDH	0,032 ± 0,006	0,031 ± 0,008
ASAT	0,529 ± 0,049	0,436 ± 0,068
ALAT	1,187 ± 0,098 a	0,653 ± 0,098 b
MDH	0,080 ± 0,009	0,079 ± 0,002

n = 8; média ± desvio padrão. LDH = lactato desidrogenase; MDH = malato desidrogenase; ASAT = aspartato aminotransferase; ALAT = alanina aminotransferase. Unidades: ALAT, ASAT, LDH, MDH = UI/mg de proteína. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey (P < 0,05).

Tabela 30. Desempenho produtivo de pacus exercitados e não-exercitados e alimentados com 32 % de PB.

Variáveis	Tratamentos	
	E32	SE32
GPD	2,19 ± 0,45	1,87 ± 0,42
GA	3,50 ± 0,5	3,68 ± 0,54
GCT	6,87 ± 1,8	6,28 ± 0,67
CA	0,94 ± 0,1	0,73 ± 0,1
TCE	3,40 ± 0,22	3,10 ± 0,46
TEP	3,07 ± 0,64	2,62 ± 0,59

n= 15; média ± desvio padrão. GPD= ganho em peso diário (g/dia); GA = ganho em altura (cm); GCT = ganho em comprimento total (cm); CA= conversão alimentar; TCE = taxa crescimento específico; TEP= taxa de eficiência protéica. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey (P < 0,05).

Metabolismo

Os resultados dos intermediários metabólicos plasmáticos dos pacus exercitados e não-exercitados e alimentados com 32 % de PB estão apresentados

na Tabela 33. Houve redução de AGL plasmático nos pacus E32 com relação aos SE32.

Tabela 31. Índices hepatossomático e viscerossomático de pacus exercitados e não-exercitados e alimentados com 32 % de PB.

Variável	Tratamentos	
	E32	SE32
IHS	0,89 ± 0,32	0,81 ± 0,14
IVS	5,36 ± 0,53	5,88 ± 0,51

n= 15; média ± desvio padrão. IHS= Índice hepatossomático (%); IVS= Índice viscerossomático (%). Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey (P < 0,05).

Tabela 32. Respostas hematológicas de *P. mesopotamicus* exercitados e não-exercitados alimentados com 32 % PB.

Variáveis hematológicas	Tratamentos	
	E32	SE32
Ht (%)	29,93 ± 3,01	28,37 ± 3,40
Hb (g%)	9,25 ± 1,39	8,23 ± 1,15
RBC (10 ⁶ /mm ³)	2,18 ± 0,47	2,38 ± 0,49
VCM (μ ³)	142,33 ± 37,12	126,27 ± 42,22
CHCM (%)	29,55 ± 3,40	29,77 ± 1,83
HCM (μg)	43,37 ± 7,96	35,99 ± 9,00

n= 8; média ± desvio padrão. Ht= hematócrito; Hb= hemoglobina total; RBC= contagem de eritrócitos; VCM= volume corpuscular médio; CHCM= concentração de hemoglobina corpuscular média; HCM= hemoglobina corpuscular média. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo teste de Tukey (P < 0,05).

Tabela 33. Respostas metabólicas plasmáticas de *P. mesopotamicus* exercitados e não-exercitados e alimentados com 32 % PB.

Variáveis Metabólicas	Tratamentos	
	E32	SE32
Amônia	6,83 ± 1,67	7,40 ± 0,97
AAL	11,34 ± 11,61	12,84 ± 1,36
Proteína	7,27 ± 1,22	6,88 ± 1,39
Glicose	2,62 ± 0,52	1,88 ± 0,21
Piruvato	0,37 ± 0,06	0,47 ± 0,19
Lactato	5,07 ± 1,40	5,87 ± 1,27
AGL	0,05 ± 0,01 b	0,24 ± 0,03 a
TG	2,56 ± 0,51	2,46 ± 0,34

n= 8; média ± desvio padrão. AAL= aminoácidos livres; AGL= ácidos graxos livres; TG= triacilgliceróis. Amônia, AAL, piruvato, lactato e AGL= μmol/mL; TG, proteína e glicose = mg/mL. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey (P < 0,05).

Tabela 34. Respostas metabólicas hepáticas de *P. mesopotamicus* exercitados e não-exercitados e alimentados com 32 % PB.

Variáveis Metabólicas	Tratamentos	
	E32	SE32
Amônia	72,34 ± 11,61 b	111,84 ± 7,69 a
AAL	66,67 ± 9,63 A	53,27 ± 7,99
Proteína	102,60 ± 14,34	119,75 ± 9,56
Glicose	66,19 ± 5,63	63,78 ± 8,22
Piruvato	0,25 ± 0,03	0,24 ± 0,03
Lactato	12,95 ± 2,50	12,79 ± 1,87
Glicogênio	18,00 ± 5,0 b	30,1 ± 7,0 a
AGL	2,60 ± 0,42 b	5,03 ± 0,49 a
TG	5,27 ± 0,67	4,31 ± 0,62

n= 8; média ± desvio padrão. AAL= aminoácidos livres; AGL= ácidos graxos livres; TG= triacilgliceróis. Amônia, AAL, piruvato, lactato e AGL= $\mu\text{mol/g}$; TG, proteína e glicose= mg/g ; Glicogênio= $\mu\text{molglicosil/mg}$ de tecido. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$).

Tabela 35. Respostas metabólicas no músculo branco e vermelho de *P. mesopotamicus* exercitados e não-exercitados e alimentados com 32 % PB.

Variáveis Metabólicas	Tratamentos	
	E32	SE32
Músculo branco		
Amônia	89,68 ± 10,34	84,54 ± 12,92
AAL	30,90 ± 3,21 a	25,07 ± 3,23 b
Proteína	24,54 ± 3,79	24,54 ± 3,79
Glicose	2,40 ± 0,29 b	3,87 ± 0,55 a
Piruvato	0,20 ± 0,01	0,24 ± 0,05
Lactato	41,31 ± 10,0 a	13,16 ± 6,0 b
Glicogênio	1,40 ± 0,09	1,46 ± 0,10
AGL	0,96 ± 0,05	0,66 ± 0,18
TG	1,66 ± 0,38	1,41 ± 0,21
Músculo vermelho		
Amônia	58,94 ± 6,73	64,89 ± 8,22
AAL	30,90 ± 3,21 a	25,07 ± 3,23 b
Proteína	9,87 ± 0,29 a	8,94 ± 0,57 b
Glicose	11,85 ± 2,15	11,01 ± 1,95
Piruvato	0,15 ± 0,01	0,15 ± 0,02
Lactato	20,75 ± 0,72	30,68 ± 6,98
Glicogênio	2,29 ± 0,71	2,36 ± 0,74
AGL	0,96 ± 0,05 a	0,66 ± 0,18 b
TG	5,80 ± 0,95 a	4,64 ± 0,87 b

n= 8; média ± desvio padrão. AAL= aminoácidos livres; AGL= ácidos graxos livres; TG= triacilgliceróis. Amônia, AAL, piruvato, lactato e AGL= $\mu\text{mol/g}$; TG, proteína e glicose = mg/g ; Glicogênio= $\mu\text{molglicosil/mg}$ de tecido. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$).

Tabela 36. Atividades enzimáticas no fígado, músculo branco e vermelho de *P. mesopotamicus* exercitados e não-exercitados e alimentados com 32 % PB.

Enzima	Tratamentos	
	E32	SE32
Fígado		
LDH	0,027 ± 0,005	0,028 ± 0,003
ASAT	0,100 ± 0,009	0,107 ± 0,015
ALAT	0,059 ± 0,007 b	0,075 ± 0,009 a
Músculo branco		
LDH	0,037 ± 0,006 b	0,076 ± 0,003 a
ASAT	0,068 ± 0,009	0,071 ± 0,009
ALAT	0,193 ± 0,055	0,203 ± 0,050
Músculo vermelho		
LDH	0,033 ± 0,008	0,031 ± 0,008
ASAT	0,437 ± 0,076	0,436 ± 0,068
ALAT	1,013 ± 0,281 a	0,653 ± 0,098 b
MDH	0,077 ± 0,009	0,079 ± 0,002

n = 8; média ± desvio padrão. LDH = lactato desidrogenase; MDH = malato desidrogenase; ASAT = aspartato aminotransferase; ALAT = alanina aminotransferase. Unidades: ALAT, ASAT, LDH, MDH = UI/mg de proteína. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente pelo Teste de Tukey (P < 0,05).

Os resultados dos intermediários metabólicos hepáticos dos pacus exercitados e não-exercitados e alimentados com 32 % de PB estão apresentados na Tabela 34. Verificou-se redução da amônia, AGL e glicogênio no E32 em relação ao SE32.

Os resultados dos intermediários metabólicos do músculo branco e vermelho dos pacus exercitados e não-exercitados e alimentados com 32 % de PB estão apresentados na Tabela 35. No músculo branco houve redução significativa da glicose; aumento de lactato e AAL de E32 com relação ao SE32. No músculo vermelho observa-se aumento AGL, TG, AAL e proteína de E32 comparado com SE32.

Os resultados da atividade enzimática do fígado, músculo branco e vermelho dos pacus exercitados e não-exercitados e alimentados com 32 % de PB estão apresentados na Tabela 36. Houve redução da atividade de ALAT hepática e LDH do músculo branco e aumento de ALAT do músculo vermelho de pacus E32 em relação ao SE32.

5. DISCUSSÃO

6.1. Efeitos dos níveis de PB em pacus não-exercitados

6.1.1. Desempenho produtivo

O estudo de níveis adequados de proteína bruta da dieta para peixes que não se exercitam tem sido amplamente estudado. Porém, a metodologia de estudo para a determinação dos níveis adequados de proteína e a concentração dos outros nutrientes usados na dieta, geralmente são diferentes. Há variação ampla na proporção de carboidratos/lipídeos, teores de energia bruta, fontes protéicas, digestibilidade dos alimentos, além do peso inicial dos animais para início de experimento entre outros fatores, o que não permite uma recomendação segura.

No presente estudo, os valores utilizados de proteína bruta (24, 28, 32 %), lipídeos (15 %), extrativo não-nitrogenado (25 %) foram bem distintos de outros trabalhos que avaliaram níveis protéicos para pacu. Provavelmente, a formulação das dietas não favoreceu os pacus que não foram submetidos a exercício; fato evidenciado pelos valores semelhantes de GPD, CA, TCE entre os tratamentos. Somente houve diferença significativa na variável TEP, na qual os pacus do tratamento SE24 apresentaram maiores valores. Entretanto, não se observou maior GPD. Portanto, este teor de PB pode ter sido insuficiente para promover maior ganho em peso em pacu quando não se exercita. Entretanto, os teores de 28 e 32 % PB da dieta foram provavelmente excessivos, pois apresentaram TEP inferiores, e as outras variáveis de desempenho foram semelhantes entre os tratamentos.

Levando em conta que o peso inicial para os pacus que não se exercitaram, o valor recomendado de PB seria 26 % (CANTELMO, 1993). Assim o valor de 24 % PB seria baixo para os pacus nestas condições. Outro fator que deve ser levado em conta são os teores dos demais nutrientes da dieta, pois estes interferem na utilização da proteína pelo animal. Assim sendo, talvez, as proporções dos demais nutrientes não foram adequadas para os pacus que não se exercitaram. Fernandes et al. (2000) estudando pacus de 11,31g (peso médio do início do experimento) alimentados com 26% de PB, 6,2% de LT e 43,87% ENN nas dietas, em condições de laboratório e não submetidos à atividade natatória, observou

melhor desempenho produtivo. No presente estudo os valores de LT (15%) e ENN (25%) das dietas experimentais foram superiores e inferiores, respectivamente, aos pacus do experimento de Fernandsz et al. (2000). Os altos teores de LT da dieta podem ter sido excessivos, tendo em vista que a ausência de exercício reduz a oxidação lipídica. Foi comprovado que o exercício por si só é um estimulador da oxidação lipídica, sendo os músculos locomotores os principais consumidores desta fonte (MAGNONI et al., 2006). Matrinxãs que se exercitam apresentam maior capacidade para oxidar lipídios e carboidratos, com taxa catabólica superior a 40% e 15%, respectivamente e, 30% de síntese de proteína muscular (ARBELÁEZ-ROJAS, 2007).

Segundo Alves (1996), não há diferenças nas variáveis de crescimento de pacus criados sem a prática de exercício, com níveis de LT variando entre 3 a 9%, porém, com 9% LT observa-se tendência de redução no crescimento; o teor de LT no presente estudo foi de 15 %, bem acima do recomendado por Alves (1996). Hackbarth (2010) observou que pacus que não se exercitam crescem mais com dietas contendo mais carboidratos e menos lipídeos, visto que, à medida que se aumenta o teor de carboidrato da dieta 36/10 e 45/5 (relação carboidrato/lipídeos), os valores de GC, GA e TEP aumentam. Assim sendo, o nível elevado de lipídeo no presente estudo pode ter sido o responsável pelo desempenho produtivo insatisfatório entre os tratamentos.

6.1.2. Índices hepatossomático e viscerossomático dos pacus não-exercitados

O índice hepatossomático e viscerossomático são comumente utilizado nos estudos de peixes, pois pode servir de indicativo de utilização de glicogênio, proteína e lipídeos. No presente estudo, as alterações ocorridas nos valores dos IHS e IVS podem ser decorrentes dos níveis de proteína bruta na dieta dos pacus que não se exercitaram. Não houve diferença significativa para IHS entre os pacus que não se exercitaram. Esse índice é utilizado como uma forma de quantificar o estoque energético de glicogênio em peixes, porém não refletiu os resultados encontrados no metabolismo, mostrando-se assim a necessidade de diferentes metodologias para avaliar o uso do glicogênio hepático. Segundo Power et al. (2000), nem sempre o IHS pode ser considerado um índice confiável para avaliar o estado nutricional

porque ele pode ser influenciado por outros fatores fisiológicos, como reprodução e doenças e outros.

Com relação ao IVS observa-se que no tratamento SE28 houve valor maior em relação aos demais. Maiores valores de IVS são indicativos de maior deposição de gordura. Mas vale lembrar que quando se compara os pacus que não se exercitaram somente o SE24 apresenta maior ganho em peso diário. Os tratamentos SE28 e SE32 apresentaram desempenho produtivo inferior ao SE24. Provavelmente, o tratamento SE28 além de apresentado menor ganho em peso diário, depositou gordura na cavidade visceral.

6.1.3. Hematologia

Nesta parte da discussão daremos ênfase às alterações hematológicas decorrentes da condição nutricional visto que, os pacus do presente estudo estavam nas mesmas condições, sem exercício, portanto, na avaliação estatística aplicada leva-se em conta os efeitos causados pela nutrição. Sabe-se que o quadro hematológico varia quando os peixes enfrentam condições adversas de temperatura da água, condição de estresse, contaminação do ambiente por poluição, qualidade de água, condição nutricional e entre outros.

Os altos teores de proteína na dieta de pacus que não se exercitaram apresentaram reflexos no quadro hematológico. Os juvenis de pacu alimentados com 32 % de PB apresentaram redução nos valores de Ht seguida de aumento de RBC. O hematócrito determina o volume de eritrócitos indicado pela porcentagem das células vermelhas presentes no sangue em relação ao seu volume total (GUYTON & HALL, 2002), sendo assim, no presente estudo o volume de células vermelhas diminuíram no tratamento SE32. Provavelmente, nos peixes deste tratamento houve aumento no número de eritrócitos, porém houve redução significativa do volume das células sanguíneas, confirmada pelos valores observados de VCM. Tal resposta pode ser devida à presença de eritrócitos menores, jovens, resultantes do aumento da eritropoiese provavelmente, em razão dos altos teores de proteína, a qual aumentou a disponibilidade de aminoácidos, estimulando a produção de eritrócitos (GARCIA-NAVARRO & PASCHALY, 1994), células ricas em proteínas transmembranas (BAIN, 1997). Apesar de não haver

alterações na hemoglobina e HCM, houve aumento no CHCM, o que indica aumento na concentração de hemoglobina contida nos eritrócitos no tratamento SE32.

Já o tratamento SE24 apresentou menor RBC e CHCM e maior VCM do que os demais tratamentos, ou seja, o número de eritrócitos é menor com tamanho maior, além do conteúdo de hemoglobina corpuscular mais diluído. Como a disponibilidade de proteína neste tratamento foi menor, talvez houvesse eritropoiese, mais discreta.

Outros trabalhos mostraram a interferência do teor de PB da dieta nas variáveis eritrocitárias como, por exemplo, em jundiá, *Rhamdia quelen*, o RBC, a Hb e o Ht aumentam com 50 % de PB na dieta (CAMARGO et al., 2005). Tilápia do Nilo também tem alterações no RBC, Hb e Ht afetadas pelos níveis de proteína da dieta (ABDEL-TAWWAB et al., 2010). Todavia, estudos específicos poderão elucidar quais e como os fatores presentes em dietas ricas em proteínas poderiam alterar a eritropoiese em peixes.

6.1.4. Metabolismo

Apesar de ser proposto um nível adequado de proteína bruta para pacus que não se exercitam, os dados são baseados em estudos de desempenho e não há enfoque para o metabolismo. Além disso, não existem estudos que tratem de dieta que possua os teores testados de proteína e nem as mesmas as proporções de carboidratos e lipídeos do presente estudo. Foi abordado o metabolismo dos peixes não exercitados dando ênfase à utilização dos nutrientes da dieta no organismo de pacu.

O perfil metabólico de pacu que não se exercitou também foi responsivo às variações de PB na dieta. Nos pacus alimentados com 32 % de PB houve mobilização de gorduras com aumento de AGL e diminuição de TG plasmáticos; o redirecionamento de lipídios para outros tecidos, principalmente o adiposo, pode ser a principal causa deste quadro. A mobilização de gordura no plasma também é observada em matrinxã alimentado com teores crescentes de PB na dieta (VIEIRA et al., 2005). É interessante destacar que o aumento de PB nas dietas leva ao catabolismo dos aminoácidos, minimizando ou extinguindo o efeito poupador de proteínas; esse fato tem sido descrito em algumas espécies: robalo (YANG et al., 2002; PERES & OLIVA-TELES, 2001), enguia da barbatana curta

(ENGIN & CARTER, 2001), jundiá (MELO et al., 2006), e tilápia do Nilo (ABDEL-TAWWAB et al., 2010). Os pacus apresentaram aumento do catabolismo de proteína no tratamento SE32; isso pode ser evidenciado pelo aumento gradual de amônia plasmática, diminuição do teor de proteína e discreto aumento de AAL, embora não significativo.

No tratamento SE28 observa-se maior valor de lactato plasmático comparado com os demais tratamentos. Provavelmente esse metabólito seja oriundo do músculo branco onde o lactato se encontra queda. No entanto, os pacus do tratamento SE28 apresentam maior concentração de TG e menor de AGL plasmáticos. Provavelmente o AGL está sendo direcionado para outro tecido, tal como o adiposo; e o TG reflete possível lipogênese. Sobre o metabolismo protéico dos pacus do tratamento SE28 houve redução de proteína e amônia plasmática.

O menor valor de AGL e maior de TG do tratamento SE24 podem ser indicativos de direcionamento dos lipídeos para outros tecidos. Já no metabolismo protéico do SE24 no plasma houve menor valor de amônia e maior concentração de proteína indicando possível síntese de proteína.

Altos teores de proteína da dieta (SE32) de pacus que não se exercitaram aumentaram significativamente o conteúdo de AAL no fígado; isso pode ser resultante da importação plasmática com dois possíveis destinos: gliconeogênese e lipogênese. Levando-se em conta que, as reservas de glicogênio não responderam proporcionalmente aos aumentos de PB das dietas, nem mesmo as de glicose, a lipogênese foi o resultado mais significativo do excesso de AAL hepático. Em truta arco-íris, dietas ricas em proteínas induzem aumento significativo nas atividades de enzimas gliconeogênicas e na gliconeogênese a partir de aminoácidos (LUPIÁÑEZ et al., 1989). Os maiores valores de AGL e TG do tratamento SE32 são evidências de processo de síntese lipídica frente ao excesso de PB das dietas. Outra possível fonte de AAL que justifique o seu aumento no fígado é o músculo branco. A conversão de piruvato em alanina nas células musculares fermentativas, seguida da exportação para o fígado, é comum em peixes (ciclo da alanina).

Apesar dos valores de amônia e proteína hepática permanecerem inalterados no tratamento SE32, foi encontrado as maiores atividades das enzimas ASAT e ALAT hepática. Outro fato interessante observado foi que essas enzimas se apresentaram inalteradas nos outros tecidos, exceto no músculo branco do

tratamento SE32 que apresentou redução da atividade da ALAT. Provavelmente, o aumento de ALAT hepática para SE32 poderia ser interessante para a transaminação da alanina, que estaria sendo exportada pelo músculo branco (ciclo da alanina). Assim, no fígado, a alanina poderia ser convertida em piruvato, o qual seria utilizado na gliconeogênese – o que parece não ser o caso – ou seria convertida em Acetil-CoA, sendo utilizado para a síntese de ácidos graxos e/ou para o metabolismo aeróbico.

Nos pacus do tratamento SE28 houve menores concentrações de glicose e glicogênio hepáticos indicando maior utilização das fontes glicídicas para a demanda energética neste tecido. No SE28 observa-se também, neste tecido, maiores concentrações de TG e menores de AGL. Diante desse quadro metabólico, possivelmente houve lipogênese, sendo que o AGL possivelmente foi direcionado para outro tecido explicando assim sua menor concentração hepática. Apesar da amônia e proteína hepática permanecerem inalteradas, a concentração de AAL hepático foi maior. Outro fato interessante foi a menor atividade de ALAT e ASAT hepática. A menor atividade destas enzimas indica menor papel do catabolismo protéico neste tecido.

Nos pacus do tratamento SE24 houve maiores concentrações de glicose e glicogênio hepático e menor de lactato no músculo vermelho, indicando possível neoglicogênese e glicogênese devido à conversão de lactato do músculo em glicose e glicogênio no fígado. No entanto, no fígado houve indício de lipólise dado o menor teor de TG. Sobre o metabolismo protéico neste tecido mostra-se menor concentração de AAL e menor atividade de ALAT e ASAT hepática. A menor atividade dessas enzimas indica anabolismo protéico, porém não se sabe exatamente os motivos da menor concentração de AAL.

No músculo branco de pacus observou-se aumento da concentração de AAL com o aumento de PB nas dietas; essa resposta metabólica é sugestiva de proteólise sendo os AAL provavelmente catabolizados no próprio tecido; o excesso de proteína nas dietas favoreceria o catabolismo protéico com fins energéticos; essa hipótese é corroborada pelo aumento de amônia no tecido. Reduções significativas de lactato no músculo branco sugerem regulação negativa da via glicolítica frente ao fornecimento excessivo de AAL advindos da dieta; essa situação metabólica favoreceria o catabolismo oxidativo de AAL. As reduções de lactato muscular e plasmático fazem descartar a possibilidade da estratégia de conversão do lactato

pelo fígado (ciclo de Cori) como reportado para matrinxãs alimentados com altos teores de proteína (VIEIRA et al., 2005).

No músculo branco houve maior concentração de lactato no tratamento SE24 seguido por SE28. Provavelmente, houve fermentação láctica no SE24 por motivos aparentemente inexplicáveis. Também ocorreu menor concentração de amônia e AAL. Houve maiores atividades de ALAT nos tratamentos SE24 e SE28, o que é sugestivo de metabolismo aumentado da alanina, visto que os valores de ASAT foram iguais para todos os tratamentos.

Os pacus alimentados com altas concentrações de proteína mostram tendência láctico fermentativa no músculo vermelho, fato que não é comumente observado; isso se constata pela redução de piruvato seguida do aumento de lactato; paralelamente os teores de AAL aumentaram, seguidos de redução dos níveis de proteína. Este quadro metabólico mostra aparente proteólise neste tecido, todavia em abundância de proteína da dieta; parece-nos mais que o aumento de aminoácidos observado seja devido aos teores de AAL exógenos; de fato, apesar de não significativa, observa-se elevação de cerca de 30 % nos teores de AAL plasmáticos; aproximadamente o mesmo percentual observado no músculo vermelho. Outro fato relevante é atividade das enzimas ALAT e ASAT que permaneceram semelhantes entre os tratamentos. Níveis crescentes de PB na dieta de jundiá também resultam em aumento de AAL no músculo vermelho (MELO et al., 2006). O músculo é um compartimento chave no “turnover” de aminoácidos, o que envolve síntese e degradação de proteínas como substrato energético. Quando em excesso, os aminoácidos podem ser convertidos em carboidratos ou, em menores quantidades, em gordura (DRIEDZIC & HOCHACHKA, 1978). Os pacus apresentaram aumento nas concentrações de AAL nos tecidos em função do aumento de proteína nas dietas; quadro esse seguido de lipogênese hepática. É provável que nessas condições, esse aumento de AAL seja também devido ao quadro lipogênico, todavia, permanece pouco clara a redução paralela de proteínas no tecido em situação de abundância de proteínas na dieta.

Em suma, os pacus que não se exercitaram apresentaram no tratamento SE32 menor consumo de lactato no plasma e músculo branco e fermentação láctica no músculo vermelho, gliconeogênese, glicogênese e lipogênese no fígado, além de catabolismo protéico no músculo branco. Já nos pacus do tratamento SE28 houve glicólise, glicogenólise e lipogênese no fígado;

menor consumo de lactato no músculo branco, fermentação do músculo vermelho e, catabolismo protéico no músculo branco. No entanto os pacus do tratamento SE24 apresentaram glicogênese, gliconeogênese e lipólise no fígado; fermentação láctica no músculo branco, menor consumo de lactato no músculo vermelho e menor concentração de amônia no plasma e músculo branco. Provavelmente, os pacus do tratamento SE32 e SE28 utilizaram mais proteína e carboidratos e os de SE24 carboidratos e lipídeos para demanda energética.

Abimorad et al. (2007) afirmam que os carboidratos são utilizados de forma efetiva, desde que haja balanço entre os componentes da dieta. O teor de proteína considerado adequado para pacus seria de 26 % (CANTELMO, 1993; FERNANDES et al., 2000, 2007) e a porcentagem considerada ideal de carboidratos e lipídeos seria 46 % e 4 %, respectivamente. A participação de lipídeos e carboidratos como fonte energética é dependente da espécie, e até mesmo das condições experimentais (HEMRE et al., 2002). “Grouper”, *Epinephelus malabaricus*, e “silver barb”, *Puntius gonionotus*, não apresentam redução no crescimento quando alimentados com menor teor de proteínas e maior de carboidratos (SHIAU & LIN, 2001; MOHANTA et al., 2007). Jundiá alimentado com dietas contendo altos teores de lipídeos passam a depositar gordura ao invés de utilizá-las como fonte energética (SALHI et al., 2004). Contrariamente, juvenis de “rockfish”, *Sebastes schlegeli*, e de “yellowfin seabream”, *Sparus latus*, utilizam melhor os lipídeos da dieta (LEE et al., 2002; HU et al., 2007). Tucunaré, *Cichla sp.*, e piracanjuba, *Brycon orbignianus*, também se beneficiam em termos de crescimento quando alimentados com dietas contendo maiores teores de lipídeos do que carboidratos (SAMPAIO et al., 2000; BORBA et al., 2006).

6.2. Efeitos dos níveis de proteína bruta da dieta em pacus em atividade natatória

6.2.1. Desempenho produtivo

Uma das preocupações recorrentes na criação comercial de peixes é ainda a tentativa de reduzir os teores de PB das dietas. Tal fato, pode diminuir tanto os custos de produção como os efeitos indesejados da excreção nitrogenada nos sistemas de criação. Dessa forma, pode-se obter melhora na cadeia produtiva e

trazer menores prejuízos ao meio ambiente. Uma alimentação balanceada que atenda as exigências mínimas de nutrientes para cada espécie se faz necessária, assim como, a associação com boas práticas de manejo pode possibilitar a redução dos custos de produção e crescimento rápido. Trabalhos que associem atividade natatória e nutrição animal em peixes tropicais e de água doce são escassos. Todavia, existem trabalhos que mostram respostas benéficas de crescimento e mudanças metabólicas sugestivas de aumento no aproveitamento de fontes não nitrogenadas como combustíveis energéticos, ao passo que as proteínas podem ser direcionadas ao crescimento, caracterizando o efeito poupador de proteína. Seria razoável que a associação de atividade natatória com dietas balanceadas específicas resultasse em respostas ainda mais satisfatórias do que aquelas encontradas isoladamente.

No presente estudo, os peixes submetidos à atividade natatória aeróbica a 2 CC/seg e alimentados com 24 % de PB (E24) apresentaram maiores valores de GPD em relação ao tratamento E28. Além disso, os valores de TEP do tratamento E24 foram maiores em relação aos tratamentos E28 e E32. Mesmo sendo o tratamento que recebeu menor teor de proteína na dieta (E24), houve maior eficiência no aproveitamento da proteína consumida, o que pode ter levado ao maior GPD. Provavelmente, os pacus exercitados incorporaram a proteína da dieta aproveitando os outros nutrientes para a demanda energética. Para pacus sob exercício a exigência de proteína possa ser suprida apenas com 24 % tanto para manutenção das funções vitais como para a síntese de proteína. Apesar do tratamento E32 não diferir do E24 com relação ao GPD, seu TEP foi menor, podendo indicar que níveis mais elevados de proteína na dieta de pacus sob exercício moderado não foram capazes de aumentar a eficiência de aproveitamento protéico para o crescimento quando comparado com E24. Provavelmente os pacus sob exercício e que se alimentaram com 24 % de PB tiveram seu crescimento potencializado pela associação desses dois fatores permitindo que os peixes metabolizassem mais o alimento ofertado. Com relação ao tratamento E32 poderíamos inferir que parte da proteína proveniente da dieta foi direcionada para ganho em peso (GP) e parte, provavelmente excessiva, foi utilizada para a demanda energética.

A maioria dos estudos de avaliação dos teores adequados de proteína bruta na dieta para pacu é baseada na resposta de desempenho sem exercício.

Trabalhos foram realizados com pacu a fim de encontrar teores de proteína bruta adequados a diversas faixas de peso vivo. Por exemplo, para pacus de 240,3 g de peso são recomendadas dietas contendo 22 % PB e 4000 kcal ED/kg de ração (CARNEIRO et al., 1992), enquanto que para juvenis de 7,9 g (FERNANDES et al., 2000) e de 112,1 g (FERNANDES et al., 2001), os teores protéicos recomendados são de 26 e 22 %, respectivamente, com o mesmo nível de energia bruta (4200 kcal EB/kg de ração). Cantelmo, (1993) recomenda para pacus de 27,9 g uma dieta com 26 % PB e 2600 kcal ED/kg de ração. No presente estudo os pacus tinham, inicialmente, peso médio de $23,9 \pm 4,7$ g. Sendo assim, segundo os autores o valor recomendado de proteína seria o de 26 %. No entanto, os pacus exercitados obtiverem melhor desempenho produtivo com 24 % PB.

Existem pesquisas que mostram que peixes em exercício aeróbico são beneficiados por esta prática. Por exemplo, matrinxãs exercitados por 72 dias, a velocidade de 1 CC/seg, apresentam melhor CA e crescimento, com GP superior a 38 % (HACKBARTH & MORAES, 2006). Todavia, matrinxãs submetidos ao exercício por 90 dias obtêm crescimento 20 % maior entre 1,0 e 1,5 CC/seg (ARBELÁEZ-ROJAS & MORAES, 2010). Pacus exercitados a 1 e 2 CC/seg melhoram as médias de peso, comprimento, altura, CA e TEP (HACKBARTH, 2010). Os pacus exercitados a 2 CC/seg crescem mais de 50 % em peso e apresentam os melhores valores de CA e TEP, mostrando que o exercício estimula o crescimento, bem como o aproveitamento dos nutrientes da dieta (MORAES et al., 2009).

A melhoria no desempenho produtivo, além das adaptações metabólicas, também pode ser devida a mudanças comportamentais. A prática de exercício modifica o comportamento dos peixes, levando à melhor orientação na corrente de água, melhora do convívio social, diminuição do nível de dominância, da frequência dos ataques, do nível de estresse e da mortalidade (TOTLAND et al., 1987; CHRISTIANSEN & JOBLING, 1990; JOBLING, 1994; DAVISON, 1997; BLAKE, 2004; HACKBARTH & MORAES, 2006; GRÜMBAUM et al., 2008; ARBELÁEZ-ROJAS & MORAES, 2009). O matrinxã, por exemplo, é uma espécie muito agressiva e mantém dominância hierárquica. Quando submetido à atividade natatória esta espécie posiciona-se na coluna da água devido ao estímulo de correnteza, em forma de cardume, nadando continuamente e, nota-se diminuição do comportamento agressivo (MORAES, et al., 2009). Hackbarth (2010) descreve alterações comportamentais de pacus exercitados e alimentados com 28 % de PB e

diferentes teores de carboidratos e lipídeos, tais como: aumento na voracidade durante a alimentação, distribuição mais uniforme do alimento para os peixes e diminuição de sobra de ração nos tanques experimentais. A autora infere que essa mudança é favorável ao maior crescimento, visto que permite maior uniformidade de peso entre os animais devido ao maior aproveitamento do alimento ofertado, diminuição de energia gasta em ataques para domínio de territórios. Apesar do estudo do comportamento não ter sido o objetivo deste trabalho, também foi observado o mesmo comportamento descrito por Hackbarth (2010). Esse relato comportamental dos peixes exercitados permite melhor esclarecimento dos benefícios que a prática da atividade natatória pode proporcionar. Arbeláez-Rojas & Moraes (2009) mostraram que o crescimento varia significativamente em função tanto da densidade de estocagem, quanto da condição física (exercício) em matrinxãs. Os autores afirmam que o exercício moderado tem efeito positivo no desempenho produtivo de matrinxãs alojados em diferentes densidades, já que o crescimento dos peixes é uniforme.

Atualmente o volume de estudos que associam nutrição e atividade natatória é pequeno. Porém, os trabalhos existentes demonstram resultados satisfatórios, como por exemplo, em salmão do Atlântico, *Salmo salar*, mantido com suplementação de 25 % de lipídeos na dieta. Essa espécie apresenta respostas de desempenho produtivo melhores, atingindo inclusive velocidades de nado maiores em testes de natação forçada comparadas às dos peixes não-suplementado com lipídeos (McKENZIE et al., 1998). Tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, climatizada em três temperaturas diferentes e alimentada com dieta enriquecida com gordura poli-insaturada ω -3, apresenta menor excreção de amônia após exercício exaustivo do que tilápia alimentada com ácidos graxos saturados (McKENZIE et al., 1996). Todavia, pacus exercitados e alimentados com proporções diferentes de carboidratos e lipídeos apresentam crescimento superior aos peixes que não se exercitam (HACKBARTH, 2010), principalmente os que se alimentam com dieta 25/15 e 35/10 (carboidratos/lipídeos). A autora sugere que o exercício associado à dieta contendo mais lipídeos e menos carboidratos, traz respostas de crescimento satisfatórias para pacu.

Provavelmente os pacus do tratamento E24 tiveram suas necessidades metabólicas atendidas com 24 % de PB. Isto permite inferir que há adaptação metabólica em pacus exercitados, pois os peixes reorganizam o organismo evitando

gastos energéticos desnecessários, redirecionando as proteínas em favor do crescimento e assim utilizam as fontes não-nitrogenadas para a demanda energética (MOYES & WEST, 1995; DAVISON, 1997; WOOD, 2001; RICHARDS et al., 2002; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007, HACKBARTH, 2010). Os altos teores de proteína da dieta (E28 e E32) não trouxeram melhoria no desempenho produtivo de pacus exercitados. Provavelmente, os teores de proteína contidos nessas dietas foram excessivos para os animais, sendo utilizado como combustível energético visto que o tratamento E24 com menor teor de proteína apresentou o mesmo GPD que o tratamento E32 e maior TEP que os demais tratamentos. Portanto, baseado somente nos dados de desempenho produtivo pode-se inferir que o tratamento E24 seja o nível mais adequado por apresentar economia na inclusão de proteína na dieta e conseqüentemente menor excreção nitrogenada.

6.2.2. Índices hepatossomático e viscerossomático de pacus exercitado

A mobilização das fontes energéticas ocorre de forma mais eficientes em algumas espécies de peixes, independente da exigência nutricional. A dinâmica da utilização endógena de energia pode ser estimada monitorando-se os índices hepatossomáticos e gordura viscerossomática, sendo que as alterações nesses índices podem refletir a utilização de lipídio, proteína e glicogênio (COLLINS & ANDERSON, 1995). No presente estudo, não houve diferença significativa com relação IHS entre os peixes exercitados. O IHS é a variável utilizada para quantificar o estoque energético imediato (glicogênio) em peixes, que pode ser mobilizado no período de inverno, vitelogenese, reprodução e/ou estresse e outros (CYRINO et al., 2000; QUEROL et al., 2002). Portanto, os valores similares neste índice são indicativos de que os estoques de glicogênio permaneceram inalterados frente à variação dos teores de proteína na dieta. Segundo Power et al. (2000), nem sempre o IHS pode ser considerado um índice confiável para avaliar o estado nutricional porque ele pode ser influenciado por outros fatores fisiológicos, como reprodução e doenças.

O tecido adiposo do mesentério é considerado um grande sítio de estoque de energia nos teleósteos (SHERIDAN, 1994). A gordura visceral parece ser um sítio de estoque de lipídios também no pacu. No presente estudo observou-

se maior valor de IVS no tratamento E28 em relação aos demais tratamentos. O maior valor de IVS do tratamento E28 é indício de aumento na deposição de gordura. Sendo assim, os pacus exercitados do tratamento E24 e E32 apresentaram indício de aumento de deposição muscular, que pode ser confirmado pelo maior ganho em peso diário desses tratamentos. No entanto, vale lembrar que o E24 foi mais eficiente em aproveitar a proteína consumida, visto que possui o teor menor de PB. Porém, obteve o mesmo ganho em peso que em E32. Portanto, no presente estudo constata-se que o nível de proteína na dieta afeta o IVS de pacu.

Estudos de nutrição com outras espécies de peixes e com outro enfoque nutricional demonstram respostas diferentes com relação ao IHS e IVS. Quando se substitue o milho pelo tritcale na dieta de tilápias não há influência no índice hepatossomático, víscerosomático, gônadosomático e no acúmulo de gordura (TACHIBANA, 2010). O índice hepatossomático e o índice víscerosomático não apresentam diferença significativa entre os níveis de suplementação de ração de carpa-capim, *Ctenopharyngodon idella* (COSTA, 2006). Não há alteração nos valores de IHS e IVS quando se utiliza diferentes fontes lipídicas na dieta de jundiá (LOSEKANN, 2006). O tambaqui e a pirapitinga (*Piaractus brachypomum*) não apresentam diferenças nos valores de IHS, porém seu híbrido tambatinga (*C. macropomum* x *Piaractus brachypomum*) mostram valor menor (De PAULA, 2009). A autora ainda relata que a pirapitinga apresenta valor maior de IVS em relação ao tambaqui e o híbrido.

6.2.3. Hematologia

Estudos mostram que diferenças na formação e função das células sanguíneas podem ser indicativas de manipulação da alimentação (GREENE & SELIVONCHICK, 1990; DUNCAN et al., 1993; WISE et al., 1993). Todavia, o exercício, mesmo moderado, pode acarretar modificações no fluxo sanguíneo, no diâmetro das veias e nas funções de oxigenação e respiração (SATCHELL, 1991, SÄNGER & PÖTSCHER, 2000). O conhecimento das respostas hematológicas para pacus exercitados e alimentados com diferentes dietas pode ser útil para compreender suas respostas metabólicas, permitindo maximizá-las e propor novas formulações de dietas. Vale ressaltar que nesta parte da discussão daremos ênfase as alterações hematológicas decorrentes da condição nutricional visto que os pacus

do presente estudo estavam nas mesmas condições de exercício. Portanto a avaliação estatística aplicada leva-se em conta os efeitos causados pela nutrição. Trataremos dos efeitos da atividade natatória sobre pacu mais adiante, cuja avaliação estatística determina o efeito do exercício em cada condição nutricional. Portanto, as alterações hematológicas presenciadas nesta comparação foram em virtude das condições nutricionais dos pacus exercitados.

Como se sabe, os aminoácidos são os constituintes fundamentais das proteínas, sendo essenciais para formação e regeneração de grande parte dos tecidos, entre eles, o sangue (KUBTIZA, 1999). O aumento na disponibilidade de aminoácidos estimula a produção de eritrócitos em peixes (GARCIA-NAVARRO & PASCHALY, 1994), células ricas em proteínas transmembrana (BAIN, 1997) e hemoglobina, responsável pelo transporte de oxigênio e gás carbônico. O aumento no número de eritrócitos (RBC) observado nos tratamentos E28 e E32 pode ser justificado pelos maiores níveis de PB (28 e 32 %) nas dietas os quais levaram ao aumento na disponibilidade de AAL estimulando o aumento da eritropoiese. Outra hipótese é que o baço, estrutura onde se armazena grande número de eritrócitos, tem sua atividade afetada pelo nível de PB da dieta (VIJAYAN & LEATHERLAND, 1989; PULSFORD et al., 1994), liberando os eritrócitos na corrente sanguínea. Em algumas espécies de peixes é observado aumento no número dos eritrócitos em virtude de altos níveis de proteína bruta na dieta, como por exemplo, em linguado, *Paralichthys dentatus*, observa-se aumento nos valores de RBC quando o nível de PB na dieta é aumentado (DANIELS & GALLAGHER, 2000). Outro exemplo é a Tilápia do Nilo que apresenta aumento no número de eritrócitos quando alimentadas com dietas contendo altos teores de proteína bruta (ABDEL-TAWWAB et al, 2010). Os estudos mostram que altos teores de proteína influenciam no aumento de eritrócitos.

Juvenis de matrinxãs exercitados a 1,5 CC/seg. apresentam aumento dos valores de hemoglobina, RBC e hematócrito (ARBELÁEZ-ROJAS & MORAES, 2010). Os autores justificam as alterações hematológicas ocorridas como decorrentes da demanda metabólica imposta pela prática de exercício. Pacus exercitados e alimentados com dieta contendo 27 % de carboidratos e 15 % de lipídeos apresentam elevação de hematócrito e hemoglobina. Estas alterações parecem ser reflexos da tentativa do peixe em lidar com a situação metabólica e energética aumentadas pelo exercício, especificamente quando alimentados com

dietas contendo mais lipídeo (HACKBARTH, 2010). A autora discute que esta dieta disponibiliza mais lipídeos para fins energéticos, necessitando maior aporte de oxigênio e, conseqüente, aumento de hematócrito e hemoglobina. Entretanto, apesar do aumento no RBC observou-se diminuição do VCM no tratamento E32. Além disso, houve diminuição de HCM e aumento do CHCM, mas sem alterações na hemoglobina no tratamento E32. Esses fatos poderiam indicar aumento no número de eritrócitos, porém essas células eram pequenas e imaturas, explicando assim volume menor. Em relação à hemoglobina, a quantidade permaneceu inalterada, porém o tamanho diminuiu e conseqüentemente, a concentração aumentou. As alterações hematológicas no presente estudo podem ser explicadas pela ocorrência de populações heterogêneas de eritrócitos no sangue de (observação freqüente em peixes), com células imaturas, geralmente, menores e contendo menos Hb que as células maduras (HÄRDIG & HOGLUND 1983).

No presente estudo não foi quantificado o tamanho absoluto das células eritrocitárias, porém através da metodologia utilizada constatou-se que eram menores, no tratamento E32 justificando assim os valores de VCM e HCM. Além disso, a demanda por oxigênio, possivelmente aumentada como se observa no presente através do quadro metabólico, justificaria também o aumento da CHCM.

6.2.4. Metabolismo

Os dados de desempenho produtivo nos indicam, por exemplo, o quanto o animal cresceu e o quanto foi ingerido de alimento para ganhar peso; porém não nos permitiu saber quais nutrientes estão sendo utilizado para o crescimento e quais metabólitos estão sendo depositados. Por exemplo, nos tratamentos E24 e E32 houve maior GPD indicando que os pacus desses tratamentos ganharam mais peso. No entanto, no primeiro tratamento houve maior TEP enquanto que no E32 observou-se valor inferior. Essas questões permanecem sem esclarecimento, somente com avaliação dos dados de desempenho produtivo. O estudo do metabolismo em peixes tem sido utilizado como indicador de seu estado fisiológico, além de permitir visualizar a utilização dos diferentes nutrientes ingeridos nos tecidos, podendo reforçar os dados de desempenho ou elucidar questões que não foram totalmente esclarecidas. A partir do conhecimento do quadro metabólico do animal com a determinação dos metabólitos no plasma,

fígado, músculo branco e vermelho podemos inferir se a utilização dos nutrientes está sendo vantajosa e eleger a dieta mais adequada. A partir daí, segue a discussão sobre a dinâmica dos metabólitos nos tecidos sob o efeito da variação no conteúdo protéico de pacus sob exercício.

O plasma é um importante veículo de transporte entre os tecidos, tanto de eritrócitos e leucócitos como de outras substâncias dissolvidas, tais como proteínas, nutrientes, hormônios, excreções, sais/íons e gases, permitindo assim inferir sobre o direcionamento dos metabólitos e demais substâncias entre os tecidos.

Os menores valores de lactato, AGL e TG plasmático observados em E32 podem ser ao seu possível redirecionamento para outro tecido. No caso de TGs plasmáticos, possivelmente estariam sendo direcionados aos tecidos quer para oxidação e manutenção da demanda energética quer para armazenamento. Ao contrário do tratamento E32, os pacus dos tratamentos E24 e E28 apresentam maiores valores de lactato, AGL e TG plasmáticos. O propósito dessas alterações será discutido nos outros tecidos.

Nos tratamentos E28 e E32 observou-se aumento significativo de proteína plasmática provavelmente ao aumento no teor de PB da dieta, como observado em truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss* (LONE et al., 1982), enguia européia, *Anguilla anguilla* (SUÁREZ et al., 1995), pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* (LUNDSTEDT et al., 2002), jundiá, *Rhamdia quelen* (MELO et al., 2006) e tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (ABDEL-TAWWAB et al., 2010). O aumento de proteína plasmática pode embasar a suposta eritropoiese discutida anteriormente nos dados hematológicos. No entanto, houve redução dos níveis de amônia no E28 e aumento no E32. No tratamento E28 sugere possível síntese de proteína tendo em vista o seu aumento e a diminuição de amônia. No tratamento E32 o aumento significativo de amônia plasmática pode ter sido devido à disponibilidade aumentada de proteína (aminoácidos) na dieta, o que favoreceu o catabolismo protéico. Como se sabe, o aumento da excreção de nitrogênio é uma conseqüência da utilização de aminoácidos como compostos energéticos (HIDALGO & ALLIOT, 1988; KIM et al., 1991). Estudos com peixes dão indícios de haver uma relação direta entre a ingestão de proteína e a excreção de amônia (LI & LOWELL, 1992; CHAKRABORTY & CHAKRABORTY, 1998). Outra possível explicação para o catabolismo protéico excessivo é o fato de que o excedente de aminoácidos nos peixes alimentados com

dietas ricas em proteínas não pode ser armazenado, sendo esses desaminados e convertidos em compostos energéticos (BALLANTYNE, 2001; STONE et al., 2003). De fato, parece existir relação direta entre consumo de proteínas e aumento de amônia, tal como verificado para “silver perch”, *Bidyanus bidyanus*, robalo, *Dicentrarchus labrax* (YANG et al., 2002; PERES & OLIVA-TELES, 2001), enguia de barbatanas curtas, *Anguilla australis australis* (ENGIN & CARTER, 2001), jundiá (MELO et al., 2006), e tilápia do Nilo (ABDEL-TAWWAB et al., 2010). O excesso de amônia é rapidamente excretado pelas brânquias (VAN WAARDE et al., 1983), portanto, o excedente de amônia encontrado no presente estudo provavelmente reflete o aumento do catabolismo protéico. Nos pacus E24 observou-se menor valor de amônia e proteína plasmática, o que pode ser explicado em relação à amônia pelo menor uso de proteína para a demanda energética. Porém, no caso da proteína plasmática, ao contrário dos outros tratamentos em que o valor elevado teve origem no excedente de proteína da dieta, havia menor teor de proteína.

Considerando-se que as relações carboidratos: proteínas são decrescentes com o aumento de PB da dieta, ou seja, no E24 esta relação é de 1,06 e no E32 é de 0,78, o valor de glicose aumentado no tratamento E24 pode ter origem na disponibilidade maior de glicose, enquanto que o segundo, em E32, provavelmente deve-se à gliconeogênese. Quando o peixe é alimentado com quantidades elevadas de proteína, o excedente é utilizado tanto para crescimento como para a gliconeogênese, como é o caso em jundiá (MELO et al., 2006). Todavia, a conversão de compostos nitrogenados em glicose pode ser diminuída, pois as demandas energéticas poderiam ser mantidas por carboidratos e lipídeos. Portanto, torna-se necessário determinar a concentração de proteínas adequada para cada espécie de peixes nas diferentes fases de vida, já que quantidade baixa de proteína poderia causar prejuízos metabólicos e de crescimento, e seu excesso poderia levar a excreção desnecessária de compostos nitrogenados. Diversos peixes têm o valor dietético de proteína já estabelecido. Para “yellow catfish”, *Pseudobagrus fulvidraco*, o valor recomendado de PB é 42 % (KIM & LEE, 2005); matrinxã em torno de 28 % (IZIEL et al., 2004); jundiá e tilápia necessitam de 37 % de PB na dieta (SALHI et al., 2004; ALI et al., 2008). Para o pacu, os melhores resultados de desempenho foram encontrados em 22 % de PB para juvenis (FERNANDES et al., 2001) e 26 % alevinos (FERNANDES et al., 2000), sendo que

para os alevinos de pacus a proporção entre os nutrientes considerada ideal seria em torno de 46 % de carboidratos e 4 % de lipídeos (ABIMORAD et al., 2007).

Os teores de 28 e 32 % de PB na dieta possivelmente excederam as exigências de proteína bruta para a espécie nestas condições experimentais, portanto, excedente de proteína exógena foi convertida em gordura, e armazenada no tecido hepático. Esses valores de PB da dieta provavelmente, não estariam sendo demandados integralmente para as necessidades energéticas. Essa condição metabólica justifica também a redução de AGL, que estaria sendo direcionado à síntese de TG. Como os peixes têm maior facilidade de utilização de proteína, provavelmente os lipídeos não foram energeticamente bem utilizados. Outro fato que deve ser levado em conta é o teor de lipídeos (15 %), que possivelmente tenha sido excessivo com a combinação de 28 e 32 % de PB e 25 % de ENN. Como o pacu é uma espécie que aproveita muito bem a energia vinda dos carboidratos e dos lipídios (ABIMORAD et al., 2007), provavelmente, a formulação da dieta com 28 e 32 % de PB, mais o valor baixo de ENN e o valor alto de lipídeos, não favoreceram o melhor aproveitamento desses últimos nutrientes mencionados.

No tratamento E24 observa-se melhor aproveitamento dos lipídeos para a demanda energética, pois houve menor valor de AGL e TG hepáticos, sendo que o AGL poderia ter sido lançado para o plasma explicando assim aumento e a redução observada no fígado. O aumento dos valores de TG poderia ter sido devido à lipólise. Matrinxãs exercitados a 1 CC/seg. apresentam maior capacidade de oxidar lipídeos e carboidratos, com taxa catabólica superior a 40 e 15 %, respectivamente, o que mostra que esta espécie, ao se exercitar, apresenta preferência por lipólise seguida por glicólise (HACKBARTH & MORAES, 2006).

Os teores de 28 e 32 % PB nas dietas para pacus sob exercício refletiram-se nos teores de AAL hepático. O excesso de AAL provavelmente foi oxidado no ciclo de Krebs, gerando acetilCoA que suportaria o aumento de TG (lipogênese) observado. Resultados similares foram verificados por VIEIRA et al. (2005) em matrinxãs alimentados com teores crescentes de PB da dieta, mas que não se exercitaram.

Outra variável bioquímica que pode indicar o estado fisiológico dos peixes e o direcionamento dos nutrientes são as enzimas. Sabe-se que a expressão de enzimas chave do metabolismo intermediário é também modulada pelo estado nutricional dos peixes (METÓN et al., 1999, 2003). A determinação dos níveis de

aminoácidos, metabolização de enzimas e excreção de nitrogênio são indicadores confiáveis de disponibilidade de proteína na dieta. Como o metabolismo de aminoácidos envolve reações de desaminação e transaminação, as determinações das atividades das enzimas envolvidas nessas reações são úteis para avaliar o estado de alimentação dos peixes (ALEXIS & PAPAPARASKEVA-PAPOUTSOGLOU, 1986; MOYANO et al., 1991, MELO et al., 2006). Os maiores valores de ASAT de fígado nos tratamentos E28 e E32 sugerem catabolismo protéico, confirmado pelo aumento de AAL nesses dois tratamentos. Provavelmente, a quantidade fornecida de proteína nessas dietas foi excessiva para os pacus que se exercitaram causando catabolismo protéico para a demanda energética e poupando os lipídeos para esse fim. Isto é visto pelo aumento de TG no E28 e E32, o que pode ser indício de lipogênese. Em jundiás as atividades da ALAT, ASAT e GDH hepáticas são aumentadas por serem alimentados com dietas de alto nível protéico (MELO et al., 2006). Os autores sugerem que altos teores de PB da dieta podem refletir no uso dos esqueletos de carbono dos aminoácidos em excesso para suprir demandas energéticas. Da mesma forma, altas taxas de proteína:carboidrato na alimentação de gilthead seabream, *Sparus aurata*, resultaram em aumento das atividades de ALAT e ASAT hepáticas (METÓN et al., 1999), de ALAT e GDH em truta arco-íris (SÁNCHEZ-MUROS et al., 1998) e de GDH em *Anguilla anguilla* (SUÁREZ et al., 1995). Abdel-Tawwab et al. (2010) também observaram aumento das atividades de ALAT e ASAT em tilápia do Nilo alimentada a 45 % PB na dieta. Segundo Van Waarde (1983), a utilização de proteína ingerida como fonte de energia varia entre 41 % e 85 % entre os peixes, dependendo da espécie. Portanto, a relação proteína/carboidrato deve ser ajustada para evitar a degradação de aminoácidos como substrato energético.

O aumento da PB na dieta elevou o teor de lactato no músculo branco nos tratamentos E28 e E32. Essa resposta sugere aumento na disponibilidade de piruvato, que poderia ser oriundo da transdesaminação, envolvendo por fim a alanina. Resposta semelhante é observada em matrinxã com redução de carboidratos na dieta e aumento de PB interferindo na taxa lactato/piruvato (VIEIRA et al., 2005). Neste caso, o teor de lactato aumentado foi decorrente da condição nutricional visto que todos os peixes foram condicionados na mesma velocidade de nado; além disso, a velocidade de nado que foi imposta é considerada adequada à espécie (MORAES et al., 2009). Apesar do aumento do lactato no músculo branco

houve redução da atividade de LDH no tratamento E32. Provavelmente, nos peixes nestas condições nutricionais, ocorreu fermentação no músculo branco, e o lactato foi lançado para o plasma.

O aumento de aminoácidos no músculo branco observado em adição ao aumento de PB da dieta pode estar principalmente relacionado à alanina que estaria sendo exportada para o tecido hepático (ciclo da alanina) justificando o aumento de AAL nesse tecido. Com relação ao aumento de amônia no tratamento E32 e da proteína total no E28 e E32 no músculo branco, cabe a mesma explicação dada para o plasma. A disponibilidade aumentada de proteína (aminoácidos) na dieta favoreceu o catabolismo protéico, o que justificaria o aumento significativo de amônia em E32; esse catabolismo excessivo deve-se ao fato de que o excedente de aminoácidos nos peixes alimentados com dietas ricas em proteínas não pode ser armazenado, sendo esses desaminados e convertidos em compostos energéticos (BALLANTYNE, 2001; STONE et al., 2003).

No tratamento E24 observou-se o menor valor de lactato no músculo branco o que indica menor utilização deste metabólito no tecido nessas condições, além de possível direcionamento para o plasma, onde se apresentou aumentando. Constataram-se também menores valores de TG, amônia e proteína no músculo branco. A explicação para os teores de TG seria possível lipólise e a menor concentração de amônia estaria relacionada ao menor catabolismo protéico. Em peixes exercitados, os lipídeos que estão estocados em sua maioria como TG de vísceras e fígado são liberados como ácidos graxos livres para o sangue, e assim, atendem à demanda energética (van den THILLART & Van RAAJI, 1995; BERNARD et al., 1999). Em espécies de peixes consideradas menos ativas, apresentam respostas similares, como é o caso do “red sea bream” e do “japanese flounder” (FORSTER & OGATA, 1996; OGATA & OKU, 2000). Em matrinxãs, que apresentam aumento da oxidação lipídica, admite-se que haja adaptação para oxidar lipídeos por ser espécie reofilica e necessitar manter maior crescimento (HACKBARTH & MORAES, 2006). Na natureza, parece que o exercício estimula esta capacidade durante a migração (FORSTER & OGATA, 1996; OGATA & OKU, 2000). Em “sockeye salmon”, por exemplo, durante a migração, os lipídeos são os maiores contribuintes energéticos, sendo que os músculos locomotores consomem em torno de 75 a 95 % da oxidação lipídica (MAGNONI et al., 2006). Porém, o menor teor de proteína encontrado no músculo branco de E24 foi devido ao menor teor de proteína

exógena. Os tratamentos E28 e E32 continham teores de proteína maiores, e o excedente contribuiu para os maiores valores de proteína observado nesse tecido.

No músculo vermelho a maior concentração de glicose nos pacus do tratamento E32 deve ser resultante de captação de glicose plasmática ou de sua menor utilização como material energético em virtude de outros nutrientes; lembrando que a glicose hepática apresenta o mesmo perfil glicídico que o músculo vermelho.

O catabolismo de gorduras no músculo vermelho foi igualmente observado no E32 visto ter ocorrido aumento de AGL e diminuição dos estoques de TG. A mesma situação metabólica foi observada nos pacus do tratamento E28. Empregando câmara respirométrica adaptada, Lauff & Wood (1996) mostraram que juvenis de truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss*, utilizam lipídeos como fonte primária de energia para sustentar a natação moderada, sendo os carboidratos uma opção secundária, e por último a oxidação protéica, o que justificaria o catabolismo lipídico neste tecido, visto que a demanda de utilização deste tecido muscular é aumentada nos peixes submetidos ao exercício. Trabalhos relacionados ao exercício apontam para o uso preferencial de lipídeos na manutenção da atividade e crescimento (FORSTER & OGATA, 1996; DAVISON, 1997; YOGATA & OKU, 2000; OGATA & OKU, 2000; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007), sendo que os músculos locomotores respondem por cerca de 75 a 95% da oxidação lipídica (MAGNONI et al., 2006).

Os valores de PB nas dietas de pacus nos tratamentos E28 e E32 seriam os responsáveis pela preferência metabólica por proteína como fonte energética ao invés da utilização de lipídios no músculo vermelho. Isto pode ser inferido pela maior concentração de amônia em E32, sugerindo preferência pelo catabolismo de aminoácidos nessa condição; devido à utilização do excesso de proteína da dieta como substrato energético, o que é confirmado pelas altas atividades das enzimas ALAT e ASAT no tratamento E28 e E32. O motivo de uso da PB para demanda energética foi os teores excessivos de PB acima da exigência adequada para a espécie. Isso deve-se ao fato de terem os peixes facilidade em utilizar proteínas como fonte energética, e apresentarem menor consumo energético, principalmente por não precisarem regular a temperatura corpórea e apresentarem excreção dos subprodutos de metabolização dos aminoácidos principalmente como amônia, que é solúvel no ambiente e atravessa passivamente às brânquias

(PEZZATO et al. 2004). No E28 observou-se menor concentração de glicose no músculo vermelho, o que pode ser indicativo de maior consumo deste metabólito visto que esse músculo é muito solicitado quando o peixe está sob exercício. Observa-se também, no tratamento E28 possível lipólise comprovado pelo menor valor de TG. A concentração menor de AGL pode ser ao direcionamento para o plasma onde se encontra valor maior deste metabólito. Com relação ao metabolismo protéico neste tecido, constata-se menor teor de amônia no tratamento E28 e E24 indicando menor uso de proteína como fonte energética.

Apesar da maior atividade de LDH no músculo branco e vermelho dos pacus do tratamento E24 houve menor concentração de lactato no músculo branco e não houve alterações na concentração de lactato no músculo vermelho que justifique o aumento dessa enzima. Porém, deve-se levar em conta que os intermediários metabólicos são dinâmicos; o fato de o lactato não ter aumentado nos tecidos avaliados não significa que ele não foi sintetizado em quantidades maiores ou menores que as normalmente produzidas. Além disso, o lactato poderia ter sido exportado para outros tecidos. Outra razão para atividade aumentada de LDH pode ser o fato dessa enzima não estar somente relacionada a fatores como, estresse e ausência de oxigênio tissular; estudos mostram uma relação entre LDH e o crescimento em peixes (GUDERLEY et al., 1996; DUTIL et al., 1998; COUTURE et al., 1998) pois, sua atividade tem relação direta com o aumento da massa muscular consequentemente com aumento das células sarcoplasmáticas (COUTURE et al., 1998). Este aumento de atividade pode ser estimulado pela capacidade glicolítica aumentada, a qual pode ser estimada também pela atividade de fosfofrutocinase (PFK). Portanto, parece existir uma correlação entre o aumento da atividade de LDH, além de outras enzimas glicolíticas, com o ganho em massa muscular (PELLETIER et al. 1993). A atividade de duas enzimas mitocondriais, citrato sintase e citocromo C oxidase (CCO), mais a enzima LDH no músculo branco de "saithe", *Pollachius virens*, são também positivamente correlacionadas com crescimento (MATHERS et al., 1992). O bacalhau do Atlântico, *Gadus morhua*, tem aumento de crescimento concomitante ao aumento da atividade de LDH (GUDERLEY et al., 1996). Porém, os estudos que correlacionam a atividade de LDH com crescimento levam em conta outras variáveis bioquímicas, tais como, tripsina e quimotripsina nos cecos pilóricos, fosfatase alcalina no intestino, piruvato quinase (PK) nas brânquias e músculo branco (BLIER, 2002), etc. No presente estudo, apesar de não terem sido

ensaiadas as enzimas citadas acima, o aumento do LDH pode ter sido devido ao crescimento aumentado visto que, em E24 observou-se maior ganho em peso diário e maior taxa de eficiência protéica. Nos outros tratamentos observou-se decréscimo na atividade de LDH de músculo branco com o aumento da proteína da dieta e no músculo vermelho a atividade desta enzima foi menor em E28 e E32. Vale lembrar que, o tratamento E28 apresentou crescimento inferior aos demais e o E32 apresentou GPD similar ao E24, porém, com TEP inferior. Nossos dados sugerem, portanto, uma relação direta da atividade de LDH de músculo branco com o crescimento. Portanto, a determinação da atividade da LDH associada a outras enzimas glicolíticas pode servir de ferramenta de investigação do crescimento.

Em suma, os peixes que se exercitaram e foram alimentados com 32 % PB apresentaram fermentação láctica no músculo branco, gliconeogênese no músculo vermelho e fígado, lipogênese no fígado, músculo branco e vermelho e possível proteólise no músculo branco e vermelho devido ao excesso de proteína disponível. No tratamento E28 observou-se fermentação láctica no músculo branco, glicólise no fígado e músculo vermelho, lipogênese no fígado e músculo branco e menor excreção de amônia no músculo branco e vermelho. Entretanto, no tratamento E24 houve redução dos teores de lactato no músculo branco, lipólise no fígado e músculo branco e menor excreção de amônia no músculo branco e vermelho. Assim sendo, quando os pacus foram submetidos ao exercício e alimentados com 24 % PB apresentaram preferência na utilização de lipídeos para a demanda energética. Os pacus exercitados e alimentados com 28 % PB mostraram preferência por carboidratos, enquanto que os pacus alimentados com 32 % de PB apresentaram preferência por proteína seguida por carboidratos.

6.3. Efeito da atividade natatória aeróbica sustentada em pacus alimentados com mesmos níveis de PB na dieta

6.3.1. Desempenho produtivo

Os valores observados de GPD e TEP em pacu alimentados com 24 % de PB e sob atividade natatória (E24) foram maiores que o seu controle (SE24). Nos outros tratamentos (E38 e E32) não houve diferença entre os peixes exercitados e seus respectivos controles. Além dos pacus do tratamento E24 apresentarem

valores de GPD superior ao controle, os altos valores de TEP sugerem que as proteínas consumidas estão sendo direcionadas para o crescimento e não para atender a demanda metabólica, pois esse índice avalia a eficiência protéica da associação do GP em relação à proteína ingerida. Isto mostra que o teor de 24 % de PB para pacus foi suficiente para atender suas exigências protéicas. Além disso, a atividade natatória permitiu aos peixes utilizarem de maneira mais eficiente as fontes não-nitrogenadas como combustível energético, poupando assim as proteínas e direcionando-as para síntese.

Os peixes que realizam atividade natatória e nadam na faixa de velocidade ideal para a espécie apresentam melhor desempenho produtivo que aqueles sem exercício (YOUNG & CECH Jr., 1994a; JOBLING, 1994; FORSTER & OGATA, 1996; OGATA & OKU, 2000; AZUMA et al., 2002; BUGEON et al., 2003). Por exemplo, os pacus quando submetidos a 2 CC/seg, ganham 50 % em peso e apresentam os melhores valores de CA e TEP em relação aos que não se exercitam (HACKBARTH, 2010). Matrinxãs quando se exercitam por 72 dias, a velocidade de 1 CC/seg, apresentam valores de GP superiores a 38 % e melhor CA (HACKBARTH & MORAES, 2006). Além disso, a mesma espécie apresenta maior capacidade para oxidar lipídios e carboidratos, com taxa catabólica superior a 40 % e 15 %, respectivamente e síntese protéica muscular de 30 % em relação aos peixes que não se exercitam (ARBELÁEZ-ROJAS, 2007). Em salmão masu, *Onchorhynchus masou masou*, (AZUMA et al., 2002); trutas: *Salmo truta* e *Oncorhynchus mykiss*, (DAVISON, 1997); striped bass, *Morone saxatilis* (YOUNG & CECH Jr., 1994); red sea bream, *Pagrus major* e yellowtail, *Seriola quinqueradiata* (OGATA & OKU, 2000); matrinxã, *Brycon amazonicus*, (HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ, 2007) e pacu, *Piaractus mesopotamicus*, (MORAES et al., 2009; HACKBARTH, 2010) apresentam melhoria no crescimento em função da prática de exercício. O “japanese flounder”, *Paralichthys olivaceus*, espécie sedentária, apresenta maior GP e comprimento corporal quando submetidas ao nado em velocidade moderada de 0,9 CC/seg. e crescimento insatisfatório em velocidades superiores a esta (OGATA & OKU, 2000).

Com a aplicação do exercício moderado, o alimento é melhor distribuído e os peixes crescem mais uniformemente (JOBLING, 1994; WOOD, 2001; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007). Quando o exercício é realizado sem interrupções, esta atividade reorganiza o metabolismo

poupando gastos extras provenientes do exercício, permitindo assim maior síntese protéica, aumentando o catabolismo lipídico e glicídico, e favorecendo o crescimento (DAVISON, 1997; MOYES & WEST, 1995; WOOD, 2001; RICHARDS et al., 2002; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007). Para o pacu, nadando em velocidade adequada, observa-se que o exercício estimula o crescimento, bem como, o aproveitamento dos nutrientes da dieta (HACKBARTH & MORAES, 2010). Desta forma, o exercício aeróbico pode auxiliar no aproveitamento da dieta proporcionando maior crescimento em menor tempo, devido à melhor utilização das fontes não-protéicas para a demanda energética (MORAES et al., 2009).

Melhor desempenho produtivo decorrente à prática de exercício pode ser associada a mudanças comportamentais (DAVISON, 1989, JOBLING et al., 1993), tal como, a diminuição da dominância no cardume, o que resulta em aumento da capacidade de conversão dos nutrientes, utilizando-os para fins de crescimento ao invés de energéticos (JOBLING, 1994; WOOD, 2001; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007; MORAES et al., 2009; HACKBARTH, 2010).

O excesso de proteínas na dieta não é desejável no sistema de criação de peixe, pois pode diminuir o desempenho produtivo, e conseqüentemente, aumentar o custo de produção (KIM & LEE, 2005) e deteriorar a qualidade da água. No presente estudo, quando se utilizou teores elevados de proteína bruta na dieta, mesmo os pacus exercitados passam a utilizar proteína para a demanda energética. Segundo Pezzato et al. (2004) os peixes apresentam menor consumo energético, principalmente pelo fato de não precisarem regular a temperatura corpórea, como no caso de aves e mamíferos, e por serem capazes de utilizar mais eficientemente a proteína como fonte de energia, uma vez que a excreção dos subprodutos de metabolização dos aminoácidos (íon amônio – NH_4^+ ou amônia não-ionizada – NH_3) é feita passivamente nas brânquias.

Quando se melhoram os índices de desempenho produtivos, como a inclusão adequada de proteína e demais nutrientes, pode-se reduzir a quantidade de alimento fornecido para produzir a mesma biomassa de peixes, e invariavelmente, aumentar o lucro na atividade (KUBITZA, 1998).

6.3.2. Hematologia

Sabe-se que a prática de exercício promove alterações hematológicas para manter a atividade. O exercício moderado pode acarretar modificações no fluxo

sanguíneo, no diâmetro das veias e nas funções de oxigenação e respiração (SATCHELL, 1991, SÄNGER & PÖTSCHER, 2000). No presente estudo, a redução significativa do número de eritrócitos (RBC) observada nos pacus dos tratamentos E24 e E28 comparados com seus respectivos controles, não influenciou o crescimento dos peixes de E24. No entanto, os pacus do tratamento E28 apresentaram crescimento similar ao seu controle. Portanto, a redução do número de eritrócitos não prejudicou o crescimento dos pacus dos tratamentos mencionados. Não se tem claro o motivo fisiológico da redução do número de eritrócitos, todavia, o aumento observado do VCM no E24 e E28 comparados com seus respectivos controles estaria relacionado ao estado osmorregulatório, à dinâmica cardíaca e ao fluxo sanguíneo (HOUSTON, 1990). Provavelmente ocorreu nesses tratamentos a redução do número de eritrócitos com aumento do volume das células. As alterações observadas no quadro hematológico de pacu deveram-se, provavelmente, à vasodilatação causada pelo exercício (SATCHELL, 1991), a qual é útil para a manutenção da osmolaridade, do fluxo e da pressão sanguínea apropriados. O aumento da HCM no E24 e E28 (comparados com seus respectivos controles), variável relacionada à capacidade respiratória (HOUSTON, 1990), pode ser resultante da necessidade de maior aporte de oxigênio em consequência da prática de exercício. Sendo assim, as alterações no quadro hematológico observadas nos juvenis de pacu são, provavelmente, devidas às adaptações fisiológicas necessárias à demanda de oxigênio imposta pelo exercício. Não podemos descartar a influência da nutrição nas alterações hematológicas. Provavelmente, a associação dos fatores nutricionais com a atividade natatória influenciaram nos resultados dos tratamentos E24 e E28. Podemos dizer que o exercício e a condição nutricional do tratamento E32 não tiveram efeitos no quadro hematológico. Entretanto, os efeitos da condição nutricional já foram discutidos anteriormente.

As alterações hematológicas no presente estudo já eram esperadas, pois já foi confirmado em outros trabalhos que a prática de exercício acarreta modificações hematológicas importantes a fim de atender à demanda imposta pela atividade (SATCHELL, 1991, SÄNGER & PÖTSCHER, 2000). Juvenis de matrinxãs mantidos em velocidade de nado 1,5 CC/seg. aumentam a hemoglobina e os eritrócitos em 24 % e 18 % respectivamente; o hematócrito é 17 % maior em todos os peixes exercitados decorrentes da demanda metabólica imposta pela prática de

exercício (ARBELÁEZ-ROJAS & MORAES, 2009). Em outro estudo com matrinxãs mantidos em velocidade de 1 CC/seg observam-se valores menores de hemoglobina, VCM e CHCM, que poderiam indicar que o exercício facilita e/ou melhora o transporte de oxigênio, ou talvez, aumente a capacidade de captar oxigênio e desta forma, reduza o teor de hemoglobina circulante (MORAES et al, 2009). Em pacus exercitados e alimentados com a proporção 27/15 carboidratos/lipídeos observa-se elevação de hematócrito e hemoglobina; reflexos da tentativa do animal em lidar com a situação metabólica e energética aumentadas do exercício, especificamente quando alimentado com a dieta contendo mais lipídeo (HACKBARTH, 2010).

6.3.3. Metabolismo

Nas discussões anteriores foram abordados os efeitos dos níveis de proteína bruta da dieta em pacus sob exercício e os que não se exercitaram. Aqui abordaremos os efeitos da prática de exercício em pacus e como os nutrientes são utilizados pelo organismo variando os teores de proteína bruta da dieta. Para isso vamos tomar por base pacus que não se exercitaram (controle) e fazer comparações com exercitados dentro de determinada condição nutricional.

Como era esperado o perfil metabólico de pacus foi responsivo à prática de exercício dentro das diferentes condições nutricionais. Quando se compara os pacus exercitados do tratamento E32 com os não exercitados (SE32) observa-se redução de glicogênio hepático. Apesar de se admitir que o papel dos carboidratos aumenta apenas quando os peixes se exercitam a velocidades submáximas e máximas, onde há grande consumo de glicogênio (JOBBLING, 1994; van den THILLART & van RAAJI, 1995; WEBER & HAMAN, 1996; SUGITA et al., 2000; SUGITA et al., 2001; RICHARDS et al., 2002), ficou evidente que mesmo em velocidade adequada à espécie, ocorreu participação do catabolismo glicídico para sustentação energética, pelo fígado. Outros trabalhos demonstram o papel dos carboidratos como sustentação energética da atividade natatória. Como por exemplo, o matrinxã sob exercício a 1 CC/seg apresenta maior oxidação de carboidratos para atender a demanda energética, onde ocorre redução da concentração de açúcares totais e do glicogênio dos músculos branco e vermelho, e do glicogênio hepático (HACKBARTH & MORAES, 2006). A truta arco-íris e matrinxã

mostram maior atividade glicolítica durante o exercício moderado para poupar proteínas (DAVISON, 1997; KIEFFER et al., 1998; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007). Em carpas e trutas arco-íris mobilizam suas reservas de glicogênio ao nadar a 30 e 60 % da Ucrit, respectivamente (MOYES & WEST, 1995; RICHARDS et al., 2002), indicando maior atividade glicolítica ao nadar aerobicamente. Outra explicação para o papel dos carboidratos nos peixes exercitados é dada por Moon & Foster (1995), os quais aceitam que a truta exercitada aumenta a utilização da glicose exógena ao mesmo tempo em que conserva as reservas endógenas de açúcar. Com isso, modifica a densidade capilar muscular e aumenta a atividade das enzimas envolvidas no metabolismo de açúcares. Isto levaria a maior eficiência na utilização dos diferentes substratos energéticos durante a prática de exercício. Para o pacu nadando em velocidades baixas (1 CC/seg) ocorre aumento da participação do catabolismo glicídico para sustentação energética, pelo menos em músculo vermelho (HACKBARTH, 2010).

A redução de glicose e aumento de lactato no músculo branco dos pacus exercitados dos tratamentos E28 e E32, cujas concentrações de PB na dieta são elevadas, indicam fermentação láctica. É interessante observar que os pacus exercitados do tratamento E24, a condição de menor PB na dieta, observa-se exatamente o oposto. Em matrinxã, o lactato não exerce papel tão importante como gerador de energia (HACKBARTH & MORAES, 2006) e os autores argumentam que a maior atividade aeróbica pode ter conferido à espécie a capacidade de usar o lactato como fonte mantenedora dos níveis adequados de glicemia sem, entretanto, promover aumento da atividade anaeróbica. Portanto, não há razão plausível para esse aparente quadro fermentativo dos tratamentos E28 e E32 na condição de exercício, pois já foi comprovado que a velocidade de nado imposta no presente estudo é adequada para espécie. Tanto que pacus que nadam a 2CC/seg apresentam preferência metabólica aeróbica, não fazendo uso significativo de anaerobiose para obtenção de energia. Além do que as concentrações de lactato diminuem em todos os tecidos (HACKBARTH, 2010). A fermentação láctica é esperada quando os peixes são submetidos ao exercício extenuante como por exemplo, em dourado, *Salminus maxillosus*, que ao nadar exaustivamente por 15 minutos apresenta sinais de fermentação no tecido muscular, com aumento da concentração plasmática de lactato e glicose, aumento de lactato e diminuição de glicose e de glicogênio no músculo branco (MORAES et al., 2004). Além disso, no

presente, nem mesmo o quadro hematológico apresentou qualquer dado que justifique a fermentação. Outra incógnita foi a redução da atividade de LDH no músculo branco, que parece incoerente com o aumento de lactato no tecido. Dessa forma, fica a proposição de que algum fator ligado à dieta protéica possa estimular a fermentação láctica quando os peixes se exercitam e também interferem na atividade de LDH.

O músculo vermelho é um tecido solicitado na condição de exercício, considerado aeróbico e de preferência oxidativa quando os peixes são submetidos a velocidades moderadas nadando até 80 % U_{crit} (MOYES & WEST, 1995). Por isso metabolizam aerobicamente vários tipos de combustíveis, como AGL, piruvato, AAL e outros (MOYES et al., 1989). O aumento dos valores de AGL observado neste tecido, em pacus exercitados nas condições extremas de proteína na dieta, indica duas situações distintas: em condições de baixa proteína na dieta e mais a prática de exercício (E24), os AGL poderiam ter fins energéticos; em condições de alta proteína associada com exercício (E32), os AGL poderiam ser direcionados à reserva, já que se verificou aumento significativo de TG nestas condições. Como se sabe, o excesso de aminoácidos pode ser convertido em hidratos de carbono ou, em menores quantidades, em gordura (DRIEDZIC & HOCHACHKA, 1978), o que explicaria a lipogênese observada. Vale lembrar que, no plasma e no fígado os teores de AGL diminuíram, porém, os teores de TG permaneceram inalterados. Provavelmente, os AGLs foram direcionados para outros tecidos explicando assim a queda nos valores deste metabólito. Os resultados obtidos no presente estudo diferem do estudo de HACKBARTH (2010), no qual os pacus que nadam a 2 CC/seg utilizam os lipídeos com eficiência na demanda energética ao realizar o exercício imposto. Algumas espécies de peixes, ao realizar exercício aeróbico, utilizam os lipídeos de forma continuada, o que pode favorecer o anabolismo protéico (DAVISON, 1997; YOGATA & OKU, 2000). Matrinxãs que se exercitam a 1 CC/seg. apresentam mobilização dos lipídeos totais, diminuição de TG e aumento de AGL no músculo branco, que são sinais evidentes de utilização de ácidos graxos para manutenção energética (HACKBARTH & MORAES, 2006). Red sea bream, *Pagrus major* e “japanese flounder”, *Paralichthys olivaceus*, após se exercitarem por um mês e dois meses, respectivamente, a 80 % da U_{crit} , diminuem seus estoques lipídicos (FORSTER & OGATA, 1996; OGATA & OKU, 2000). No entanto, a truta arco-íris exercitada a 1 CC/seg. não mobiliza TG e AGL além dos valores de repouso

(BERNARD et al, 1999) e “striped bass” apresenta aumento dos estoques lipídicos após se exercitar a 1,5 – 2,4 CC/seg. e 2,4 – 3,6 CC/seg., o que poderia ser explicado pela capacidade desta espécie em acumular gordura (YOUNG & CECH Jr., 1994).

O aumento de proteína no músculo vermelho e de AAL no músculo branco e vermelho e redução de amônia hepática foi observado no tratamento E32 quando comparado com o controle. Sabe-se que os peixes exercitados aproveitam melhor a proteína para o crescimento. Provavelmente, parte do excedente de proteína oriunda da dieta foi utilizada na forma armazenada neste tecido. A deposição de proteína muscular é comumente encontrada em peixes submetidos à velocidade de nado moderado (JOBILING et al., 2003). A explicação desse fato é que em peixes exercitados os carboidratos e os lipídeos são responsáveis pela manutenção energética do organismo, permitindo assim maior síntese protéica e favorecendo o crescimento dos peixes (DAVISON, 1997; WOOD, 2001). Matrinxãs que se exercitam apresentam maior capacidade para oxidar lipídios e carboidratos, com taxa catabólica superior a 40 e 15 %, respectivamente, além de aumentarem em 30 % a síntese de proteína muscular (ARBELÁEZ-ROJAS, 2007). Com relação aos AAL, o alto teor de PB na dieta proporcionou maior disponibilidade deste metabólito nesses tecidos, tendo em vista que nesse quadro houve menor utilização do catabolismo protéico no fígado comprovado pela redução da amônia neste tecido e redução de ALAT hepática.

No tratamento E28 houve aumento de glicogênio somente no músculo vermelho quando comparado com seu controle. Como já foi dito anteriormente, houve fermentação láctica no músculo branco comprovado pelo aumento de lactato e redução de glicose. Provavelmente os pacus do tratamento E28 pouparam o glicogênio do músculo vermelho e assim utilizaram mais a fermentação láctica do músculo branco para demanda energética. Sobre o quadro metabólico protéico do E28 houve redução de amônia plasmática, do músculo branco e vermelho e aumento no fígado. Provavelmente, houve menos atividade do catabolismo protéico para demanda energética no músculo branco e vermelho, fato que é esperado em peixes que se exercitam. Porém, houve aumento da concentração de amônia hepática e da atividade da ASAT e ALAT hepática e do músculo vermelho, diferentemente dos outros tecidos. Esse quadro metabólico no fígado pode ser explicado pelo possível catabolismo protéico dada a disponibilidade da proteína na

dieta e/ou pela prática de exercício. No músculo vermelho pode ser devido ao aumento do metabolismo da alanina.

Dentre as alterações metabólicas observadas pode-se verificar que o exercício promoveu o catabolismo do glicogênio hepático nos pacus exercitados do tratamento E24, comprovado pela redução do glicogênio quando comparado aos peixes do controle. A reserva glicídica teria sido utilizada na manutenção energética da atividade física; todavia, o consumo do glicogênio não afetou o crescimento, tanto que o GPD e TEP de E24 foram superiores ao seu controle. Caso semelhante foi observado em matrinxã submetido ao exercício por 72 dias (HACKBARTH & MORAES, 2006). Carpas exercitadas por 20 segundos apresentam queda do teor de glicogênio muscular, o qual permanece baixo mesmo após 45 minutos de interrupção da atividade (SUGITA et al., 2000). Outro fato interessante ocorrido no E24 foi a redução do lactato do músculo branco o que indica menor utilização do processo fermentativo para demanda energética quando os pacus se exercitaram e foram alimentados com 24 % de PB. É provável que os pacus exercitados nesta condição nutricional tenham tido maior capacidade de usar o lactato como precursor de glicose ainda que em condições de aerobiose, o que explicaria as reduções de lactato tissular. A utilização dos carboidratos via oxidação aeróbica ao invés da fermentação láctica, é observada em matrinxã que nada a 1CC/seg., comprovado pela redução na concentração de lactato e da atividade da LDH no MB (HACKBARTH & MORAES, 2006). Em geral, o papel do lactato é acentuado em exercícios submáximos e explosivos, e durante a transição do repouso para o exercício (WEBER & HAMAN, 1996).

Os valores lactato no músculo vermelho foram semelhantes entre E24 e seu controle. No entanto, houve aumento da atividade de LDH em E24 neste tecido. Sendo que a concentração de lactato não variou, o esperado era que a atividade de LDH permanecesse inalterada. Entretanto, a atividade de LDH não está somente relacionada com o estresse. Alguns estudos correlacionam o aumento do crescimento com elevação da atividade de LDH (GUDERLEY et al., 1996; DUTIL et al., 1998; COUTURE et al., 1998), pois isso indica aumento da massa muscular (COUTURE et al., 1998) que pode ser estimulada pela maior capacidade glicolítica e estimada pela atividade de fosfofrutocinase (PFK) e LDH, as quais parecem ser resultante de maior ganho em massa muscular (PELLETIER et al. 1993). O rápido crescimento pode ser correlacionado com a elevação na capacidade de aumentar os

níveis de proteína, particularmente na fração sarcoplasmática que contém as enzimas glicolíticas (GUDERLEY et al., 1996). Além disso, o aumento das atividades das enzimas glicolíticas pode modificar a capacidade locomotiva. SOMERO & CHILDRESS (1990) sugerem que a capacidade do tecido tamponado pode limitar a capacidade de geração de ATP. O bacalhau do Atlântico, *Gadus morhua*, apresenta aumento de crescimento e da atividade de LDH (GUDERLEY et al., 1996). A atividade de duas enzimas mitocondriais, citrato sintase e citocromo C oxidase (CCO) e da enzima glicolítica LDH no músculo branco de “saithe”, *Pollachius virens*, são positivamente correlacionadas com o crescimento (MATHERS et al., 1992). Porém, esses estudos que correlacionam a atividade de LDH com o crescimento levam em conta a determinação de outras variáveis bioquímicas e determinação de atividade de várias enzimas como: citrato sintase e citocromo C oxidase no músculo branco (CCO) (GUDERLEY et al., 1996), tripsina e quimotripsina nos ceco pilóricos, fosfatase alcalina no intestino, piruvato quinase (PK) nas brânquias e músculo branco (BLIER, 2002) etc. No presente estudo não foram ensaiadas as enzimas citadas acima, e assim não podemos afirmar que o aumento da atividade de LDH foi decorrente de um suposto melhor crescimento. Além disso, os estudos que indicam a relação com o aumento da atividade do LDH e o crescimento foram ensaiados no músculo branco e não com o músculo vermelho. Fica a sugestão da necessidade de novas abordagens de investigação com relação à atividade de LDH, visto que dependendo do contexto, é indicativo de várias alterações fisiológicas.

O aumento de AGL no músculo vermelho no E24 sugere preferência metabólica pela oxidação de ácidos graxos, dependente de oxaloacetato, advindo quer de aminoácidos quer de glicose. Essa é a razão mais provável da redução de glicogênio hepático em pacus exercitados e alimentados com baixa proteína (E24). Essa preferência explicaria a redução dos teores de lactato do músculo branco. O aumento de AGL observado no músculo vermelho nos pacus exercitados do tratamento E24 em condições de baixa proteína na dieta, provavelmente teve fins energéticos para sustentar a atividade natatória, visto que o teor de PB da dieta foi suficiente para atender as exigências nutricionais do peixe. Magnoni et al. (2006) afirmam que durante o exercício de longa duração, lipídeos, carboidratos e proteínas são combustíveis energéticos sendo que, em sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*, o músculo vermelho se torna o maior consumidor de fontes lipídicas, visto sua importância em manter atividades aeróbicas e de resistência. Resposta metabólica

semelhante é observada em matrinxã submetido a exercício aeróbico (HACKBARTH & MORAES 2006).

A redução dos níveis de amônia no fígado e músculo vermelho de pacus exercitados E24 em relação ao controle (SE24) é indicativa de menor do catabolismo protéico para a geração de energia. Assim sendo, pacus exercitados e alimentados com 24 % de PB utilizam menos as proteínas para a demanda energética. Outro fato importante é que o pacu possui habilidade para utilizar carboidratos e lipídeos como combustível energético (ABIMORAD et al., 2007), e as proteínas podem ser direcionadas para o crescimento (DAVISON, 1997; WOOD, 2001) devido a melhor organização do metabolismo durante o exercício. Possivelmente, estes dois fatores em conjunto contribuem para o melhor aproveitamento e utilização de fontes não-protéicas.

Apesar da redução de amônia hepática houve aumento da atividade de ALAT hepática no E24. Porém, a atividade de ASAT não alterou significativamente entre os pacus exercitados e não-exercitados (SE24). O aumento da atividade da ALAT hepática pode ser devido ao aumento do metabolismo da alanina ou ao ciclo da alanina. Outro fato interessante foi o aumento de AAL observado no músculo vermelho e branco em E24, que é indicativo da mobilização deste metabólito para anabolismo. Provavelmente, os aminoácidos foram utilizados para síntese, visto que os peixes desse tratamento utilizaram outros compostos nutrientes para demanda energética.

Em suma, os pacus exercitados e em condições protéicas diferentes oriundas da alimentação apresentam formas diferentes de utilização dos nutrientes da dieta. Os pacus independentemente do teor de proteína na alimentação utilizaram mais as fontes de carboidratos, porém de distintas maneiras. Os pacus exercitados dos tratamentos E28 e E32 realizaram fermentação láctica no músculo branco, no entanto, nos peixes do tratamento E28 houve neoglicogênese no músculo vermelho e o E32 glicogenólise no fígado. Nos pacus exercitados do tratamento E24 houve glicogenólise hepática. Ao excedente de aminoácidos da dieta o E32 parte foi convertida em proteína no músculo vermelho e provavelmente outra parte em gordura. Nos outros tratamentos (E24 e E28) houve redução da amônia em alguns tecidos. Portanto, apesar da prática de exercício melhorar o aproveitamento dos nutrientes da dieta, parece haver um limite fisiológico para o aproveitamento eficiente da proteína oferecida em excesso. Essa proteína exógena não favorece o

crescimento nem a utilização eficiente de nutrientes pelo organismo ainda que em peixes exercitados.

6. CONCLUSÕES

Conclui-se que:

- Os pacus exercitados independentemente do nível de proteína da alimentação utilizam mais carboidratos como fonte energética do que pacus não exercitados, porém de formas distintas.
- Apesar do exercício aeróbico melhorar o aproveitamento dos nutrientes da dieta, há um limite fisiológico para uso eficiente do excesso de proteína;
- Pacus sob exercício aeróbico e alimentados com 24 % de proteína bruta apresentam maior ganho em peso e taxa de eficiência protéica e, utilizam eficientemente os lipídeos para sua demanda energética direcionando as proteínas para os processos de biossíntese;
- Pacus sob exercício aeróbico e alimentados com 28 % de PB mostram preferência catabólica por carboidratos;
- Pacus sob exercício aeróbico e alimentados com 32 % de PB mostram preferência catabólica por proteínas e carboidratos.

Portanto, a associação de 24 % de PB na dieta mais a prática de exercício aeróbico a 2 CC/seg. mostrou-se ideal para pacus, maximizando a utilização dos substratos energéticos e direcionando as proteínas para o crescimento.

7. REFERÊNCIAS

ABDEL-TAWWAB, M.; AHMAD, M.H.; KHATTAB, Y.A.E.; SHALABY, A.M.E. Effect of dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquaculture** 298, 267–274, 2010.

ABDEL-TAWWAB, M.; AHMAD, M.H. Effect of dietary protein regime during the growing period on growth performance, feed utilization and whole-body chemical composition of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). **Aquacult. Res.** 40, 1532–1537, 2009

ABIMORAD, E.G.; CARNEIRO, D.J.; URBINATI, E.C. Growth and metabolism of pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887) juveniles fed diets containing different protein, lipid and carbohydrate levels. **Aquaculture Research** 38, 36-44, 2007.

ALEXIS, M.N.; PAPAPARASKEVA-PAPOUTSOGLU, E. Aminotransferase activity in the liver and white muscle of *Mugil capito* fed diets containing different levels of protein and carbohydrate. **Comp. Biochem. Physiol.**, B 83, 245–249, 1986.

ALI, A., et al. Effect of feeding different protein to energy (P/E) ratios on the growth performance and body composition of *Oreochromis niloticus* fingerlings. **J. Appl. Ichthyol.**, v.24, p. 31–37, 2008.

ALVES, J.M.C. **Níveis de lipídios em dietas para o crescimento inicial do pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887)**. Jaboticabal, 1998. 61p. Dissertação (mestrado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura da Unesp, Universidade Estadual Paulista, 1998.

AMERICAN SCIENTIST. Disponível em: http://www.americanscientist.org:80/include/popup_fullImage.aspx?key=NCWz2dMqY1OIm9utC45yy+Om8IOPKqCE. Acesso em: 10 jan. 2009.

ANUALPEC: **Anuário de Pecuária Brasileira**. São Paulo:FNP Consultoria & Comércio, 2009. p. 305-307.

AOAC: **Official Methods of Analysis**, p. 1298 Association of Official Analytical Chemists, 15th (edn), Arlington, VA, USA. 1990.

AQUAFAIR. **Aquicultura no Brasil**. Disponível em: <http://www.aquafair.com.br/>. Acesso em: 07 dez. 2010.

ARAUJO-LIMA, C.L.; GOULDING, M. **Os frutos do tambaqui, ecologia, conservação e cultura na Amazônia**. Tefé, AM: Sociedade civil de Mamirauá; Brasília: CNPq. 4:187p., 1998.

ARBELÁEZ-ROJAS, G. **Efeitos da natação sustentada no crescimento, na densidade de estocagem e na composição corporal em juvenis de matrinxã**

***Brycon amazonicus*: Aspectos adaptativos e respostas metabólicas.** 149 f. (Tese de doutorado). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2007.

ARBELÁEZ-ROJAS, G.; MORAES G. Interação do exercício de natação sustentada e da densidade de estocagem no desempenho e na composição corporal de juvenis de matrinxã *Brycon amazonicus*. **Ciência Rural**, v.39 (1), 201-208, 2009.

AZUMA, T.; NODA, S.; YADA, T.; OTOTAKE, M.; NAGOYA, H.; MORIYAMA, S.; YAMADA, H.; NAKANISHI, T.; IWATA, M. Profiles in growth, smoltification, immune function and swimming performance of 1-year-old masu salmon *Onchorhynchus masou masou* reared in water flow. **Fisheries science** 68, 1282-1294, 2002.

BAANANTE, I.V.; GARCÍA DE FRUTOS, P.; BONAMUSA, L.; FERNÁNDEZ, F. Regulation of fish glycolysis–gluconeogenesis: role of fructose 2,6 P₂ and PFK-2. **Comp. Biochem. Physiol.**, B 100, 11–17, 1991.

BAIN, B.J. **Células sanguíneas** - Um guia prático. 2.ed. Porto Alegre: Artes Médicas, pp. 334, 1997.

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

BALLANTYNE, J.S. Amino acid metabolism. **Fish Physiol.** 20, 77–107, 2001.

BANGSBO, J.; GOLLNICK, I.D.; GRAHAM, T.E.; SALTIN, B. Substrates for muscle glycogen synthesis in recovery from intense exercise in man. **J. Physiol.** 434: 423–438, 1991.

BEAMISH, F.W.; THOMAS, E. Effect of dietary protein and lipid on nitrogen loss in rainbow trout. **Aquaculture**, 41: 359-371, 1984.

BERGMAYER, H. U.; SCHEIBE, P.; WAHLEFELD, A. W. Optimization of methods for aspartate aminotransferase and alanine transferase. **Clin. Chem.**, v.24, p. 58-73, 1978.

BERGOT, F.; BREQUE, J. Digestibility of starch by rainbow trout: effects of the physical state of starch and of the intake level. **Aquaculture**, v. 34, p. 543-547, 1983.

BERNARD, S. F.; REIDY, S. P.; ZWINGELSTEIN, G.; WEBER, J. M. Glycerol and fatty acid kinetics in rainbow trout: effects of endurance swimming. **J. Exp. Biol.**, 202C:279-288, 1999.

BIDINOTTO, P. M.; SOUZA, R. H. S.; MORAES, G. Hepatic glycogen in eight tropical freshwater teleost fish: A procedure for field determinants of microsamples. **Bol. Tec. CEPTA**, v.10, p. 53-60, 1997.

BIDINOTTO, P.M.; MORAES, G. Induced changes in the amylohydrolytic profile of the gut of *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1885) fed different contents of soluble carbohydrate; its correlation with metabolic aspects. **Rev. Ictiol. Argent.** 8, 47–51, 2000.

BIDINOTTO, P.M.; MORAES, G.; SOUZA, R.H.S. Hepatic glycogen and glucose in eight tropical freshwater teleost fish A procedure for field determinations of micro samples. **Bol. Tec. CEPTA Pirassununga** 10, 53–60, 1997.

BLACK, E.C. Alterations in the blood level of lactic acid in certain salmonoid fishes following muscular activity. I. Kamloops trout, *Salmo gairdneri*. **J. Fish Res. Bd. Can.** 14, 117–134, 1957a.

BLACK, E.C. Alterations in the blood level of lactic acid in certain salmonoid fishes following muscular activity. II. Lake trout, *Salvelinus namaycush*. **J. Fish Res. Bd. Can.** 14, 645–649, 1957b.

BLACK, E.C. Alterations in the blood level of lactic acid in certain salmonoid fishes following muscular activity. III. Sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*. **J. Fish Res. Bd. Can.** 14, 807–814, 1957c.

BLACK, E.C. Blood levels of hemoglobin and lactate in some freshwater fishes following exercise. **J. Fish Res. Bd. Can.** 12, 917–929, 1955.

BLAKE, R. W. Review functional design and swimming performance. **J.Fish Biol.**, v.5, p. 1193-1222, 2004.

BLIER, P.U.; LEMIEUX, H.; DEVLIN, R.H. Is the growth rate of fish set by digestive enzymes metabolic capacity of the tissues? Insight from transgenic coho salmon. **Aquaculture** 209, p. 379-384, 2002.

BONAMUSA, L.; GÁRCIA DE FRUTOS, P.; FERNÁNDEZ, F.; BAANANTE, I.V. Nutritional effects on key glycolytic–gluconeogenic enzyme activities and metabolite levels in the liver of the teleost fish *Sparus aurata*. **Mol. Mar. Biol. Biotechnol.** 1, 113–125, 1992.

BORBA, M. R.; FRACALOSSO, D. M.; PEZZATO, L. E. Dietary energy requirement of piracanjuba fingerlings, *Brycon orbignyanus*, and relative utilization of dietary carbohydrate and lipid. **Aquac. Nutr.**, v.12, p. 183-191, 2006.

BOWEN, H. (1987) Dietary protein requirements of fishes-A reassessment. **Canadian Journal of Fisheries & Aquatic Sciences** 44,1995-2001, 1987.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochem.** 72, 248–254, 1976.

BRETT, J.R. The respiratory metabolism and swimming performance of young sockeye salmon. **J. Fish. Res. Board Canada** 21, 1183–1226, 1964.

BUGEON, J.; LEFEVRE, F.; PAUCONNEAU, B. Fillet texture and muscle structure in brown trout (*Salmo trutta*) subjected to long-term exercise. **Aquaculture Research** 34, 1287-1295, 2003.

BUTLER, P.J.; METCALFE, J.D.; GINLEY, S.A. Plasma catecholamines in the lesser spotted dogfish and rainbow trout at rest and during different levels of exercise. **Exp. Biol.**, v.123C, p. 409-421, 1986.

CAMARGO, S.O.; POUEY, J.L.; MARTINS, C. Parâmetros eritrocitários do jundiá (*Rhamdia quelen*) submetido à dieta com diferentes níveis de proteína. **Ciência Rural** 35, 1406-1411, 2005.

CANTELMO, O. A. **Níveis de proteína e energia em dietas para o crescimento de pacu *Piaractus mesopotamicus*** (Homberg, 1887). 1993. 55f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC, Florianópolis.

CARNEIRO et al. Efeito da densidade de estocagem e do nível de proteína bruta no desempenho de produção do pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Resultados preliminares. In: Simpósio Brasileiro de Aquicultura, 7., 1992, Peruíbe. **Anais...**p.14.

CARTER, C.G.; HOULIHAN, D.F. Protein synthesis. In: **Fish Physiology**.Vol.20. Nitrogen Excretion (ed. by P.A.Wright & P.M. Anderson), pp. 31-75. Academic Press, New York, NY, USA, 2001.

CECCARELLI, P. S.; SENHORINI, J. A.; VOLPATO, G. L. **Dicas em piscicultura: perguntas e respostas**. Botucatu: Santana, 2000.

CHABALIM, E.; FERRAZ DE LIMA, L. A. Análise econômica de um cultivo intensivo de pacu no centro-oeste do Brasil. **Boletim Técnico do CEPTA** 1, 61-68, 1988.

CHAKRABORTY, S.C.; CHAKRABORTY, S. Effect of dietary protein level on excretion of ammonia in Indian major carp, *Labeo rohita*, fingerlings. **Aquac. Nutr.** 4, 47-51, 1998.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. **Bioquímica ilustrada**. [Lippincott illustrated Reviews: Biochemistry, 3/E]. Carla Dalmaz (Sup.). Carla Dalmaz (Trad.) et al. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 519 p.

CHAMPE, P.C.; HARVEY, R.A. Lippincott's illustrated reviews: biochemistry. Philadelphia: Lippincott, 443p., 1994.

CHERNECKY, C.C.; KRECH, R.L.; BERGER, B.J. **Laboratory tests and diagnostic procedures**. 932- 933, 1993.

CHO C.Y.; BUREAU D.P. A review of diet formulation strategies and feeding systems to reduce excretory and feed wastes in aquaculture. **Aquatic Research** 32, 349-360, 2001.

CHO, C.Y.; KAUSHIK S.; WOODWARD, B. Dietary arginine requirement of young rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, 102, 211-216, 1992.

CHO, C.Y.; KAUSHIK, S.J. Nutritional energetics in fish: energy and protein utilization in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **World Review of Nutrition and Dietetics** 61,132-172, 1990.

CHOU, R.L.; SU, M.S.; CHEN, H.Y. Optimal dietary protein and lipid levels for juvenile coho (*Rachycentron canadum*). **Aquaculture**, 193: 81-89, 2001

CHRISTIANSEN, J. S.; EVEN, H.; JOBLING, M. Oxygen consumption in relation to sustained exercise and social stress in Arctic Charr (*Salvelinus alpinus* L.). **J. Exp. Zool.**, v.260, p. 149-156, 1991.

CHRISTIANSEN, J. S.; JOBLING, M. The behaviour and the relationship between food intake and growth and juvenile Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L., subjected to sustained exercise. **Can. J. Zool.**, 68:2185-219, 1990.

CHRISTIANSEN, J.S.; RINGO, E.; JOBLING, M. Effects of sustained exercise on growth and body composition of first-feeding fry of arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.) **Aquaculture**, 79:329-335, 1989.

COLLINS, A.L.; ANDERSON, T.A. The regulation of endogeneous energy stores during starvation and refeeding in the somatic tissues of the golden perch. **J. Fish Biol.**, London, v.47, p.1004-1015, 1995.

CONCEIÇÃO, L.E.; DERSJANT-LI, Y.; VERRETH, J.A. Cost growth in larvae and adult African catfish (*Clarias gariepinus*) in relation to growth rate, food intake and oxygen consumption. **Aquaculture**, 161: 95-106, 1998.

CONCEIÇÃO, L.E.; HOULIHAN, D.F.; VERRETH, J.A. Fast growth, protein turnover and cost of protein metabolism in yolk-sarc larvae of the African catfish (*Clarias gariepinus*). **Fish Physiology and Biochemistry**, 16 291-302, 1997.

COSTA, M.L. **Produção de juvenis de carpa capim (*Ctenopharyngodon idella*) alimentados com capim teosinto (*Euchlaena mexicana*) e suplementados com ração**. Universidade Federal de Santa Maria, 2006.

COPLEY, N.G. Alloxan and ninhydrin test. **Analyst** 66, 492-493, 1941.

COUTURE, P; DUTIL, J-D; GUDERLEY, H. Biochemical correlates of growth and condition in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) from Newfoundland. **Can. J. Fish Aquat. Sci.**, 55: 1591-1598, 1998.

COWEY, C. B. et al. Studies on the nutrition of marine flatfish. The metabolism of glucose by plaice (*Pleuronectes platessa*) and the effect of dietary energy source on protein utilization in plaice. **Br. J. Nutr.**, v. 33, n., p. 219-231, 1975.

COWEY, C.B. & LUQUET, P. Physiological basis of protein requirements of fishes. Critical analysis of allowances. In: IV International Symposium on Protein Metabolism and Nutrition. **Les Colloques INRA**, No.16 (ed. by M. Arnal, R. Pion & D. Bonin), pp.365-384, 1983.

COWEY, C.B. Amino acids requirements of fish: A critical appraisal of present values. **Aquaculture** 124: 1-11, 1994.

COWEY, C.B. et al. Studies on the nutrition of marine flatfish. The metabolism of glucose by plaice *Pleuronectes platea* and the effect of dietary energy source on protein utilization in plaice. **Br. J. Nutr.**, 33, 219-231, 1979.

COWEY, C.B. **Protein and amino acid requirements:** a critique of methods.11, p.199-204, 1995.

COWEY, C.B.; DE LA HIGUERA, M.; ADRON, J.W. The effect of dietary composition and of insulin on gluconeogenesis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Br. J. Nutr.** 38, 385– 395, 1977.

COWEY, C.B.; WALTON, M.J. Intermediary metabolism. In: Halver, J.E. (Ed.), **Fish Nutrition**. Academic Press, San Diego, pp. 259–329, 1989.

CYRINO, J.E. Retenção de proteína e energia em juvenis de “Black bass” *Micropterus salmonides*. **Scientia Agricola**. 57, 4, 609-616, 2000.

DAL PAI-SILVA, M.; DAL PAI, V.; CARVALHO, R.F. Célula muscular estriada esquelética. In: **Células, uma abordagem multidisciplinária**. CARVALHO, H; COLLARES-BUZATO, C. (Eds.). Baureri, SP:Manole, 2005. 83-94p.

DANIELS, H.V.; GALLAGHER M.L. Effect of dietary protein levels on growth and blood parameters in summer flounder, *Paralichthys dentatus*. **Journal of Applied Aquaculture** 10, 45-52, 2000.

DAVISON, W. The effects of exercise training on teleost fish, a review of recent literature. **Comp. Biochemistry Physiology** 117, 67-75, 1997.

DAVISON, W. Training and its effects on teleost fish. **Comparative Biochemistry and Physiology** 94A, 1-10, 1989.

DAVISON, W.; GOLDSPINK, G. The effect of prolonged exercise on the lateral musculature of the Brown trout (*Salmo trutta*). **J. Exp. Biol.** 70:1-12, 1977.

DE LA HIGUERA M. Effects of nutritional factors and feed characteristics on feed intake. In: **Food Intake in Fish** (ed. by D. Houlihan, T. Boujard & M. Jobling), pp. 250-268. Iowa State University Press, State Avenue Ames, IA, USA, 2001.

DE SILVA, S.S.; ANDERSON, T.A. Fish nutrition in Aquaculture. Chapan & Hall. **Aquaculture** 1 Series. 319p, 1995.

DE PAULA, F. G. **Desempenho de tambaqui (*Colossoma macropomum*), da pirapitinga (*Piaractus brachypomum*) e do híbrido tambatinga (*C. macropomum* x *P. brachypomum*) mantidos em viveiros fertilizados na fase de engorda**. 57f. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Goiás. 2009.

DELAHUNTY et al. Diurnal variations in the physiology of goldfish *Carassius auratus*. **J. Inter. Cycle Research**, 9:73-88, 1978.

DEVLIN, T.M. **Manual de bioquímica com correlações químicas**. 4.ed. São Paulo: Edgard Blucher, 1998. 1007p.

DOMINGUES, M. Peixes de água doce: pacu. Disponível em: <<http://www.mariocapesca.com.br/pagpacu.htm>>. Acesso em: 14 dez. 2009.

DRABKIN, D. L. The standardization of hemoglobin measurement. **Am. J. Med. Sci**, 215(1):110-111, 1948.

DRIEDZIC, W.R., HOCHACHKA, P.W. Metabolism in fish during exercise. **Fish Physiol.** 7, 503–543, 1978.

DUBOIS, M.G.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry** 28, 350-358, 1956.

DUNCAN, P. L et al. Dietary folate requirement determined for channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Journal of Nutrition** 121: 1888-1897, 1993.

DUTIL, J-D et al., Nucleic acids and enzymes in Atlantic cod (*Gadus morhua*) differing in condition and growth rate trajectories. **Can J. Fish Aquat. Sci.**, 55: 788-195, 1998.

ENGIN, K.; CARTER, C.G. Ammonia and urea excretion rates of juvenile Australian Short-finned eel (*Anguilla australis australis*) as influenced by dietary protein level. **Aquaculture** 194, 123–136, 2001.

EVANS, D. H. 1993. **The physiology of fishes**. Florida: CRC press, Boca Raton, Florida, USA.

FABRIZZI, F. **Respostas adaptativas de matrinxã (*Brycon amazonicus*, Spix & Agassiz, 1829) submetido a diferentes regimes de atividade de natação aeróbica**. 38f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de São Carlos, 2010.

FERNANDES, F.; MIGUEL, A.G.; CÓRDOBA, M.; VARAS, M.; MÉTON, I.; CASERAS, A.; BANANTE, I.V. Effects of diets with distinct protein-carbohydrate ratios on nutrient digestibility, growth, body composition and liver intermediary enzymes activities in gilthead sea bream (*Spaurus aurata L.*) fingerlings. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.** 343, 1-10, 2007.

FERNANDES, J. B. K.; CARNEIRO, D. J.; SAKOMURA, N. K. Fontes e níveis de proteína bruta em dietas para juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Rev. Bras. Zootec.**, v.30 (3), p. 617-626, 2001.

FERNANDES, J. B. K.; CARNEIRO, D. J.; SAKOMURA, N.K. Fontes e níveis de proteína bruta em dietas para alevinos de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Revista Brasileira de Zootecnia** 29, 646-653, 2000.

- FERRAZ de LIMA et al. Período de reprodução, tamanho e idade de primeira maturação gonadal do pacu, *Colossoma mitri*, em ambiente natural (Rio Cuiabá, Pantanal do Mato Grosso). In: Simpósio Brasileiro de Aquicultura, 3., 1984, São Paulo. **Anais...** p.477-497.
- FIDEU, M.D., SOLER, G. AND RUIZ-AMIL, M. Nutritional regulation of glycolysis in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.) **Comp. Biochem. Physiol.**, v. 74B, p. 795-799, 1983.
- FORSTER, I. P.; OGATA, H. Growth and whole-body lipid content of juvenile red sea bream reared under different conditions of exercise training and dietary lipid. **Fish. Sci.**, v.62, p. 404-409, 1996.
- FRACALOSSO, D.M. Brazilian Species. In: WEBSTER, C.D., LIM, C.E. **Nutrient requeriment ad feeding of finfish for aquaculture**. New York: CABI, 2002. p. 388-395.
- FURUYA, W.M. Nutrição de peixes. In: **Fundamentos da moderna aqüicultura**. Sergio Zimmermann [et al.] (organizador). Canoas: ULBRA, pp 200, 2001.
- FYNN-AIKINS, K. et al. Growth, lipogenesis and liver composition of juvenile white sturgeon fed different levels of D-glucose. **Aquaculture**. 105:61-72, 1995.
- GALLAGHER, M.L. Growth responses, tissue composition, and liver enzyme changes in juvenile sunshine bass, *Morone chrysops* x *M. saxatilis*, associated with dietary protein and lipid level. **J. Appl. Aquac.** 9, 41-51, 1999.
- GARCIA-NAVARRO, C.E.K.; PASCHALY, J.R. **Hematologia veterinária**. São Paulo:Varela, 1994. pp161.
- GENTZKOW, C.J.; MASEN, J.M. An accurate method for the determination of blood urea nitrogen by direct nesslerization. **J. Biol. Chem.** 143, 531-544, 1942.
- GIBB, A.; DICKSON, K. Functional morphology and biochemical indices of performance: Is there a correlation between metabolic enzyme activity and swimming performance?. **Integ. And Comp. Biol.** 42:199-207, 2002.
- GODOY, M.P. **Peixes do Brasil**: subordem Characoidei: Bacia do Mogi-guaçu. Piracicaba: Franciscana, 1975. v. 1-4. 216p.
- GOLDENFARB, P.B.; BOWYER, F.P.; HALL, E. Reproducibility in the hematology laboratory: The microhematocrit determination. **American Journal of Clinical Pathology** 56, 35-39, 1971.
- GOLDSPINK, G. Postembryonic growth and differentiation of striated muscle. In: The structure and function of muscle (BOURNE, G.H. eds), 1:179-236, 1972.
- GRÜMBAUM, T.; CLOUTIER, R.; LE FRANÇOIS, N. R. Positive effects of exposure to increased water velocity on growth of newly hatched arctic charr, *Salvelinus alpinus* L. **Aquac. Res.**, v.39, p. 106-110, 2008.

GUDERLEY, H.; DUTIL, J-D; PELLETIER, D. The physiological status of Atlantic cod, *Gadus morhua*, in the wild and the laboratory: estimates of growth rates under field conditions. **Can. J. Fish Aquatic. Sci.** 53. p. 550-557, 1996.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2002. 973 p.

HACKBARTH, A. **Exercício aeróbico e suas implicações no crescimento e metabolismo de pacu (*Piaractus mesopotamicus*)**. 112f. Tese (Doutorado). Universidade Federal de São Carlos, 2010.

HACKBARTH, A.; MORAES, G. Biochemical responses of matrinxãs *Brycon cephalus* (Günther, 1869) after sustained swimming. **Aquaculture Research** 37, 1070-1078, 2006.

HALLER, J. Biochemical cost of a fight in fed and fasted, betta splendens. **Physiology & Behavior**, 49:79-82, 1991.

HALVER, J.E. My 50 years in fish nutrition, 1949-1999. **Aquaculture Research**, v.32, n.8, p.615-622, 2001.

HALVER, J.E.; HARDY, R.W. Nutrient flow and retention. In: Halver, J.E. & Hardy, R. W. (eds). **Fish nutrition**. 3 ed, Academic Press. Pp. 755-770, 2002.

HAMMER, C.; SCHWARZ, G. The effect of prolonged swimming activity on the growth, proximate body composition and caloric content of o-age group Whiting, *Merlangius merlangus* (L. Gadidae). **Arch. Fish. Mar. Res.**, v.44, p. 13-32, 1996.

HÄRDIG, J.; HOGLUND, L.B. On accuracy in estimating fish blood variables. **Comp. Biochem. Physiol.** 75A, 35-40, 1983.

HARROWER, J.R.; BROWN, C.H. Blood lactic acid. A micromethod adapted to field collection of microliter samples. **J. Appl. Physiol.** 32C, 224-228, 1972.

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

HEPHER et al. Principles of fish nutrition. In **Fish culture in warm water systems: problems and trends**. Boca Raton: CRC, 121-141, 1989.

HERNÁNDEZ, M. D. et al. Effects of intensive exercise on rainbow trout growth, body composition and metabolic responses. **J. Physiol. Biochem.**, v.58, p. 1-8, 2002

HIDALGO, F.; ALLIOT, E. Influence of water temperature on protein utilization in juvenile sea bass, *Dicentrarchus labrax*. **Aquaculture** 72, 115-129, 1988.

HOCHACHKA, P. W. et al. Metabolic biochemistry of water – vs air breathing fishes: muscle enzymes and ultrastructure. **Can. J. Zool.**, vol.56, p. 736-750, 1978.

HOCHACHKA, P.W. The effect of physical training on oxygen debt and glycogen reserves in trout. **Can. J. Zool.** 39, 767–776, 1961.

HOLK, K.; LYKKEBOE, G. The impact of endurance training on arterial plasma K⁺ levels and swimming performance of rainbow trout. **J. Exp. Biol.**, 201C:1373-1380, 1998.

HOULIHAN, D. F.; LAURENT, P. Effect of exercise training on the performance, growth, and protein turnover of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Can. J. Fish. Aquat. Sci.**, v.44, p. 1614-1621, 1987.

HOULIHAN, D.F. et al. Protein synthesis in fish. In: **Biochemistry and molecular biology of fish.** (Hochachka, P. & Mommsen, P.) 4:191-219, 1995.

HOULIHAN, D.F.; MATHERS, E.; FOSTER, A.R. Biochemical correlates of growth rate in fish. In: Rankin, J.C., Jensen, F.B. (Eds.), **Fish Ecophysiology.** Chapman & Hall, London, pp. 45–72, 1993.

HOUSTON, A.H. Blood and circulation. In: Schreck, C.D.; Moyle, P.B. (eds). **Methods for fish biology.** American Fisheries Society, Maryland, 273-334, 1990.

HU, Y. H. et al. Optimal dietary carbohydrate to lipid ratio for juvenile yellowfin seabream (*Sparus latus*). **Aquac. Nutr.**, v.13, p. 291–297, 2007.

HUNG, S.S.O. Carbohydrates utilization by sturgeon as assessed by oral administration tests. **J. Nutr.**, 121: 1600-1605, 1991.

INOUE, L.A.K.A.; SANTOS NETO, C; MORAES, G. Clove oil as anesthetic for juveniles of matrinxã, *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). **Ciência Rural**, 33, 943-947, 2003.

IZEL, A. C. et al. Avaliação de níveis protéicos para a nutrição de juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*). **Acta Amaz.**, v.34, p. 179-184, 2004.

IZQUIERDO, M. S. et al. Recent advances in lipid nutrition in fish larvae. **Fish Physiol. Biochem.**, 22:97-107, 2000.

JARBOE, H.; GRANT, W. The effects of water velocity on the growth, dressout, and body composition of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, raised in circular tanks. **J. Appl. Aquacult.**, v.6, p. 13-21, 1996.

JENSEN, F. B. **Fish ecophysiology.** London: Chapman & Hall, pp. 1-44, 1993.

JOBLING M. Physiology and social constraints on growth of fish with special reference to Artic charr, *Salvelinus alpinus* L. **Aquaculture**, 44: 83-90, 1985.

JOBLING, M. Bioenergetics: feed intake and energy partitioning. In: Rankin, J. F.; Jensen, F. B. **Fish ecophysiology.** Chapman & Hall: London, 1-44, 1993.

JOBLING, M. Effects of starvation on proximate chemical composition and energy utilization of plaice, *Pleuronectes platessa* L. **J. Fish Biol.** 17: 325-334, 1980.

JOBLING, M. **Fish Bioenergetics**. London: Chapman & Hall, 309 p. 1994.

JOBLING, M. Some effects of temperature, feeding and body weight on nitrogenous excretion in young plaice (*Pleuronectes platessa* L.). **J. Fish Biol.** 18: 87-96, 1981.

JOBLING, M.; BAARDVIK, B. M.; CHRISTIANSEN, J. S.; JORGENSEN, E.H. The effects of prolonged exercise training on growth performance and production parameters in fish. **Aquaculture International** 1, 95-111, 2003.

JOBLING, M.; WANDSVIK, A. Effect of social interactions on growth rates and conversion efficiency of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L. **J. Fish Biol.**, 22:577-584, 1983.

JOHNSTON, I.A.; MOON, T.W. Exercise training in skeletal muscle of brook trout, *Salvelinus fontinalis*. **J. Exper. Biol.**, 87: 177-194, 1980.

JORGENSEN, E. H.; JOBLING, M. The effects of exercise on growth, food utilization and osmoregulatory capacity of juvenile Atlantic salmon, *Salmo salar*. **Aquaculture.**, v.110, p. 233-246, 1993.

JÜRSS, K. A.; BASTROP, R. Amino acid metabolism in fish. In: HOCHACHKA, P. W., MOMMSEN, T. P. (Ed.). **Metabolic Biochemistry. Biochemistry and molecular biology of fishes**. Amsterdam: Elsevier Science, v.4, p. 159-190, 1995.

KAUSHIK S.J.; CRAVEDI J.P.; LALLES J.P.; SUMPTER J.; FAUCONNEAU B.; LAROCHE M. Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquaculture** 133, 257-274, 1995.

KAUSHIK S.J.; OLIVA-TELES A. Effect of digestible energy on nitrogen and energy balance in rainbow trout. **Aquaculture** 50, 89-101, 1985.

KAUSHIK, S. J. & SEILIEZ, I. Protein and amino acid nutrition and metabolism in fish: current knowledge and future needs. **Aquaculture Research**, 41, 322-332, 2010

KAUSHIK, S.J.; BREQUE, J.; BLANC, D. Requirements for protein and essential amino acids and their utilization by Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*). In: **Acipenser. Actes du colloque** (ed. by P.Williot), pp. 25-39. Cemagref, Bordeaux, France, 1991.

KAUSHIK, S.J.; COVES, D.; DUTTO, G.; BLANC, D. Almost total replacement of fish meal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax*. **Aquaculture** 230,391-404, 2004.

KESTEMONT, P.; BARAS, E. Environmental factors and feed intake. In: HOULIHAN, D. F.; BOUJARD, T.; JOBLING, M. (eds). **Food intake in fish**. Blackwell Science. 2001. 131-156p.

KIEFFER, J. D. Perspective - Exercise in fish: 50+years and going strong. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A 156, p. 163–168, 2010.

KIEFFER, J. D.; ALSOP, D.; WOOD, C. M. A respirometric analysis of fuel use during aerobic swimming at different temperatures in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **J. Exp. Biol.**, v.201, p. 3123-3133, 1998.

KIEFFER, J. D.; WAKEFIELD, A. M.; LITVAK, M. K. Juvenile sturgeon exhibit reduced physiological responses to exercise. **J. Exp. Biol.**, 204: 4281-4289, 2001.

KIM, K.; KYES, T. B.; AMUNDSON, C.H. Purified diet development and re-evaluation of the dietary protein requirement of fingerling rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**. 96: p.57-67, 1991

KIM, L. O.; LEE, S.M. Effects of the dietary protein and lipid levels on growth and body composition of bagrid catfish, *Pseudobagrus fulvidraco*. **Aquaculture**, v.243, p. 323-329, 2005.

KUBITZA, F. **Nutrição e alimentação de peixes cultivados**. 108 p., 1998.

KUBITZA, F. **Nutrição e alimentação dos peixes cultivados**. Jundiaí. Divisão de Biblioteca e documentação, USP, 123p., 1999.

KUBITZA, F. **Nutrição e alimentação dos peixes**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 74p., 1997.

KUBITZA, F. Questões freqüentes dos produtores sobre a qualidade dos alevinos de tilápia. **Panorama Aquicultura**, 16: 14-23, 2006.

LACKNER, R.; WIESER, W.; HUBER, M.; VIA, J. D. Responses of intermediary metabolism to acute handling stress and recovery in untrained and trained *Leuciscus cephalus* (Cyprinidae, Teleostei). **J. Exp. Biol.**, 140:393:404, 1988.

LAIDLEY, C.W.; LEATHERLAND, J.F. Circadian studies of plasma cortisol, thyroid hormone, protein, glucose and ion concentration, liver glycogen concentration and liver and splenn weights in rainbow trout, *Salmo gairdineri* Richardson. **Comp. Biochem. Physiol.**, 89A:495-503, 1988.

LAUFF, R.F; WOOD, C.M. Respiratory gas exchange, nitrogenous waste excretion, and fuel usage during aerobic swimming in juvenile rainbow trout. **J. Comp. Physiol.** 166, 501-509, 1996.

LEE, S-M.; JEON, I. G.; LEE, J. Y. Effects of digestible protein and lipid levels in practical diets on growth, protein utilization and body composition of juvenile rockfish (*Sebastes schlegeli*). **Aquac.**, v.211, p. 227-239, 2002.

LEHNINGER, A. L. et al. **Princípios de Bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 2000. 839 p.

LEON, K. A. Effect of exercise on feed consumption, growth, food conversion, and stamina of brook trout. **Prog. Fish-Cult.**, 48:43-46, 1989.

LEON, K.A. Effect of exercise on feed consumption, growth, food conversion, and stamina of brook trout. **Prog. Fish-Cult.**, 48: 43-46, 1986.

LEONARD, J. B. K.; IWATA, M.; UEDA, H. Seasonal changes of hormones and muscle enzymes in adult lacustrine masu (*Oncorhynchus masou*) and sockeye salmon (*O. nerka*). **Fish Physiol. Biochem.**, v.25, p. 153-163, 2002.

LI, M.; LOWELL, R.T. Effect of dietary protein concentration on nitrogenous waste in intensively fed catfish ponds. **J. World Aquac. Soc.** 23, 122–127, 1992.

LIM, C.; KLEISUS, P.H. Influence of dietary levels of magnesium on growth, tissue mineral content, and resistance of channel catfish *Ictalurus punctatus* challenged with *Edwardsiella ictaluri*. **Journal World Aquaculture Society**, v.34, n.1, p.18-28, 2003.

LIMA, A.O.; SOARES, J.B; GREGO, J.B.; GALIZZI, J; CANÇADO, J.R. **Métodos de laboratório aplicados à clinica**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 653p., 1969.

LONE, K.P.; INCE, B.W.; MATTY, A.J. Changes in the blood chemistry of rainbow trout, *Salmo gairdneri* fish, in relation to dietary protein level, and an anabolic steroid hormone, ethylestrenol. **J. Fish Biol.** 20, 597–606, 1982.

LOVELL, R.T. Factors affecting voluntary food consumption by channel catfish. **Proc. World Symp. Finfish Nutr. Fishfeed Technol.** 1, 555–564, 1979.

LOVELL, T. Nutrition and feeding of fish. New York. Van Nostrand Reinhold. 260p., 1989.

LOVELL, T. Nutrition and feeding of fish. Van Nostrand Reinhold. New York. 1998

LU, G.D. The metabolism of pyruvic acid in normal and vitamin B-deficient state. I. A rapid specific and sensitive method for the estimation of blood piruvate. **Biochem. J.** 33, 249-254, 1939.

LUNDSTEDT, L.M.; MELO, J.F.B.; SANTOS-NETO, C.; MORAES, G. Diet influences proteolytic enzyme profile of the South American catfish *Rhamdia quelen*. **Proceedings of International Congress on the Biology of Fish, Biochemistry and Physiology Advances in Finfish Aquaculture**, Vancouver, Canada, pp. 65–71, 2002.

LUPIAÑEZ, M.J.; SANCHES-LOZANO, L.; GARCIA, R.; DE LA HIGUERA, M. Long-term effect of a high protein/non carbohydrate diet on the primary liver and kidney metabolism in rainbow trout (*Salmo gairdineri*). **Aquaculture** 79, 91– 101, 1989.

- MAGNONI, L. J. et al. Effects of long-distance migration on circulating lipids of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). **Can. J. Fish. Aquat. Sci.**, v.63, p. 1822-1829, 2006.
- MARTÍNEZ, M. et al. Condition, prolonged swimming performance and muscle metabolic capacities of cod *Gadus morhua*. **J. Exp. Biol.**, v.206, p. 503-511, 2003.
- McKENZIE, D. J. et al. Dietary fatty acid composition influences swimming performance in Atlantic salmon (*Salmo salar*) in seawater. **Fish Physiol Biochem.**, v.19, p. 111-122, 1998.
- McKENZIE, D. J. et al. Effects of diet on responses to exhaustive exercise in Nile tilapia (*Oreochromis nilotica*) acclimated to three different temperatures. **Comp. Biochem. Physiol.**, v.114A, (No. 1), p. 43-50, 1996.
- MELO, F. B. et al. Effects of dietary levels of protein on nitrogenous metabolism of *Rhamdia quelen* (Teleostei: Pimelodidae). **Comp. Biochem. and Physiol.**, v.145 (A), p. 181-187, 2006.
- MELO, J.F.B.; LUNDSTEDT, L.M.; METÓN, I.; BAANANTE, I.V.; MORAES, G. Effects of dietary levels of protein on nitrogenous metabolism of *Rhamdia quelen* (Teleostei: Pimelodidae). **Comp. Biochem. Physiol.** 145A, 181-187, 2006.
- MELO, J.F.B.; RADÜNZ-NETO, J.; SILVA, J.H.S.; TROMBETTA, C.G. Desenvolvimento e composição corporal de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com dietas contendo diferentes fontes de lipídios. **Rev. Ciênc. Rural** 32, 323-327, 2002.
- MENDONÇA, J.O.J.; SENHORINI, J.A.; FONTES, N.A.; CANTELMO, O.A. Influência da fonte protéica no crescimento do matrinxã, *Brycon cephalus* Günther, 1869 (Teleostei, Characidae), em viveiros. **Bol. Téc. CEPTA** 6 (1), 51-57, 1993.
- MENTÓN, D.J. Research considerations into the nutrition of *Colossoma* and *Piaractus* in relation to culture conditions. In: **Cultivo de Colossoma**, pp. 75-84, Red Regional de Entidades y Centros de Acuicultura de America Latina, Editora Guadalupe Ltda, Bogotá, Colombia, 1989.
- METÓN, I.; EGEEA, M.; BAANANTE, I.V. New insights into regulation of hepatic glucose metabolism in fish. **Recent Res. Dev. Biochem.** 4, 125-149, 2003.
- METÓN, I.; MEDIAVILLA, D.; CASEARAS, A.; CANTÓ, E.; FERNÁNDEZ, F.; BAANANTE, I.V. Effect of diet composition and ration size on key enzyme activities of glycolysis- gluconeogenesis, the pentose phosphate pathway and amino acid metabolism in liver of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). **Br. J. Nutr.** 82, 223-232, 1999.
- MILLIGAN, C. L. Metabolic recovery from exhaustive exercise in rainbow trout. **Comp. Biochem. Physiol.**, v.113, p. 51-60, 1996.

MILLIGAN, C. L.; GIRARD, S. S. Lactate metabolism in rainbow trout. **J. Exp. Biol.**, v.180, p. 175-193, 1993.

MOHANTA, K. N.; MOHANTY, S. N.; JENA, J. K. Protein-sparing effect of carbohydrate in silver barb, *Puntius gonionotus fry*. **Aquaculture Nutrition**, v.13, p. 311–317, 2007.

MOMMSEN, T.P.; ANDREWS, P.C.; PLISETSKAYA, E.M. Glucagon-like peptides activate hepatic gluconeogenesis. **FEBS Letts.** 219: 227-232, 1987.

MOMMSEN, T.P.; WALSH, P.J.; PERRY, S.E; MOON, T.W. Interactive effects of catecholamines and hypercapnia on glucose production in isolated trout hepatocytes. **Gen. Comp. Endocrinol.** 70: 63-73, 1988.

MOON, T.W.; FOSTER, G. D. Tissue carbohydrate metabolism, gluconeogenesis and hormonal and environmental influences. In: HOCHACHKA, P.W., MOMMSEN, T.P. (eds.). **Metabolic Biochemistry. Biochemistry and molecular biology of fishes**. V.4. Elsevier Science, Amsterdam, pp. 65-100, 1995.

MORAES, G et al. Metabolic effects of exercise in the golden fish *Salminus maxillosus* “dourado” (Valenciennes, 1849). **Braz. J. Biol.**, v.64 (3B), p. 655-660, 2004.

MORAES, G. et al. Adaptações bioquímicas à natação sustentada em peixes com alto potencial para piscicultura. In: TAVARES-DIAS, M. (Org.). **Manejo e Sanidade de Peixes em Cultivo**. Amapá: Embrapa Amapá, p. 269-294, 2009.

MORAES, G.; BIDINOTTO, P.M. Induced changes in the amyloglycolytic profile of the gut of *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1885) fed different levels of soluble carbohydrates its correlation with metabolic aspects. **Revista de Ictiologia**. 8 (1-2):p. 47-51, 1995.

MOYANO, F.J.; CARDENTE, G.; DE LA HIGUERA, M. Nutritive and metabolic utilization of proteins with glutamic acid content by the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Comp. Biochem. Physiol.**, A 100, 759–762, 1991.

MOYES, C. D.; WEST, T. G. Exercise metabolism in fish. In **Biochemistry and Molecular Biology of Fishes**, vol. 4 (ed. P. W. Hochachka and T. P. Mommsen), pp. 367–392. Amsterdam: Elsevier Press, 1995.

MOYES, C.D. et al. Metabolic effects of exerciser in the golden fish, *Salminus maxillosus* “dourado” (Valenciennes, 1849). **Braz. J. Biol.**, 64 (3B): 655-660, 2004.

MOYES, C.D.; BUCK, L.T.; HOCHACHKA, P. W.; SUAREZ, R.K. Oxidative properties of carp red and white muscle. **J. Exp. Biol.** 143, 321-331, 1989.

MOYES, C.D.; SCHULTE, P.M.; HOCHACHKA, P.W. Recovery metabolism of trout white muscle: the role of the mitochondria. **Am. J. Physiol.** 262: 295-304, 1992.

MOYES, C.D.; SUAREZ, R.K.; HOCHACHKA, P.W.; BALLANTYNE, J.S. A comparison of fuel preferences of mitochondria from vertebrates and invertebrates. **Can. J. Zool.** 68: 1337-1349, 1990.

MUÑOZ-RAMÍREZ, A.P.; CARNEIRO, D.J. Composição de aminoácidos e escore químico de alimentos para uso em dietas práticas para o crescimento do pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). In: Simpósio Brasileiro de Aquicultura, 2000, Florianópolis. **Anais...CD.**

NAVARRO, I.; GUTIERREZ, J. Fasting and starvation. In: HOCHACHKA, P. W.; MOMMSEN, T. P. (Ed.). **Metabolic Biochemistry, Biochemistry and Molecular Biology of Fishes.** Amsterdam: Elsevier Science, v. 4, p. 393- 432, 1995.

NEW, M.B. **Feed and feeding of fish and shrimp.** San Diego: Academic Press, 1993.

NEWGARD, C. B. et al., Studies on the mechanism by which exogenous glucose is converted into liver glycogen in rat. A direct or an indirect pathway? **J. Biol. Chem.** 258:p.8046-8052, 1983.

NORVÁK, M. Colorimetric ultramicro method for the determination of free fatty acids. **Journal of Lipid Research.** 6, 431-433, 1965.

NRC (National Research Council). **Nutrient requirements of fish.** Committee on Animal Nutrition. Board on Agriculture. National Research Council. National Academy Press. Washington DC., USA. pp. 114, 1993.

NUNES, C. S. **Desempenho de produção e enriquecimento em ácidos graxos de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) com diferentes fontes lipídicas nas dietas.** Jaboticabal, 2006. 76p. Dissertação (mestrado em Zootecnia) – FCAV, Universidade Estadual Paulista, 2006.

OGATA, H.; ARAI, S. Comparison of free amino acid contents in plasma, whole blood and erythrocytes of carp, coho salmon, rainbow trout, and channel catfish. **Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.** 51, 1181–1186, 1985.

OGATA, H.Y.; OKU, H. Effects of water velocity on growth performance of juvenile flounder *Paralichthys olivaceus*. **J. World Aqua. Soc.** 31, 225-231, 2000.

OGAWA, M.; MAIA, E.L. **Manual de pesca: Ciência e tecnologia do pescado.** 1, São Paulo: Varela, 1999. 326p.

PEARSON, A.M.; YOUNG, R.B. **Muscle and meat biochemistry.** San Diego: Academic Press, 1989. 457p.

PELLETIER, D., GUDERLEY, H.; DUTIL, J.-D. Does the aerobic capacity of fish muscle change with growth rates? **Fish Physiol. Biochem.** 12: 83-93, 1993.

PEREIRA, C.; VIJAYAN, M.M.; MOON, T.W. In vitro hepatocyte metabolism of alanine and glucose and the response to insulin in fed and fasted rainbow trout. **J. Exp. Zool.**, 271, 425-431, 1995.

PERES, H., GONÇALVES, P.; OLIVA-TELES, A. A glucose tolerance in gilthead seabream *Sparus aurata* and Euro seabass *Dicentrarchus labrax*. **Aquaculture**. 179:p. 415-423, 1999

PERES, H.; OLIVA-TELES, A. Effect of dietary protein lipid level on metabolic utilization of diets by European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. **Fish Physiol. Biochem.** 25, 269-275, 2001.

PETREIRE, M. River fisheries in Brazil: a review. **Regulated Rivers: Research and Management**, v.4, p. 1-16, 1989.

PEZZATO, L. E. et al. Nutrição de peixes. In: **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. Coord. Cyrino, J. E. P.; Urbinati, E.C.; Fracalossi, D.M.; Castagnolli, N. São Paulo: TecArt, 2004, 533p.

PHILLIPS, A.M.Jr. Nutrition, digestion and energy utilization. In: Hoar, W.S.; RANDALL, D.J.(eds.). **Fish Physiology**. Vol. I. Excretion, Ion regulation, and metabolism. Pp 391-432, 1969.

PILKIS, S.J.; CLAUS, T.H. Hepatic gluconeogenesis/glycolysis: regulation and structure/function relationships of substrate cycle enzymes. **Annual Review of nutrition**. 11: 465-515, 1991

PITCHER, T.J.; HART, P.J.B. **Fisheries Ecology**. London: Chapman & Hall, 1982. 414p.

POSTLETHWAITE, E. K.; McDONALD, D. G. Mechanisms of Na⁺ and Cl⁻ regulation in freshwater-adapted rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during exercise and stress. **J. Exp. Biol.**, 198:295-304, 1995.

PULSFORD, A.L.; LEMAIRE-GONY, S.; TOMLINSON, M.; COLLINGWOOD, N.; GLYNN, P.J. Effects of acute stress on the immune system of the dab, *Limanda limanda*. **Comp. Biochem. Physiol.** 109C, 129-139, 1994.

REID, S. D.; MOON, T. W.; PERRY, S. E. Rainbow trout hepatocyte β -adrenoreceptors, catecholamine responsiveness, and effects of cortisol. **Am. J. Physiol.** 262: 794-799, 1992.

RICHARDS, J. G.; MERCADO, A. J.; CALYTON, C. A.; HEIGENHAUSER, G. J. F.; WOOD, C. M. Substrate utilization during graded aerobic exercise in rainbow trout. **Exp. Biol.**, 205:2067-2077, 2002.

RISTORI, M. T.; LAURENT, P. Plasma catecholamines and glucose during moderate exercise in trout: comparison with bursts of violent activity. **Exp. Biol.**, v.44, p. 247-253, 1985.

SALHI, M. et al. Growth, feed utilization and body composition of black catfish, *Rhamdia quelen*, fry fed diets containing different protein and energy levels. **Aquaculture**, v.231, p. 435– 444, 2004.

SAMPAIO, A.M.B.M.; KUBITZA, F.; CYRINO, J.E. P. Relação energia:proteína na nutrição de do tucunaré. **Scientia Agricola** 57 (2):213-219, 2000.

SÁNCHEZ-MUROS, M.J et al. *Biochemistry & Cell Biology*. 30: p.55-63., 1998.

SÄNGER, A. M.; PÖTSCHER, U. Endurance Exercise Training Affects Fast White Axial Muscle in the Cyprinid Species *Chalcalburnus Chalcoides Mento* (Agassiz, 1832), Cyprinidae, Teleostei. **Basic Appl. Myol.**, vol.10 (6), p. 297-300, 2000.

SATCHELL, G.H. **Physiology and form of fish circulation**. Cambridge University Press. 235p, 1991.

SCORVO FILHO, J. D.; MARTIN, N.B.; AYROZA, L.M.S. **Piscicultura em São Paulo**: custos e retornos de diferentes sistemas de produção na safra de 1996/1997. *Informações Econômicas* **28**, n.3, 41-60, 1998.

SHANGAVI, D.S.; WEBER, J.M. Effects of sustained swimming on hepatic glucose production of rainbow trout. **J. Exp. Biol.** 202, 2161-2166, 1999.

SHEARER, K. D. Factors affecting the proximal composition of cultured fishes with emphasis on salmonids. **Aquaculture**, 119:63-88, 1994.

SHERIDAN, M.A. Lipid dynamics in fish: aspects of absorption, transportation, deposition and mobilization. *Comp. Biochem. Physiol.* 90B: 679-690, 1988.

SHIAU, S. Y.; LIN, Y. H. Carbohydrate utilization and its protein-sparing effect in diets for grouper (*Epinephelus malabaricus*). **Anim. Sci.**, v.73, p. 299-304, 2001.

SHIBATT, O. A.; DIAS, J. H. P. **40 peixes do Brasil: CESP 40 anos**. Rio de Janeiro: Doiis, pp. 78-79, 2006.

SILVA, A. J. Regime alimentar do pacu, *Colosoma mitrei* (Berg, 1985) no Pantanal de Mato Grosso em relação à flutuação do nível da água. In: 12º Congresso Brasileiro de Zoologia, 1985, Campinas. **Anais...** Campinas: Sociedade Brasileira de Zoologia, 1985.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, C. **Análise de alimentos: Métodos químicos e biológicos**. 2 ed., Viçosa: UFV, 2002. 165p.

SINDIRAÇÕES. **Aquicultura**. Disponível em: < <http://www.sindiracoes.org.br/>>. Acesso em dez. 2009.

SOMERO, S.N.; CHILDRESS, J.J. Scaling of ATP-supplying enzymes, myofibrillar proteins and buffering capacity in fish muscle: relation to locomotory habit. **J. Exp. Biol.** 149: 319-333, 1990.

SPRIET, L.L., L. BERARDINUCCI, D.R. MARSH, C.B. CAMPBELL; GRAHAM, T.E. Glycogen content has no effect on skeletal muscle glycogenolysis during short-term tetanic stimulation. **J. Appl. Physiol.**68: 1883-1888, 1990

STEFFENSEN, J. F. The transition between branchial pumping and ram ventilation in fish: energetic consequence and dependence on water oxygen tensions. **Journal experimental Biology**, 144: 141-150, 1985.

STONE, D.A., ALLAN, G.L., ANDERSON, A.J. Carbohydrate utilization by juvenile silver perch, *Bidyanus bidyanus* (Mitchell). III. The protein-sparing effect of wheat starch based carbohydrates. **Aquaculture Research** 34, 123–134, 2003.

SUÁREZ, M.D.; HIDALGO, M.C.; GARCÍA GALLEGO, M.; SANZ, A.; DE LA HIGUERA, M. Influence of relative proportions of energy yielding nutrients on liver intermediary metabolism of the European eel. **Comp. Biochem. Physiol.**, A 111, 421–428, 1995.

SUÁREZ, R.K.; MOMMSEN, T.P. Gluconeogenesis in teleosts fishes. **Can. J. Zool.**, 65:1869-1882, 1987.

SUGITA, T. et al. Response of enzyme activities and metabolic intermediate concentrations to a short-time exercise and following resting in muscle and hepatopancreas of carp. **Fish. Sci.**, v.66, p. 594-598, 2000.

SUGITA, T. et al. Response of enzyme activities and metabolic intermediate concentrations to a long burst of exercise and following resting in muscle and the hepatopancreas of carp. **Fish. Sci.**, v.67, p. 904-911, 2001.

TACHIBANA, L. et al. Substituição do milho pelo triticale na alimentação de tilápias-do-nylo. **R. Bras. Zootec.**, v.39, n.2, p.241-246, 2010.

TACON, A.G.J. Nutrition y alimentación de peces y camarones cultivados – Manual de capacitación. FAO, Doc 4. Brasília –DF. 136 p., 1989.

TACON, A.G.J. The nutrition and feeding of farm fish and shrimp – training manual. I. The essential nutrients. Brasília: FAO, 1987.

TAKAHASHI, L.S. et al., Growth of pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887) fed diets with ammonium metavanadate. In: World Aquaculture 2003, 2003. Salvador. **Book of abstracts**...Salvador:WAS, 2003, p.773.

TAKASHIMA, F.; HIBIYA, T. **An atlas of fish histology: normal and pathological features**. (2 nd). Tokyo: Kodansha; Stuttgart; New York: Fisher, 1995. 193p.

TAYLOR, S. E.; EGGINTON, S.; TAYLOR, E. W. Seasonal temperature acclimatization of rainbow trout: cardiovascular and morphometric influences on maximal sustainable exercise level. **F. Exp. Biol.**, 199:835- 845, 1995.

THILLART, G. V. D.; RAAJI, M. Endogenous fuels; non invasive versus invasive approaches. In: HOCHACHKA, P. W.; MOMMSEN, T. P. (Ed.). **Metabolic**

Biochemistry. Biochemistry and Molecular Biology of Fishes. Amsterdam: Elsevier Science, v. 4, p. 33-64, 1995.

TOTLAND, G. K.; KRYVY, H.; JODESTOL, K. A.; CHRISTIANSEN, E. N.; TANGERAS, A.; SLINDE, E. Growth and composition of the swimming muscle of adult Atlantic salmon (*Salmo salar.*) during long-term sustained swimming. **Aquaculture**, 66: 299-313, 1987.

TRINDER, P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. **Annal. Clin. Biochem.** 6, 24-27, 1969.

TSUKAMOTO, K. The role of the red and white muscle during swimming of the yellowtail, *Seriola quinqueradiata*. **Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries**, 50 (12): 2025-2030, 1984.

URBINATI, E. C.; GONÇALVES, F. D. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. (Ed.). **Espécies Nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: UFSM, pp. 225-256, 2005.

VAN DEN THILLART, G. V. D.; VAN RAAJI, M. Endogenous fuels, nom invasive versus invasive approaches. In: HOCHACHKA, P. W., MOMMSEN, T. P. (eds.). **Metabolic Biochemistry. Biochemistry and molecular biology of fishes.** V.4. Elsevier Science, Amsterdam, pp. 33-64, 1995.

VAN WAARDE, A. Aerobic and anaerobic ammonia production by fish. **Comp. Biochem. Physiol.**, B 74, 675–684, 1983.

VAN WAARDE, A.; VAN DEN THILLART, G.; KESBEKE, F. Anaerobic energy metabolism of the European eel, *Anguilla Anguilla*. L. **J. Comp. Physiol.**, B 149, 469–475, 1983.

VIEIRA, V.P.; INOUE, L.A.K.; MORAES, G. Metabolic responses of matrinxã (*Brycon cephalus*) to dietary protein level. **Comparative Biochemistry and Physiology** 140A, 337– 342, 2005.

VIJAYAN, M.M.; LEATHERLAND, J.F. Cortisol-induced changes in plasma glucose, protein, and thyroid hormone levels, and liver glycogen content of Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch* Walbaum). **Can. J. Zool.** 67, 2746–2750, 1989.

WALTON, M.J.; COWEY, C.B. Intermediary metabolism. In: Halver, J. E. (ed.). Fish nutrition. 2 ed. Academic Press, San Diego. pp. 259-329, 1989.

WEATHERLEY, A.H.; GILL, H.S. The biology of fish growth. Academic press, London. 1989. 443p.

WEATHERLEY, A.H.; GILL, H.S. **The biology of fish growth**. London: Academic press, v. 443p., 1987.

WEBER, J. M.; HAMAN, F. Pathways for metabolic fuels and oxygen in high performance fish. **Comp. Bioch. Physiol.**, 113:33-38, 1996.

WIESER, W.; PLATZER, U.; HINTERLEITNER, S. Anaerobic and aerobic energy production of young rainbow trout (*Salmo gairdneri*) during and after bursts of activity. **J. Comp. Physiol.** 155B: 485-492, 1985.

WEST, T.G.; ARTHUR, P.O.; SUAREZ, R.I.C; DOLL, C.J.; HOCHACHKA, P.W. *In vivo* utilization of glucose by heart and locomotory muscles of exercising rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **J. Exp. Biol.**, 177: 63-79, 1993.

WRIGHT, P.A.; PERRY, S.E.; MOON, T.W.. Regulation of hepatic gluconeogenesis and glycolysis by catecholamines in rainbow trout during environmental hypoxia. **J. Exp. Biol.** 147: 169-188, 1989.

WOOD, C.M. et al. Pulsatile urea excretion in the toadfish *Opsanus beta*: an analysis of the rates and routes. **J. Exp. Biol.** 198: 1729-1741, 1995

WOOD, C.M. Influence of feeding, exercise and temperature on nitrogen metabolism and excretion. In: Wright, P.; Anderson, P. **Nitrogen excretion**. Academic Press, California, 201-238, 2001.

YANG, S.; LIOU, C.; LIU, F. Effects of dietary protein level on growth performance, carcass composition and ammonia excretion in juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*). **Aquaculture** 213, 363–372, 2002.

YOGATA, H.; OKU, H. The effects of swimming exercise on growth and whole-body protein and fat contents of fed and unfed fingerling yellowtail. **Fisheries science** 66, 1100-1105, 2000.

YOUNG, P. S.; CECH Jr, J.J. Effects of exercise conditioning on stress response and recovery in cultured and wild young-of-the-year striped bass, (*Morone saxatilis*). **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**. 50: 2094-2099, 1993.

YOUNG, P.S.; CECH Jr, J.J. Optimum exercise conditioning velocity for growth, muscular development, and swimming performance in young-of-the-year striped bass, (*Morone saxatilis*). **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences** 51, 519-527, 1994.

ZANONI, M.A. **Níveis de fibra bruta em dietas de crescimento de pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887)**. 1996, 66f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.