

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS
(Convênio UFSCar - UNESP Araraquara)

**RESPOSTAS METABÓLICAS E DE CRESCIMENTO DE
MATRINXÃS (*Brycon cephalus*, Günther, 1869)
SUBMETIDOS AO EXERCÍCIO SUSTENTADO**

Araceli Hackbarth

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências fisiológicas.

São Carlos

2004

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

H118rm

Hackbarth, Araceli.

Respostas metabólicas e de crescimento de matrinxãs (*Brycon cephalus*, Günther, 1869) submetidos ao exercício sustentado / Araceli Hackbarth. -- São Carlos : UFSCar, 2004.
88 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2004.

1. Bioquímica 2. *Brycon cephalus*. 3. Exercício sustentado. 4. Crescimento. 5. Metabolismo I. Título.

CDD: 574.192 (20^a)

Orientador
Prof. Dr. Gilberto Moraes

**Dedico este trabalho a minha amada família.
Meus pais, Udo e Irene, pelo apoio e amor
incondicional em todas as horas.
Aos meus irmãos, Chayene e Eden,
por entenderem e aceitarem a vida que escolhi.**

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela força e pela fé, que jamais me permitiram desanimar e desacreditar no meu potencial.

Ao meu querido professor Dr. Gilberto Moraes, por toda compreensão e amizade nestes quase três anos de convivência. Trabalhar com você é uma oportunidade raríssima, que poucas pessoas terão. Você é muito especial!

Aos meus amigos do laboratório, pela honra de repartirem suas vidas, dúvidas, angústias e alegrias comigo: Ive, Luciana, Cláucia, Luís, Tiago, Lícia, Gustavo, Grazielle, Rodrigo, Cássia, Simone, Andressa, Aruak, Fábio, Lucas e também o Seu Toninho, cuja ajuda foi de fundamental importância.

Agradeço ao Luís, ao Fernando e ao Toninho, em especial, por terem me ajudado a montar o sistema para a realização do meu trabalho. Foram horas montando e colando aqueles tubos.

Aos meus amigos do Departamento de Fisiologia, com os quais convivi muito pouco, mas que são muito importantes para mim: Laila, Cheila, Fabinho, Lidiângela, Cleo, Charles... mas em especial a minha amigona Eliane, minha “grande irmãzinha”.

Ao Chico, meu querido companheiro, que apareceu no finzinho desta etapa, mas que fez toda a diferença e que faz tudo valer a pena.

Agradeço a minha sempre amiga Rita de Cássia. Com você vivi meus melhores e mais difíceis momentos. Jamais vou me esquecer de tudo que passamos juntas.

Aos meus amigos do sul, os que ainda estão lá e aqueles que hoje estão em vários outros lugares do mundo. Em especial a Juçara, a Daniella e ao Eduardo.

A CAPEs, pela bolsa de estudos concedida para a realização do mestrado.

Por fim, à Piscicultura Águas Claras, que sempre tão gentilmente, colabora com as pesquisas realizadas em nosso laboratório.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	03
2.1 Tipos de exercício.....	03
2.2 Crescimento e comportamento.....	07
2.3 Respostas metabólicas frente ao exercício de longa duração.....	10
2.4 Hematologia.....	11
2.5 Carboidratos.....	15
2.6 Lipídios.....	19
2.7 Proteínas.....	21
2.8 Parâmetros bioquímicos versus crescimento.....	23
2.9 O matrinxã.....	26
3. OBJETIVO.....	29
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
4.1 Animais.....	30
4.2 Desenho experimental.....	30
4.3 Procedimentos analíticos.....	33
4.3.1 Parâmetros hematológicos.....	33
4.3.1.1 Hematócrito.....	33
4.3.1.2 Hemoglobina total.....	33
4.3.1.3 Contagem de eritrócitos.....	33
4.3.1.4 Volume corpuscular médio.....	34
4.3.1.5 Hemoglobina corpuscular média.....	34

4.3.1.6	Concentração de hemoglobina corpuscular média.....	34
4.3.2	Análise plasmática e dos tecidos.....	35
4.3.2.1	Sódio.....	35
4.3.2.2	Potássio.....	35
4.3.2.3	Cloreto.....	36
4.3.2.4	Proteína plasmática.....	36
4.3.2.5	Proteína nos tecidos.....	36
4.3.2.6	Aminoácidos livres.....	37
4.3.2.7	Triglicérides plasmáticos.....	37
4.3.2.8	Ácidos graxos livres plasmáticos.....	38
4.3.2.9	Intermediários metabólicos.....	39
	Açúcares totais.....	39
	Lactato.....	39
	Amônia.....	40
4.3.2.10	Glicogênio.....	40
4.3.2.11	Lipídios totais.....	41
4.3.3	RNA/proteína.....	42
4.3.4	Enzimas do metabolismo.....	43
4.3.4.1	Piruvato quinase.....	43
4.3.4.2	Lactato desidrogenase e glutamato desidrogenase.....	44
4.4	Análise estatística.....	45
5.	RESULTADOS.....	46
5.1	Grupo exercitado por 37 dias.....	46
5.2	Grupo exercitado por 72 dias.....	52
6.	DISCUSSÃO.....	59
6.1	Grupo exercitados por 37 dias.....	59
6.2	Grupos exercitados por 72 dias.....	66
7.	CONCLUSÕES.....	77
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78

LISTA DE FIGURAS

1. Exemplar de matrinxã, Brycon cephalus.....	27
2. Triglicérides e ácidos graxos livres plasmáticos de matrinxãs submetidos a 37 dias de exercício contínuo.....	49
3. Lipídios totais de fígado e músculo branco de matrinxãs submetidos a 37 dias de exercício contínuo.....	49
4. Atividade enzimática de fígado e músculo branco de matrinxãs submetidos a 37 dias de exercício contínuo.....	50
5. Triglicérides e ácidos graxos livres plasmáticos de matrinxãs submetidos a 72 dias de exercício contínuo.....	56
6. Lipídios totais de fígado e músculo branco de matrinxãs submetidos a 72 dias de exercício contínuo.....	56
7. Atividade enzimática de fígado e músculo branco de matrinxãs submetidos a 72 dias de exercício contínuo.....	57

LISTA DE TABELAS

1. Dados de crescimento de matrinxãs submetidos a 37 dias de exercício contínuo.....	46
2. Valores hematimétricos de matrinxãs submetidos a 37 dias de exercício contínuo.....	47
3. Respostas metabólicas de plasma, fígado, músculo branco e músculo vermelho de matrinxãs submetidos a 37 dias de exercício contínuo.....	48
4. Dados de crescimento de matrinxãs submetidos a 72 dias de exercício contínuo.....	53
5. Valores hematimétricos de matrinxãs submetidos a 72 dias de exercício contínuo.....	54
6. Respostas metabólicas de plasma, fígado, músculo branco e músculo vermelho de matrinxãs submetidos a 72 dias de exercício contínuo.....	55

LISTA DE ABREVIATURAS

μL - micro litros

μU - micro unidades

AGL - ácidos graxos livres

BL/sec - Body length/seconds

CAA - conversão alimentar aparente

cm - centímetros

DNA - ácido desoxirribunocléico

DP - desvio padrão

g - gramas

g - gravidade

GDH - glutamato desidrogenase

Hb - hemoglobina

Hct - hematócrito

IHS - índice hepatossomático

LDH - lactato desidrogenase

M - molar

mL - mililitros

mM - milimolar

mU - miliunidade

nm - nanômetro

ηmols - nanomols

pH - potencial hidrogeniônico

PK - piruvato quinase

RBC - eritrócitos (red blood cell)

RNA - ácido ribunocléico

seg - segundos

TCA - ácido tricloroacético

TGL - triglicérides

U_{crit} - velocidade crítica de natação

RESUMO

A comercialização de peixes vem se tornando um mercado muito promissor, entretanto o Brasil explora apenas 1% do seu potencial devido principalmente à falta de estudos concernentes as espécies brasileiras. O matrinxã, *Brycon cephalus*, é uma espécie muito apreciada tanto pelo seu rápido crescimento como pela sua fácil adaptação à ração e por sua carne saborosa. Por ser um peixe de piracema, tem como habitat natural águas de correnteza, tornando-se ideal para estudos concernentes a exercício e crescimento. Existem vários tipos de atividades onde os peixes nadam contra corrente, a velocidades e tempos variáveis. Os exercícios a velocidades extenuantes, além de serem eventos pouco vivenciados por peixes *in vivo*, podem apresentar sérios distúrbios metabólicos, inclusive taxas menores de crescimento. Entretanto, quando o peixe é exposto ao exercício moderado de longa duração ele pode ser bastante beneficiado, apresentando melhores taxas de conversão alimentar e de crescimento. Neste tipo de exercício o peixe utiliza o metabolismo aeróbico e pode manter a atividade por longos períodos sem resultar em fadiga muscular. Mesmo peixes considerados sedentários podem ser beneficiados por este tipo de atividade, desde que nadem dentro da velocidade apropriada para sua espécie. Considerando tais pontos, o objetivo deste trabalho foi avaliar as respostas metabólicas e de crescimento de exemplares jovens de matrinxã, submetidos ao exercício contínuo de longa duração pelo período de 37 e 72 dias, à velocidade constante de natação de 42cm/seg. Oitenta exemplares de juvenis de matrinxãs foram divididos em quatro grupos experimentais com 20 exemplares por lote ($45 \pm 17g$; $14 \pm 2cm$). Dois destes grupos foram colocados em tanques de exercício (E_{37} e E_{72}) onde permaneceram nadando contra corrente por 37 e 72 dias, a velocidade contínua de 42 cm/seg. Os outros dois grupos permaneceram em tanques de água estática pelo mesmo período (C_{37} e C_{72}). Após os respectivos períodos experimentais, 13 peixes de cada grupo foram aleatoriamente amostrados, submetidos à biometria corporal e coleta de sangue, a fim de se determinar o crescimento, os parâmetros hematológicos, os íons plasmáticos e os intermediários metabólicos. Posteriormente, os animais foram sacrificados e foi feita a excisão de fígado, músculo branco e músculo vermelho, para determinação dos intermediários metabólicos, das enzimas do metabolismo e da taxa RNA/proteína. Os matrinxãs responderam de forma diferente ao tempo de exercício, mas em ambos os casos o exercício foi benéfico aos peixes, pois eles apresentaram melhores taxas de crescimento com menores gastos protéicos para manutenção energética. As alterações hematológicas de E_{37} e E_{72} apontam para um melhor transporte de oxigênio e nutrientes, apesar da maior demanda imposta pelo exercício. O grupo E_{72} pôde incorporar mais aminoácidos e proteínas no músculo branco em vez de somente oxidá-los, o que favoreceu seu maior crescimento. Os níveis reduzidos de açúcares redutores, de glicogênio e de lipídios em músculo branco em E_{72} , indicam que os matrinxãs utilizaram preferencialmente as vias glicolítica e lipídica. As melhores taxas de CAA associadas ao maior crescimento, principalmente para E_{72} , fazem do exercício de longa duração uma boa prática para o cultivo de *Brycon cephalus*.

ABSTRACT

The fish farm is becoming a promising commercial activity, however, in Brazil only 1% of the fish culture potential is explored, mainly due to the lack of studies on our Neotropical fish. The matrinxã, *Brycon cephalus*, is very appreciated species for many qualities as fast growth, easy adaptation to commercial food and exquisite tasty fillet. Like reofilic fishes, the rapids are their natural environment, making these species an ideal subject for studies that correlate exercise and growth. There are many kinds of activities in which fish can swim against water current at different speeds and length of time. The strenuous exercises, besides few experienced *in vivo*, present serious metabolic disturbances. On the other hand, the sustained swimming can improve the feed conversion rate and the growth. Such modifications are also expected for less active fish, since adequate speeds are reached for them. In this kind of exercise aerobic metabolism is preferential and it can be maintained for long periods without present fatigue. For all such, the purpose of this work was to appraise the effects of sustained swimming on the performance of matrinxã, submitted to sustained swimming for 37 and 72 days at 42 cm.s⁻¹. Eighty matrinxãs were randomly divided in four groups of twenty fish (45 ± 17g; 14 ± 2cm). Two of these groups were exercised in circulating-water tanks (E₃₇ and E₇₂), swimming counter current for 37 and 72 days, respectively, at 42cm.s⁻¹. The other two groups (C₃₇ and C₇₂) remained in static-water tanks for the same trial periods. At the end of each trial period, 13 fish from each group were weighed, the size was gauged, and blood samples were collected for growth, hematological, ions and metabolite determinations. After these procedures, fish were killed and liver, white and red muscles were excised, in order to determine the metabolite responses, the metabolic enzyme activities and the RNA/protein rate. The matrinxãs presented different responses for different periods of exercise. However, the exercise improved the growth rates for both exercised groups, with decrease of protein consume for energetic demands. The hematological responses of both exercised groups point to a better oxygen and nutrient transport, in spite of the major energy cost. Spite of E₇₂ group had consumed proteins, matrinxãs incorporated more amino acids and protein in their white muscle, which improved the matrinxã growth rate. The reduced levels of sugars, glycogen and lipids in E₇₂ white muscle indicate that matrinxã exercised for 72 days, utilizes preferentially the glycolytic and lipid pathways. The better-feed conversion rates plus the major growth of exercised matrinxãs, mainly in E₇₂, make us sure that moderate exercise is recommended as a good practice for matrinxã farming.

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, a comercialização de peixes vem se tornando um mercado muito promissor, destacando-se como uma nova opção de fonte protéica. De acordo com o Instituto de Pesca (2003) o crescimento do consumo de pescado é um fato mundial, mas como uma produção subestimada prevê-se um déficit de produção de 45 milhões de toneladas em 2005. Apesar de o Brasil possuir o maior reservatório aquícola do mundo, explora-se muito pouco do seu potencial, o que o coloca como o 24º produtor mundial de pescado (Instituto de Pesca, 2003).

Talvez um dos fatores que limite a expansão do comércio do pescado no Brasil, seja a falta de estudos concernentes à exploração das espécies brasileiras. Muito do que se sabe sobre saúde, qualidade e crescimento de peixes vêm do estudo aplicado a outras espécies, principalmente salmão e trutas. Problemáticas como estas tornam a pesquisa em piscicultura essencial, sendo necessários desde estudos de técnicas de manejo e conservação específicas para cada espécie, até maneiras mais baratas, eficientes e rápidas de cultivo de peixes.

Dentro destas técnicas, o exercício moderado de longa duração pode contribuir significativamente para a criação mais eficiente de peixes. Muitas espécies podem ser beneficiadas pelo exercício moderado apresentando uma série de vantagens, principalmente melhores taxas de conversão alimentar e de crescimento (JOBBLING, 1993; YOUNG & CECH JR., 1994; JOBBLING, 1994; DAVISON, 1997; YOGATA & OKU, 2000; OGATA & OKU, 2000; AZUMA et al, 2002; BUGEON et al, 2003). Como os peixes são capazes de realizar exercício

contínuo por dias ou meses, tornam-se ideais para o estudo dos efeitos do exercício por longos períodos.

O matrinxã, *Brycon cephalus*, é um peixe muito apreciado tanto pelo seu rápido crescimento como pela sua fácil adaptação ao arraçoamento e à carne saborosa. Por isso é muito cultivado em várias regiões do Brasil. Entretanto, sua tecnologia de produção carece de muitos estudos, tornando-se fundamental o conhecimento das suas respostas fisiológicas e metabólicas frente ao exercício de longa duração.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Tipos de exercício

O ato de nadar compreende um sistema complexo de movimentos entre os peixes com os quais eles realizam numerosas atividades relacionadas à sua sobrevivência em diversos habitats (EVANS, 1993). A velocidade com que os peixes se exercitam é extremamente importante, já que é a intensidade desta atividade que determina seu tempo de execução. Quando os peixes são forçados a nadar contra altas velocidades fadigam-se rapidamente e apresentam uma série de respostas metabólicas que podem comprometer seu crescimento. Entretanto, quando nadam a velocidade moderada, ou até mesmo baixa, o exercício pode se prolongar por meses resultando em numerosas vantagens (TAYLOR et al, 1995; DAVISON, 1997; HOLK & LYKKEBOE, 1998; AZUMA et al, 2002; BUGEON et al, 2003).

A velocidade crítica de natação (U_{crit}) é a ferramenta favorita para definir qual é a velocidade máxima que um peixe pode sustentar até que ele apresente fadiga. É a partir deste valor que se pode categorizar os diferentes tipos de exercício. A maioria dos protocolos existente é modificação daquele desenvolvido inicialmente por BRETT (1964) apud RICHARDS e colaboradores (2002). Basicamente, este protocolo consiste em colocar os peixes em tanques próprios, denominados túneis de natação, onde são submetidos à natação contra a correnteza, aumentando-se a velocidade da mesma de 5-10 cm/seg, a cada intervalo de tempo pré-determinado 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 re-introduzido na correnteza (JOBBLING, 1994; RICHARDS et al, 2002), é definido como fadiga, e é o ponto onde o ele atinge sua velocidade máxima. Como é a velocidade de incremento e o tempo entre os incrementos que realmente afetam a U_{crit} , é necessário que estes valores sempre sejam informados, visto que o protocolo original não fixa estes dois valores. A velocidade é expressa em cm/seg, ou então, em BL/sec (body length/seconds).

A atividade natatória em peixes possui uma 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 para cada tipo de exercício. Estas atividades podem ser classificadas segundo JOBBLING (1994) e HOLK & LYKKEBOE (1998) da seguinte forma:

a) Exercício aeróbico, de longa duração, ou de resistência: é aquele em que o peixe utiliza o metabolismo aeróbico e pode ser mantido por longos períodos sem resultar em fadiga muscular e acúmulo de lactato. Teoricamente ele pode ser mantido indefinidamente, mas para fins práticos, é aquele que é mantido por mais de 200 minutos. Este tipo de atividade pode ser encontrado na natureza para diversos peixes enquanto eles atendem suas demandas respiratórias e mantêm sua flutuabilidade, durante a alimentação a baixas velocidades e durante a migração de longa distância (JOBBLING, 1994; DAVISON, 1997; HOLK & LYKKEBOE, 1998; AZUMA et al, 2000);

b) Exercício prolongado: de curta duração, é mantido por 20 segundos a 200 minutos e resulta em fadiga quando o peixe não é mais capaz de

executar a atividade imposta. A demanda energética é atendida tanto pelo metabolismo aeróbico como anaeróbico e representa o limite máximo antes que ocorra a exaustão, ou seja, o peixe nada a velocidades relativamente altas, mas não sofre a fadiga imediatamente porque ainda pode atender à demanda do organismo via metabolismo aeróbico;

c) Exercício explosivo: o peixe é forçado a nadar contra velocidades bastante altas, resultando rapidamente em fadiga (JOBILING, 1994; TAYLOR et al, 1995). O protocolo começa com rápido aumento da velocidade seguido por um período de manutenção, entretanto, é mantido por um curto intervalo de tempo, não ultrapassando os 20 segundos. O metabolismo energético é suprido preferencialmente pelo metabolismo anaeróbico.

Nos casos dos exercícios extenuantes, os peixes podem sofrer grandes distúrbios metabólicos, inclusive apresentar taxas de crescimento diminuídas. No início, ocorre grande recrutamento das fibras vermelhas (oxidativas), mas estes são rapidamente substituídos pelas fibras brancas (glicolíticas), com queda no valor de fosfocreatina, fosfatos energéticos, glicogênio e concomitante aumento na concentração de lactato (LACKNER et al, 1988; MOYES & WEST, 1995; TAYLOR et al, 1995; MILLIGAN, 1996; RICHARDS et al, 2002). Como o metabolismo anaeróbico é muito 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, 1994; HOLK & LYKKEBOE, 1998).

Quando os peixes realizam atividade aeróbica, que envolve exercícios de até 80% da U_{crit} dependendo da espécie (RICHARDS et al, 2002), eles podem melhorar a U_{crit} , ou seja, aumentar sua tolerância ao exercício atingindo velocidades maiores nos testes subseqüentes (DAVISON, 1997; HOLK & LYKKEBOE, 1998). Além desta aclimatação, existem duas conseqüências 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 que peixes não treinados (LACKNER et al 1988; DAVISON, 1997).

Admite-se que o exercício de longa duração otimiza a taxa de conversão alimentar e o crescimento, sendo a atividade ideal quando se quer estudar tanto as respostas metabólicas como as de crescimento frente ao exercício aeróbico (TOTLAND et al, 1987; JOBLING, 1994; DAVISON, 1997; RICHARDS et al, 2002). A velocidade ideal de natação para truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) e salmão (*Salmo salar*) já está bem estabelecida, variando entre 9,68 cm/seg a 35,5 cm/seg (RISTORI & LAURENT, 1985; BUTLER et al, 1986; WEBER, 1991; AZUMA et al, 2002). Esta velocidade também é de grande importância ecológica, pois é mantida por longos períodos durante as migrações destes peixes.

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 pela ação humana

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. Mesmo assim, as respostas metabólicas de peixes nadando a velocidades moderadas ainda são pouco exploradas, principalmente aquelas apresentadas por peixes neotropicais. Se peixes marinhos ativos podem ser beneficiados pelo exercício, provavelmente os peixes de água doce reofílicos também podem apresentar respostas positivas.

2.2 Crescimento e comportamento

As diferenças no crescimento de peixes exercitados ocorrem de acordo com a espécie e com o tipo de treinamento realizado. Mesmo peixes considerados sedentários, com pouca habilidade natatória, podem ser beneficiados pelo exercício (OGATA & OKU, 2000). Quando os peixes são exercitados a velocidades ótimas geralmente apresentam boas taxas de conversão alimentar, bem como peso e comprimento maiores do que aqueles peixes mantidos em ambientes de águas estacionárias, apesar do maior custo energético e da maior demanda por oxigênio para manter a atividade natatória (YOUNG & CECH JR, 1994; JOBLING, 1994; FORSTER & OGATA, 1996; AZUMA et al, 2000; OGATA & OKU, 2000; BUGEON et al, 2003). Algumas espécies de peixes inclusive obtêm ganho de peso mesmo no período sem treino, talvez como consequência de continuarem consumindo a mesma quantidade de alimento sem gastar a energia adquirida, revertendo-a em crescimento (DAVISON, 1997). Diversos autores também apontam melhores taxas de sobrevivência e mudança do comportamento agressivo de peixes que

são submetidos a exercício (TOTLAND et al, 1987; JOBLING, 1994; DAVISON, 1997).

Existem algumas espécies, entre elas o matrinxã, espécie de interesse neste estudo, que são muito agressivas e mantêm dominância hierárquica. Este tipo de comportamento faz com que a mortalidade seja bastante alta e também que alguns peixes se alimentem mais que outros e, portanto, cresçam mais (JOBLING, 1994; DAVISON, 1997). Quanto maior a diferença de tamanho, maior a dominância de alguns membros do grupo sobre outros, deprimindo ainda mais o crescimento dos peixes que são menores. Claro que este comportamento é mais evidente sob condições de restrição alimentar. Entretanto, quando os peixes são exercitados eles apresentam uma série de comportamentos diferentes (TOTLAND et al, 1987; JOBLING, 1994; DAVISON, 1997). Eles se orientam na corrente, melhoram o convívio social, diminuem o nível de dominância, da frequência dos ataques, e muito provavelmente do nível de estresse.

Quando um peixe se exercita a velocidades moderadas, o maior crescimento não se deve a um maior consumo de alimento, mas sim, à sua capacidade de converter melhor o alimento ingerido, utilizando-o para crescer e não para manter sua dominância sobre outros peixes. Com o exercício, a ração também é melhor distribuída e os peixes crescem mais uniformemente (JOBLING, 1994; WOOD, 2001). Porém, alguns autores afirmam que o exercício aumenta o apetite e o consumo de alimento, o que faria o peixe exercitado crescer mais. Desta forma a taxa de conversão alimentar não seria

alterada pelo exercício ou até mesmo sofreria um aumento (TOTLAND et al, 1987; DAVISON, 1997).

A taxa de conversão alimentar aparente (CAA) é um índice utilizado para relacionar a quantidade de ração consumida e o peso ganho. Praticamente, ela indica a quantidade de ração que o peixe precisa comer para atingir um kg de peso corporal. Os melhores valores da taxa de CAA encontram-se entre um e dois. O cálculo desta taxa é feito por meio da seguinte expressão:

$$CAA = \frac{\text{Ração consumida (g)}}{(\text{peso inicial (g)} - \text{peso final (g)})}$$

As taxas de CAA encontram-se bem documentadas para diversas espécies. Para pacu, encontram-se entre 4,4 e 5 (SILVA et al, 1997), enquanto que para piracanjubas este valor é de 1,34 e 1,55 (CONTE et al, 1995) e, 1,9 e 2,16 (VIEIRA, 2002). A diferença dos valores se deve aos diferentes níveis dietéticos e as maneiras diferentes de alimentação. Para matrinxãs, os valores da taxa de CAA estão entre 1,9 e 4 (VIEIRA, 2002), variando de acordo com o teor de proteína ofertado na dieta. Ainda relacionado ao crescimento, o índice hepato-somático (IHS) correlaciona o estado nutricional dos peixes e sua taxa de crescimento (BUSACKER et al, 1990). Através do seu valor pode-se inferir sobre a utilização das reservas metabólicas, ou seja, se os peixes estão catabolizando ou anabolizando fontes de armazenamento, como glicogênio e lipídios. Este índice indica de certa forma se o peixe está sofrendo alguma condição que imponha um maior gasto energético ou uma maior retenção lipídica hepática (YOUNG & CECH, 1994; OGATA & OKU, 2000). Seu cálculo é representado pela seguinte expressão (BUSACKER et al, 1990):

$$IHS = \left(\frac{\text{peso do fígado (g)}}{\text{peso corporal (g)}} \right) \times 100$$

2.3 Respostas metabólicas frente ao exercício de longa duração

O exercício envolve a interação de muitos sistemas (RANDAL & BRAUNER, 1991) e as respostas fisiológicas e metabólicas musculares dos peixes frente aos diferentes tipos de exercício já estão descritas na literatura (WEBER, 1991; YOUNG & CECH JR, 1994; WEBER & HAMAN, 1996; DAVISON, 1997; SHANGAVI & WEBER, 1999; OGATA & OKU, 2000). Acredita-se que quando o peixe realiza exercício moderado, ocorre tanto aumento de força como de massa muscular, ou seja, de crescimento.

Entretanto, existem grandes variações na capacidade de nadar dos teleósteos, e tanto as variações morfológicas e fisiológicas, como a dependência do tipo de alimentação e habitat, são os principais determinantes das diversas capacidades de locomoção (REIDY et al, 1999).

A musculatura dos peixes é dividida espacialmente em duas regiões distintas: a branca, composta por fibras glicolíticas e, a vermelha, composta por fibras oxidativas, ambas com diferentes estratégias metabólicas para atender à demanda energética imposta pelo exercício. O músculo vermelho, sendo mais oxidativo que o branco, é mais dependente da oxidação de aminoácidos e grande consumidor de lipídios (MILLIGAN & GIRARD, 1993; JÜRS & BASTROP, 1995; MOYES & WEST, 1995; RICHARDS et al, 2002). Entretanto, 60% de todo organismo dos peixes é constituído por músculo branco, sendo ele o maior consumidor de energia. Qualquer mudança neste tecido

influenciará as respostas metabólicas e o crescimento do organismo em geral (JOBILING, 1994; JÜRS & BASTROP, 1995; MOYES & WEST, 1995).

Geralmente o treinamento com velocidade sustentável leva ao aumento proporcional do músculo vermelho, associado com o aumento no número de células e no seu diâmetro, bem como da sua capacidade aeróbica, com redução nos estoques de glicogênio e de triglicérides (WEBER & HAMAN, 1996; RICHARDS et al, 2002). O músculo branco também parece ser positivamente afetado pelo exercício até mesmo em velocidades baixas, onde sua contração ocorre de forma passiva. Além do maior tamanho de células, ele apresenta maior vascularização e aumento da capacidade aeróbica e anaeróbica (WEBER & HAMAN, 1996).

2.4 Hematologia

Através dos parâmetros hematológicos pode-se deduzir a condição do peixe exercitado, 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). As informações sobre as alterações e adaptações decorrentes do exercício moderado ainda são escassas; todavia as alterações nas variáveis hematológicas de peixes submetidos a altas velocidades são bem conhecidas, e variam em relação à intensidade do exercício (FRANKLIN et al, 1993; WOOD, 1991; HOLK & LYKKEBOE, 1998).

Existem três índices hematológicos da série vermelha que são considerados primários e indicam a capacidade de transporte de oxigênio

através do sangue e da utilização do mesmo pelo organismo. São eles: o conteúdo de hemoglobina (Hb), o hematócrito (Hct) e o conteúdo de eritrócitos (RBC). Os eritrócitos são as células mais numerosas no sangue e são repletas de hemoglobina, que realiza o transporte de oxigênio e de dióxido de carbono. 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). Os índices que derivam dos primários são: volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração hemoglobínica média (CHCM). O VCM é usado para indicar o estado osmorregulatório e está diretamente envolvido com a dinâmica cardíaca e com o fluxo sanguíneo. O HCM é a média de hemoglobina de cada eritrócito e demonstra como está a função respiratória. Por fim, o CHCM é simplesmente o conteúdo de hemoglobina por 100mL de eritrócitos empacotados (HOUSTON, 1990).

Exercícios extenuantes demandam grande liberação de oxigênio para os tecidos, e o sistema circulatório precisa atender estas necessidades extras elevando a concentração de hemácias. O consumo de oxigênio aumenta 12 a 15 vezes, sendo que 93% desse 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 uma maior concentração de hemoglobina, a um maior recrutamento dos eritrócitos estocados no baço e liberados por contração esplênica, a um inchaço dos eritrócitos, ou ainda, ao movimento da água do plasma resultando em hemoconcentração ou hemodiluição (FRANKLIN et al,

1993). Os ajustes necessários para maximizar o fluxo de oxigênio para os tecidos incluem o aumento da ventilação, da frequência cardíaca e da diferença no conteúdo arteriovenoso. Existem algumas evidências de que quando o peixe é de tamanho maior sua demanda por oxigênio pode diminuir, já que ocorre um aumento na concentração de mioglobina e as reservas de oxigênio tornam-se maiores (GOOLISH, 1995).

Também é possível que o exercício aeróbico promova maior equilíbrio entre o suprimento e a demanda de oxigênio despendida 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 nos parâmetros hematológicos (RANDAL, 1982; JENSEN et al, 1983).

Os distúrbios hidroeletrólíticos decorrentes do exercício também estão intimamente correlacionados com a sua intensidade. A atividade extenuante leva a um decréscimo do pH sanguíneo devido à acidose tanto metabólica quanto respiratória (WOOD, 1991). As grandes perdas plasmáticas de sódio, cloreto e potássio ocorrem junto com a hemoconcentração, visto que as altas concentrações de lactato intracelular favorecem a entrada de íons e água para dentro das células (WOOD, 1991). Tais distúrbios também podem ser devidos à maior demanda de oxigênio que aumenta a superfície das brânquias permitindo maior saída dos íons (WOOD, 1991; POSTLETHWAITE & McDONALD, 1994; HOLK & LYKKEBOE, 1998; KNUDSEN & JENSEN, 1998).

Provavelmente todas as alterações iônicas se devem à maior ou menor mobilização de catecolaminas e cortisol, que são altamente requisitados frente

a processos estressantes, como os exercícios de explosão (WOOD, 1991). Tais distúrbios iônicos têm como objetivo promover o ajuste cardiovascular, sobretudo a vasodilatação das brânquias que está relacionada com o aumento da demanda de oxigênio devido à atividade imposta (BUTLER et al, 1986). Entretanto, parece que o exercício moderado além de não aumentar os níveis circulantes destes hormônios reduz seus valores atenuando as alterações hidroeletrólíticas (WOOD, 1991; RISTORI & LAURENT, 1985; DAVISON, 1997).

As respostas hematológicas também podem ser usadas para aferir o crescimento dos peixes e, acredita-se que estes valores podem estar correlacionados positivamente com o crescimento (HOUSTON 1990; MARTINEZ et al 1994; TAVARES-DIAS & MORAES, 2004). Entretanto, esta conexão é de difícil demonstração, já que há pouca informação e muita variação entre as espécies, e mesmo dentro da mesma espécie para indivíduos de tamanhos diferentes (TAVARES-DIAS & MORAES, 2004).

Em geral, peixes jovens possuem menor tamanho e mesma quantidade de hemoglobina por eritrócito do que peixes maiores e com mais idade, porém possuem maior número de eritrócitos e maior atividade eritropoiética que os mais velhos. Indivíduos de tamanhos diferentes liberam energia em quantidade também diversa, de acordo com seu tamanho corporal, podendo interferir com seu quadro hematológico (TAVARES-DIAS & MORAES, 2004). GOOLISH (1995) acredita que quando um peixe é maior sua demanda por oxigênio paradoxalmente pode diminuir, já que ocorre um aumento na concentração de mioglobina e as reservas de oxigênio se tornam maiores.

O hematócrito de truta-marrom (*Salmo trutta*) se reduz com o crescimento. Em largemouth bass (*Micropterus salmoides*) o hematócrito e a hemoglobina são afetados positivamente com o crescimento, todavia, o CHCM decresce com a idade (TAVARES-DIAS & MORAES, 2004). Em truta arco-íris o número de eritrócitos diminui com o crescimento, mas a carpa comum (*Cyprinus carpio*) apresenta valores aumentados de eritrócitos, de hemoglobina, de hematócrito e de CHCM. Já os tambacus apresentam redução da concentração de hemoglobina e de CHCM (TAVARES-DIAS & MORAES, 2004). Todas estas variações mostram que não existe um padrão na resposta hematológica de peixes mais velhos quando comparados aos mais jovens, principalmente quando as condições ecofisiológicas encontram-se modificadas, como é o caso do exercício.

2.5 Carboidratos

Todos os seres vivos necessitam de energia para manutenção do metabolismo básico e das suas atividades biológicas tais como crescimento, reprodução, excreção, transporte, homeotermia etc. Os carboidratos são essenciais para o metabolismo de todos os vertebrados, inclusive dos peixes. Entretanto, os peixes carnívoros apresentam menor habilidade para digeri-los quando comparados aos peixes herbívoros e onívoros (MOON & FOSTER, 1995; KUBITZA, 1998). O papel dos açúcares se torna mais relevante durante a hipóxia, anóxia ou exercícios extenuantes, sendo o glicogênio muito utilizado para suportar exercícios submáximos e explosivos (MOYES & WEST, 1995;

van den THILLART & van RAAJI, 1995; WEBER & ZWINGELSTEIN, 1995; WEBER & HAMAN, 1996; SHANGAVI & WEBER, 1999).

Durante o exercício, a taxa de síntese e de degradação muscular aumenta consideravelmente, e os combustíveis metabólicos precisam ser mobilizados rapidamente para atender a demanda imposta pela atividade. A intensidade e a disponibilidade de oxigênio determinam a preferência metabólica (van den THILLART & van RAAJI, 1995). A eventual dificuldade dos peixes em utilizar os açúcares como fonte energética é suprida pela sua capacidade em utilizar outros precursores para manter a glicemia, como lactato, aminoácidos, glicerol e frutose (MOON & FOSTER, 1995). Para o exercício de longa duração, os peixes utilizam preferencialmente a oxidação lipídica e protéica, fato evidenciado por TOTLAND e colaboradores (1987), que mostraram aumento nos estoques de glicogênio muscular de salmões exercitados por oito meses.

O glicogênio é estocado principalmente no fígado ou no hepatopâncreas e seu conteúdo varia mesmo entre indivíduos da mesma espécie. Embora o músculo branco seja tipicamente anaeróbico, ele não estoca mais glicogênio que o fígado (van den THILLART & van RAAJI, 1995). Apesar de o fígado ser o centro do metabolismo e o maior responsável pela produção de glicose, juntamente com os rins, não contribui largamente com este suprimento energético para o metabolismo oxidativo em peixes exercitados (WEBER & ZWINGELSTEIN, 1995). Com respostas similares, SHANGAVI & WEBER (1999) mostraram o decréscimo da produção de glicose hepática para trutas arco-íris submetidas a exercício por três horas. Entretanto, alguns estudos

apontam aumento no papel dos açúcares quando o peixe é exercitado próximo aos valores submáximos, que variam entre 55 e 85% da U_{crit} (JOBBLING, 1994; van den THILLART & van RAAJ, 1995; WEBER & HAMAN, 1996). O músculo vermelho é o principal consumidor de glicose durante o exercício; porém, o papel dos carboidratos é muito menor quando comparado ao dos lipídios e das proteínas. De acordo com MOYES & WEST (1995), existem três vias que disponibilizam os carboidratos para o peixe em exercício: (1) maior mobilização das suas reservas intramusculares, (2) uso da glicose sanguínea derivada tanto da gliconeogênese como da glicogenólise hepática e, (3) oxidação do lactato produzido pelo músculo branco. Esta terceira via é descrita como o ciclo de Cori: lactato muscular \rightarrow glicose hepática \rightarrow glicogênio muscular. Neste caso, o lactato produzido no músculo branco é convertido inicialmente em piruvato, no fígado, e este é convertido em oxaloacetato, que é novamente convertido em fosfoenolpiruvato. A partir daí, este metabólito segue a via neoglicogênica até a formação do glicogênio (MOON & FOSTER, 1995; NELSON & COX, 2002). Entretanto, para peixes, o lactato produzido pelo músculo branco pode ser direcionado diretamente ao músculo vermelho, e neste tecido, ele é convertido a piruvato e usado tanto para a glicólise como para a gliconeogênese (MOYES & WEST, 1995).

A atividade da enzima piruvato quinase também pode fornecer algumas evidências sobre a utilização da glicólise como fonte energética. Por promover reação irreversível e representar o último passo na glicólise (formação de piruvato a partir do fosfoenolpiruvato), indica o maior ou menor emprego desta via para fornecer substrato para obtenção de energia (NELSON & COX, 2002).

Geralmente, na formação do lactato, a atividade da enzima lactato desidrogenase também encontra-se modificada, visto que é esta enzima a responsável pela redução do piruvato a lactato (NELSON & COX, 2002).

A formação de lactato se dá quando os tecidos não podem mais ser supridos com oxigênio suficiente para suportar a oxidação aeróbica, e então ocorre redução do piruvato a lactato, que é catalisada pela lactato desidrogenase. Desta forma, a atividade desta enzima pode dizer sobre a capacidade aeróbica e se está ocorrendo processo fermentativo por déficit de oxigênio (NELSON & COX, 2002). E, dependendo do tipo de exercício realizado pelo peixe, pode ocorrer ou não maior produção de lactato. O lactato não desempenha papel importante para sustentar exercícios de longa duração. Sua ação como suprimento energético é mais evidente em exercícios submáximos e explosivos e, durante a transição do repouso para o exercício. Seu acúmulo é acompanhado por depleção dos estoques de glicogênio e de fosfocreatina (WEBER, 1991; MILLIGAN & GIRARD, 1993; WEBER & HAMAN, 1996). Quando o peixe é exercitado a velocidades sub-máximas, o lactato produzido no músculo branco pode ser exportado para o músculo vermelho para atender suas demandas energéticas, principalmente nos estágios iniciais do recrutamento do músculo branco (WEBER, 1991; MOYES & WEST, 1995). Como o lactato é um dos substratos mais utilizados pelo fígado, acredita-se que o ciclo de Cori hepático também seja extremamente importante para a reciclagem do lactato muscular, podendo-se afirmar que o lactato produzido é oxidado mantendo seu balanço entre produção e consumo (JOBILING, 1994;

MOON & FOSTER, 1995; MOYES & WEST, 1995; WEBER & HAMAN, 1996; RICHARDS et al, 2002).

2.6 Lipídios

Diferente dos carboidratos, os lipídios representam um componente significativo na dieta dos peixes e seus estoques são relativamente grandes. Sua oxidação contribui para o metabolismo energético de muitos tecidos, inclusive para os músculos (van den THILLART & van RAAJI, 1995; WEBER & HAMAN, 1996).

Os lipídios são estocados em vários órgãos, principalmente em vísceras, fígado e músculos, correspondendo de 15 a 45% do conteúdo visceral (van den THILLART & van RAAJI, 1995). As altas concentrações de lipídios contribuem com aproximadamente 10% de todo o peso corporal, entretanto, o conteúdo lipídico pode ser alterado para mais ou para menos devido ao teor ofertado nas dietas e também à atividade desenvolvida (YOUNG & CECH JR, 1994; FORSTER & OGATA, 1996; BERNARD et al, 1999; OGATA & OKU, 2000; YOGATA & OKU, 2000). Todavia, os órgãos responsáveis pelos estoques lipídicos também são grandes consumidores desta fonte energética, o que torna os estudos relacionados à sua oxidação bastante complicados (MOYES & WEST, 1995).

Quando o hormônio lipase-sensível sinaliza que o organismo está necessitado de energia metabólica, os triglicérides (TGL) armazenados são mobilizados e transportados como ácidos graxos (AGL) para o plasma, e daí para os tecidos nos quais os ácidos graxos podem ser oxidados para a produção de energia (WEBER & ZWINGELSTEIN, 1995; NELSON & COX,

2002), principalmente para os músculos (van den THILLART & van RAAJI, 1995; WEBER & HAMAN, 1996; DAVISON, 1997; BERNARD et al, 1999).

O grau de requisição desta fonte calórica para suprir o exercício pode ser estimado pela concentração plasmática de AGL e pela capacidade de oxidar lipídios, que é diretamente proporcional ao aumento da capacidade aeróbica do tecido (MOYES & WEST, 1995). É importante salientar também que o aumento da lipólise diminui a utilização de carboidratos, podendo a glicose ser direcionada para os tecidos com menor atividade lipolítica (MOYES & WEST, 1995). De acordo com WEBER & HAMAN (1996), provavelmente o exercício aeróbico permite tanto maior mobilização de TGL e AGL através do plasma para os tecidos requisitados, como o aumento da sua oxidação na mitocôndria muscular. Entretanto, algumas espécies podem mobilizar lipídios mais que outras, o que torna os resultados concernentes a exercício e mobilização de lipídios tão controversos (YOUNG & CECH JR, 1994; van den THILLART & van RAAJI, 1995; WEBER & HAMAN, 1996; FORSTER & OGATA, 1996; BERNARD al, 1999; YOGATA & OKU, 2000; OGATA & OKU, 2000).

Enquanto RICHARDS e colaboradores (2002) encontraram um aumento da oxidação lipídica de truta arco-íris exercitadas a 30 e 60% da U_{crit} , BERNARD e colegas (1999) mostraram que estes mesmos peixes, exercitados entre 50 e 70% da U_{crit} , não conseguiram mobilizar TGL além dos peixes não-exercitados. Entretanto, o tamanho dos peixes não era o mesmo, e os trabalhos também seguiram protocolos diferentes de dieta e da sua oferta, fatos que podem explicar as respostas diferentes apresentadas pela mesma

espécie. YOUNG & CECH JR. (1994), afirmam que o “striped bass” (*Morone saxatilis*) aumenta o conteúdo lipídico quando exercitado em velocidades média e moderada. O “red sea bream” (*Pagrus major*) apresenta menor conteúdo lipídico quando exercitado a velocidade média, mas com privação alimentar de sete dias antes do fim do experimento (FORSTER & OGATA, 1996). O “japanese flounder” (*Paralichthys olivaceus*) também tem seu conteúdo lipídico diminuído após realizar exercício moderado (OGATA & OKU, 2000). Tais contradições mostram como os protocolos utilizados não seguem um padrão, dificultando a interpretação dos dados e demonstrando a falta de estudos sobre oxidação lipídica e exercício.

2.7 Proteínas

As proteínas representam uma parte muito importante na dieta de peixes, especialmente dos carnívoros (van den THILLART & van RAAJI, 1995). Como o organismo é formado basicamente por proteínas, as mudanças na sua concentração são muito menores e podem não ser estatisticamente válidas ou simplesmente são resultados de outras mudanças no tecido, como conteúdo de água e de lipídios. Por isso muitos estudos utilizam os aminoácidos e a produção de amônia para inferir sobre o metabolismo protéico, apesar deste também sofrer influência da hipóxia e do exercício extenuante (MOYES & WEST, 1995).

Sendo os peixes formados por 60-80% de água com um conteúdo protéico em torno de 10 a 20%, as proteínas perfazem a maior parte do seu organismo. A quantidade de aminoácidos 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 necessários através da gliconeogênese ou lipogênese. Um bom indicador para analisar o metabolismo protéico é a atividade da enzima glutamato desidrogenase (GDH), pois a transdesaminação está relacionada à excreção dos aminoácidos e envolve diretamente a atividade desta enzima (LEHINGER et al, 1995). Caso esteja ocorrendo maior catabolismo protéico admite-se que sua atividade esteja aumentada, mas caso o contrário seja verdadeiro, sua atividade provavelmente estará inibida.

Durante o exercício, as proteínas e os lipídios parecem ser os combustíveis preferidos para suprir a demanda energética. Estima-se que as proteínas sejam responsáveis por 80% de todo substrato energético utilizado durante o repouso e 90% durante o exercício (JÜRS & BASTROP, 1995; van den THILLART & van RAAJI, 1995). WOOD (2001) afirma que nos peixes, frente a velocidades moderadas, a contribuição da oxidação protéica permanece a mesma, ou em alguns casos pode até diminuir, já que não seria lógico utilizar a própria maquinaria metabólica para suprir a demanda energética. Durante o exercício de longa duração a contribuição dos lipídios e dos carboidratos torna-se maior, permitindo maior síntese protéica ao invés de degradação protéica, o que favorece o crescimento dos peixes (DAVISON, 1997; WOOD, 2001). Desde que a alimentação seja ofertada sem interrupções, parece que o exercício reorganiza o metabolismo de tal forma a poupar gastos extras provenientes do músculo branco. Entretanto, o aumento do catabolismo

lipídico e glicídico não é apenas para atender às demandas energéticas, mas também para fornecer energia à síntese protéica. WOOD (2001) também afirma que a alimentação eleva preferencialmente a concentração dos aminoácidos essenciais no plasma, enquanto que o exercício aumenta os valores daqueles não essenciais. Esta combinação é mais efetiva para estimular a síntese protéica.

Parece que o exercício estimula maior excreção de uréia do que de amônia em peixes exercitados, mas este fato está intimamente relacionado com a intensidade e a duração do exercício (TODGHAM et al, 2001; WOOD, 2001). Propõe-se que o maior recrutamento das fibras brancas aumenta, por sua vez, o “turn-over” do adenilato, a produção de amônia e a desintoxicação da amônia via ureogênese.

2.8 Parâmetros bioquímicos versus crescimento

Existem alguns índices bioquímicos que são usados tanto para indicar o estado metabólico do peixe como para estimar sua taxa de crescimento. Supondo que o exercício promova aumento do tamanho do peixe, a alometria enzimática e a taxa RNA/proteína parecem ser bons indicativos deste parâmetro.

A alometria é uma das ferramentas que quantifica o crescimento corporal dos animais integrando as respostas metabólicas e ambientais (GOOLISH, 1995). A taxa relativa de crescimento alométrico pode ser caracterizada por mudanças sistemáticas e taxonômicas e, as enzimas do metabolismo aeróbico e anaeróbico podem fornecer uma boa idéia sobre o

crescimento corporal (STRAUSS & BOND, 1990; GOOLISH, 1995; PELLETIER et al, 1995; BURNESSE et al, 1999). Entretanto, o metabolismo aeróbico apresenta alometria negativa, ou seja, ele diminui suas respostas em decorrência do crescimento, provavelmente devido a um decréscimo na produção de energia e no requerimento de oxigênio. E isto parece ser uma regra geral (HOULIHAN et al, 1994; GOOLISH, 1995; BURNESSE et al, 1999), visto que o músculo de peixes maiores demanda menos gasto energético. E, como o músculo corresponde a maior parte do organismo, a taxa metabólica de todo o organismo tende a declinar (GOOLISH, 1995). Os trabalhos de PELLETIER e colaboradores (1995) e BURNESSE e colaboradores (1999) mostraram que a atividade das enzimas citrato sintase e citocromo *c* oxidase não aumentam e podem mesmo diminuir em decorrência do crescimento corporal.

Em contrapartida, o metabolismo anaeróbico parece apresentar alometria positiva, e enzimas como piruvato quinase e lactato desidrogenase parecem estar relacionadas positivamente com o crescimento (GOOLISH, 1995; PELLETIER et al, 1995; BURNESSE et al, 1999). Provavelmente, estas respostas se devem ao maior requerimento de energia anaeróbica para nadar a velocidades rápidas e de grande intensidade. Quando peixes maiores são comparados com menores, aqueles apresentam maior concentração de lactato e maior atividade enzimática de LDH muscular quando realizam atividade explosiva. A resistência elevada dos peixes menores se deve a uma maior capacidade em utilizar o metabolismo aeróbico, o que não acontece com peixes maiores. Em geral, os peixes menores só começam a apresentar

dificuldade na entrega de oxigênio aos tecidos a velocidades superiores a 10 BL/sec, enquanto que peixes maiores já apresentam déficits a 3 BL/sec (GOOLISH, 1995).

A quantificação dos ácidos nucleicos, RNA e DNA, também tem sido usada como medida do crescimento (BUSACKER et al, 1990). Enquanto que a proporção de DNA é relativamente constante, a concentração de RNA varia de acordo com a taxa de síntese protéica (BUSACKER et al, 1990; HOULIHAN et al, 1994; BURNESSE et al, 1999; PIERCE et al, 1999; WEBER et al, 2003), podendo-se dizer que a concentração de RNA é diretamente proporcional ao crescimento dos peixes. O RNA responde instantaneamente ao crescimento, apresentando diferença nas suas respostas em aproximadamente duas semanas (HOULIHAN et al, 1994; PIERCE et al, 1999). Entretanto, quando se quer quantificar o crescimento em longo prazo, muitas vezes os valores de proteína podem ser mais confiáveis (HOULIHAN et al, 1994).

Existem três métodos para expressar o conteúdo de RNA nos tecidos: (1) concentração de RNA por grama de tecido, que é uma medida direta do conteúdo ribossomal de determinado tecido ou do animal como um todo; (2) taxa RNA/concentração de proteína, um índice que fornece a capacidade ribossomal em sintetizar proteínas; e (3) taxa RNA/DNA, que parte da premissa de que a quantidade de DNA por célula é constante e a variação de RNA é proporcional à síntese protéica (HOULIHAN et al, 1994).

Não existe um consenso de qual indicador da concentração de RNA é o mais apropriado. Entretanto, a concentração de RNA e a taxa RNA/proteína correlacionam-se positivamente com a síntese protéica e podem fornecer

dados mais confiáveis sobre o crescimento dos peixes (HOULIHAN et al, 1994).

2.9 O matrinxã

O teleósteo de água doce *Brycon cephalus*, conhecido popularmente como matrinxã, apresenta grande interesse em piscicultura e é amplamente cultivado em várias regiões do Brasil devido ao seu crescimento rápido e a sua fácil adaptação à ração (CEPTA, 1994). O *B. cephalus* pertence à subfamília Bryconinae, família Characidae e à ordem Characiformes, Superordem Ostariophysi. É uma espécie natural da bacia Amazônica e da bacia Araguaia - Tocantins, distribuída no Brasil, Peru e Bolívia.

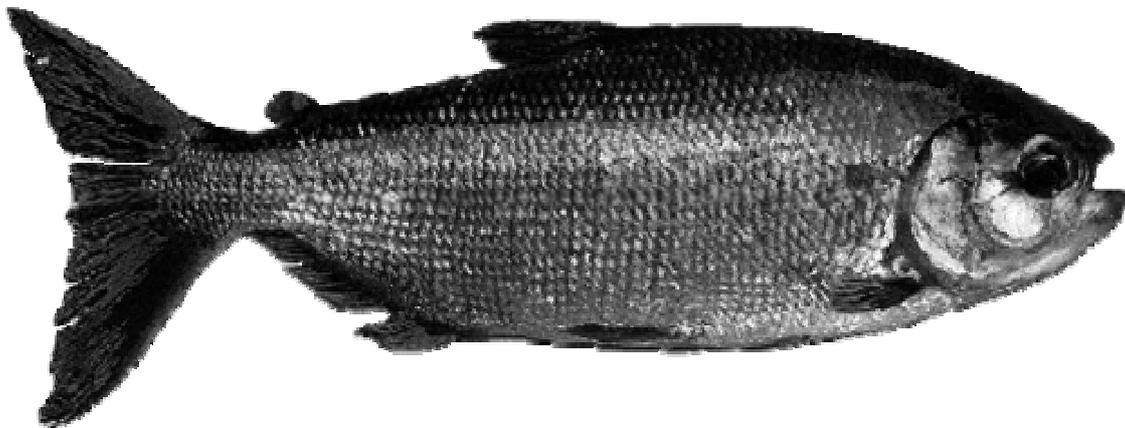


FIGURA 1: exemplar de matrinxã, *Brycon cephalus*.

O *Brycon cephalus* é originário da bacia Amazônica, mas hoje é encontrado em todas as regiões do país, apresentando uma variabilidade de aproximadamente 60 espécies (MARGARIDO & GALETTI, 2001). Na bacia do Rio São Francisco encontra-se o *B. lundii*, erroneamente chamado de matrinxã, e na bacia do Paraná temos o *B. orbignianus*, conhecido como piracanjuba.

Ambas as espécies estão ameaçadas de extinção. No sul, temos a pirapitinga do Sul, *B.cf. reinhardti*, e a piabanha, *B. insignis*, na bacia do Paraíba do Sul (CEPTA,1994).

O matrinxã apresenta corpo alongado e a coloração da pele raramente muda entre a fase jovem e a adulta. É uma espécie considerada onívora com tendência herbívora. Em seu trato intestinal são encontradas grandes variedades de frutos e insetos (VAL & HONCZARYK, 1995).

São peixes com grande potencial de crescimento e ao final de um ano de idade podem alcançar 800g a 1 kg de peso, com rendimento de 50% de filé com pele, o que lhe confere um rendimento de parte comestível muito maior que de outros peixes (MENDONÇA, 1996). Em média, o matrinxã pode atingir até 4 kg e alcançar sua maturidade sexual com três anos de idade. É uma espécie migratória, ou seja, reofílica, que necessita nadar contra a correnteza dos rios para migrar e realizar a desova. Por realizar piracema, esta espécie mostra grande capacidade de nadar contra a correnteza durante longos períodos (CASTAGNOLLI, 1992; MENDONÇA, 1996; MARGARIDO & GALETTI, 2001), ao contrário daquelas denominadas sedentárias, que permanecem no mesmo habitat durante o ano todo.

Atualmente é inegável a necessidade de estudos sobre peixes neotropicais, uma vez que a procura por estas espécies vem crescendo de forma acelerada. Os peixes do gênero *Brycon* têm sido incorporados com maior intensidade tanto nas criações experimentais como nas comerciais, necessitando do desenvolvimento de técnicas novas, de manejo e de

produção, para garantir o bom cultivo, a fim de diminuir a mortalidade e os custos de criação, bem como acelerar o processo de crescimento dos peixes. O importante para a piscicultura é o crescimento dos peixes e o bom aproveitamento do alimento ofertado. Entretanto, existem numerosos fatores que podem influenciar estas condições (JOBBLING, 1994). Respostas bioquímicas, fisiológicas e mesmo zootécnicas relacionadas à criação de peixes neotropicais ainda apresentam muitos pontos a serem elucidados, os quais poderiam facilitar as atividades de criação. O exercício é um fator que pode afetar positivamente tanto o crescimento dos peixes como o aproveitamento da ração, entretanto ainda é pouco conhecido. Portanto, é relevante a determinação das respostas bioquímicas e de crescimento relacionadas ao exercício, bem como velocidade ótima de natação, para espécies como o matrinxã, o que aumenta a possibilidade de otimizar o seu cultivo.

3. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi avaliar as respostas metabólicas e de crescimento de exemplares jovens de matrinxã, *Brycon cephalus*, submetidos ao exercício contínuo de longa duração pelo período de 37 e 72 dias, à velocidade de natação de 42cm/seg.

Para tal, foram analisadas (os):

- Os parâmetros sanguíneos e as respostas iônicas plasma;
- As respostas metabólicas de plasma, fígado, músculo branco e músculo vermelho, através da quantificação dos intermediários metabólicos;
- A preferência metabólica dos matrinxãs através do ensaio de algumas enzimas;
- Os índices de crescimento, tanto bioquímicos como zootécnicos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Animais

Os juvenis de matrinxã foram obtidos da piscicultura Águas Claras, em Mococa – SP e mantidos em tanques de 2000L para aclimação. Após um mês, 80 peixes foram divididos em quatro grupos experimentais com 20 exemplares de matrinxã por lote. Em seguida, os matrinxãs foram anestesiados com 40mg de eugenol (INOUE et al, 2003) e então submetidos à biometria corporal, ou seja, peso ($45,5 \pm 17g$) e comprimento ($14,2 \pm 2cm$).

Os tanques de exercício, com capacidade de 250L, operavam em sistema fechado de recirculação de água, com um biofiltro acoplado, evitando assim a perda excessiva de água. Dois tanques foram usados para a realização do exercício (chamados de E₃₇ e E₇₂) e os outros dois para fins de comparação com peixes que não realizaram a atividade (chamados de C₃₇ e C₇₂). Os parâmetros físicos e químicos da água eram monitorados a cada dois dias, e os valores médios foram: pH 7,4, temperatura 24°C, oxigênio dissolvido 5,7mg/L, amônia $0,43 \pm 0,08mg/mL$ e nitrito $0,09 \pm 0,1 mg/mL$. Apesar do sistema operar fechado, eram realizadas trocas de água a cada dois dias, para que assim, pudessem ser controlados devidamente os valores de pH, amônia e nitrito.

4.2 Desenho experimental

O protocolo de exercício foi assim estabelecido:

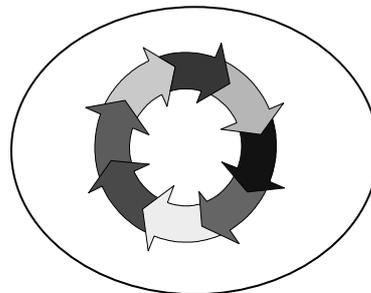
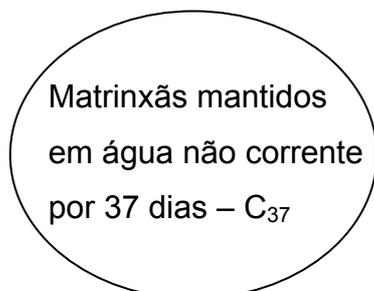
- C₃₇: 20 peixes foram mantidos em tanque com água estática por 37 dias, sem realizar exercício;

- E₃₇: 20 peixes foram mantidos em um dos tanques de exercício por 37 dias, nadando contra a corrente, sem interrupções;

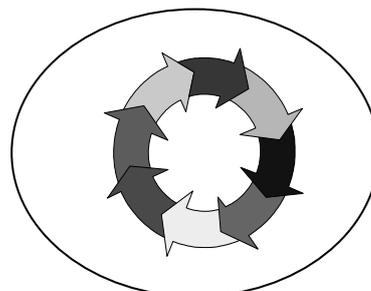
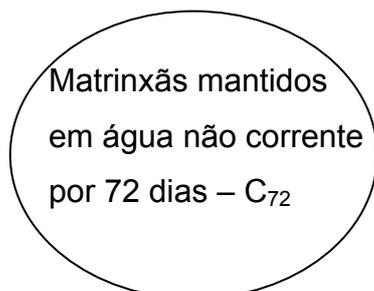
- C₇₂: 20 peixes permaneceram em outro tanque de água estática, por 72 dias, sem realizar qualquer tipo de exercício;

- E₇₂: 20 peixes foram mantidos em um segundo tanque de exercício por 72 dias, nadando contra a corrente, sem interrupções.

Apesar do exercício ter ocorrido sem interrupções, os peixes dos grupos E₃₇ e E₇₂ não foram forçados a nadar contra a correnteza, visto que durante a alimentação e o repouso, os peixes nadavam a favor da corrente, ou então, eram levados ao seu favor. De uma forma geral, os tanques experimentais foram assim divididos:



←



←

Os tanques de exercício possuíam uma bomba submersa, responsável por produzir velocidade de corrente d'água de $42 \pm 0,4$ cm/seg, monitorada diariamente. Os peixes colocados nestes tanques nadaram por 37 ou 72 dias, sem interrupção da atividade, exceto para limpeza e troca de água.

Os peixes eram alimentados duas vezes ao dia com ração comercial (30% de proteína e 3500 kcal), respeitando-se 3% da biomassa para todos os grupos para que se pudesse determinar, ao fim do experimento, a taxa de conversão alimentar aparente (CAA).

Após 37 dias, 13 peixes da C₃₇ e 13 peixes da E₃₇ foram aleatoriamente amostrados; os peixes foram anestesiados com eugenol (40mg) e em seguida, extraiu-se aproximadamente 1mL de sangue através de punção caudal. Por fim, os peixes foram submetidos à biometria corporal e posteriormente sacrificados.

Foram coletadas amostras de fígado, músculo branco e músculo vermelho; entretanto, o fígado foi pesado imediatamente após sua excisão para determinação do índice hepato-somático. O sangue foi utilizado para determinação dos parâmetros hematológicos e posteriormente era centrifugado a $12.000 \times g$ por 3 minutos para separação do plasma. Os três tecidos, juntamente com o plasma eram imediatamente congelados em nitrogênio líquido para análises posteriores.

Após 72 dias, 13 peixes do grupo C₇₂ e 13 peixes do E₇₂ passaram pelos mesmos procedimentos descritos anteriormente para os grupos C₃₇ e E₃₇.

4.3 Procedimentos analíticos

4.3.1 Parâmetros Hematológicos

4.3.1.1 Hematócrito – (Hct)

Para a determinação do hematócrito, foram utilizados capilares de vidro, os quais, depois de preenchidos, foram centrifugados a 12.000 x g por três minutos. Os valores de hematócrito foram determinados a partir de um cartão de leitura padronizado de hematócrito e expressos em %.

4.3.1.2 Hemoglobina total – (Hb_{total})

A hemoglobina total era determinada adicionando-se 10µL de sangue em 2mL de solução de Drabkin (KCN, KH₂PO₄, K₃[Fe(CN)₆]) em água destilada, misturando-se bem para total homogeneização. A densidade óptica era determinada em 540nm contra um branco contendo somente solução de Drabkin (DRABKIN, 1948).

Para o cálculo da concentração de hemoglobina total utilizou-se a expressão:

$$\text{Hb total}_{g/dL} = \text{DO}_{540nm} \times \text{diluição} \times \frac{1,6114}{11}$$

4.3.1.3 Contagem de eritrócitos (RBC)

A contagem de eritrócitos foi determinada utilizando-se 10µL de sangue em 2mL de solução de citrato formol (isotônica), misturando-se sem hemolisar. Dessa mistura, utilizava-se 10µL para a contagem em microscópio óptico, utilizando câmara de contagem e lamínula especial (Câmara de Neubauer). A contagem dos eritrócitos era feita em cinco grupos de quadrados (quatro

quadrados situados nos ângulos da área reticulada e em um próximo do centro), que são subdivididos em 16 quadradinhos, dando um total de 80 quadradinhos contados. Para o cálculo, somava-se o valor dos cinco grupos de quadrado obtendo-se um total de eritrócitos em 1/5 de 0,1 mm³ e então, calculou-se o número de eritrócitos em milhões por mm³, levando-se em conta a diluição (LIMA et al, 1969).

4.3.1.4 Volume corpuscular médio – (VCM)

Para o cálculo de VCM foram utilizados os valores de hematócrito e a contagem de eritrócitos (LIMA et al, 1969), segundo a expressão:

$$\text{VCM}_{\mu\text{mm}^3} = \frac{\text{hematócrito (\%)}}{\text{RBC (milhões/mm}^3)} \times 10$$

4.3.1.5 Hemoglobina corpuscular média – (HCM)

Para o cálculo da HCM foram utilizados os valores de hemoglobina total e a contagem de eritrócitos (LIMA et al., 1969), segundo a expressão:

$$\text{HCM (pg/célula)} = \frac{\text{Hb total (g\%)}}{\text{RBC (milhões/mm}^3)} \times 10$$

4.3.1.6 Concentração de hemoglobina corpuscular média – (CHCM)

Para o cálculo de CHCM foram utilizados os valores de hemoglobina total e de hematócrito (LIMA et al, 1969):

$$\text{CHCM (\%)} = \frac{\text{Hb total (g\%)}}{\text{Htc (\%)}} \times 100$$

4.3.2 Análise plasmática e dos tecidos

Nas amostras de plasma foram analisados: sódio, potássio, cloreto, açúcares totais, lactato, proteína, aminoácidos, amônia, triglicérides e ácidos graxos livres.

Em uma fração adequada de fígado, músculo branco e músculo vermelho foram determinados: glicogênio, açúcares redutores totais, lactato, proteína, aminoácidos e amônia. Os tecidos eram devidamente homogeneizados de acordo com o protocolo analítico a ser utilizado.

A análise de lipídios totais e o ensaio da atividade das enzimas piruvato quinase, lactato desidrogenase e glutamato desidrogenase foram realizados apenas em músculo branco e fígado; e a taxa RNA/proteína foi determinada apenas em músculo branco.

4.3.2.1 Sódio (Na^+)

A concentração de Na^+ no plasma total, diluído cem vezes, foi determinada em fotômetro de chama, Digimed DM-61, contra uma solução contendo 140mEq/L. Os cálculos foram feitos considerando-se a diluição utilizada.

4.3.2.2 Potássio (K^+)

A concentração de K^+ no plasma total, diluído cem vezes, foi determinada em fotômetro de chama contra uma solução contendo 5mEq/L. Os cálculos foram feitos considerando-se a diluição utilizada.

4.3.2.3 Cloreto (Cl⁻)

O cloreto foi quantificado segundo a APHA (1980), através de reação em um volume de 250 μ L de plasma, previamente diluído cem vezes, com as soluções de tiocianeto de mercúrio 0,09% em etanol P.A. (A) e nitrato de ferro monohidratado 6% em ácido nítrico 0,4M (B), numa relação de 3A:10B. A leitura óptica era realizada em 480nm. A concentração de cloreto foi estimada contra um branco com água destilada e um padrão de cloreto de 100nmols.

4.3.2.4 Proteína plasmática

A quantificação de proteína plasmática foi feita pelo método de Wadell apud VILLELA e colaboradores (1972), que se baseia nas medidas diferenciais realizadas em 215 e 225nm. Um volume adequado de plasma era diluído em 2,0mL de salina (0,9%) até que a absorbância em 215nm fosse inferior a 1,5. A absorbância em 225nm era subtraída da de 215nm e a diferença multiplicada por 144 para se obter a concentração de proteína na amostra em μ g/mL de solução, a qual foi posteriormente dividida pelo volume da amostra.

4.3.2.5 Proteína nos tecidos

A proteína total em fígado, músculo branco e músculo vermelho, foi determinada através do método de LOWRY e colaboradores (1951). O método consiste em dissolver 50 ou 100mg do tecido em KOH 6,0N por 5 minutos a 100° C em banho-maria. Após a dissolução dos tecidos, uma alíquota era transferida para um tubo e então se adicionava 2,5mL do reativo A, composto de Na₂CO₃ 2%, CuSO₄ 1% e solução tartarato duplo de sódio e potássio 2%. Dez minutos após, adicionava-se 0,25mL do reativo B, formado pelo reativo de

Folin-Cicalteau, o qual era diluído em água destilada na proporção de 1:2. Após 30 minutos de espera, a leitura óptica era realizada a 660nm. A concentração de proteína nos tecidos foi estimada contra um padrão de caseína contendo 1mg de proteína (1%).

4.3.2.6 Aminoácidos livres

Os aminoácidos livres foram determinados de acordo com o método de COPLEY (1941). Uma alíquota de plasma total, bem como dos tecidos previamente homogeneizados em água destilada, era transferida para um tubo e em seguida foi adicionado 2mL de ninhidrina 0,1% em propanol. Os tubos eram vedados e então colocados sob banho-maria a 40° C, por 40 minutos. Após este período, realizava-se a leitura óptica em 570nm. A concentração de aminoácidos foi estimada contra um padrão de ácido aminoacético (glicina) 10mM contendo 50nmols.

4.3.2.7 Triglicérides plasmáticos

Os triglicérides plasmáticos foram determinados de acordo com CHERNECKY e colaboradores (1993). A uma alíquota adequada de plasma adicionava-se solução transesterificadora (butilato de potássio 0,75mMol/L) para a liberação do glicerol. Esta fase era conduzida em banho-maria a 37°C por dois minutos. Em seguida, adicionava-se às amostras solução oxidante (metaperiodato de sódio 4,01mmol em ácido sulfúrico 0,37mL) para dar origem às moléculas de formol, novamente repousando-as em banho-maria a 37°C por dois minutos. A concentração de formol, proporcional à quantidade de

triglicérides, era determinada colorimetricamente a 410nm, contra um padrão de 50nmols de glicerol em solução aquosa, equivalente a 200mg de triglicérides/dL.

4.3.2.8 Ácidos graxos livres

A determinação da concentração de ácidos graxos livres foi efetuada como descrito por NORVÁK (1965). Adicionava-se 1,0mL de solução Dole (heptana, álcool isopropílico e ácido sulfúrico 1N na proporção de 1:4:0,1) na amostra de plasma, seguida de agitação por dois minutos. Posteriormente, adicionava-se 1,0mL de heptano e 2,0mL de água, agitando-se novamente por inversão. Uma amostra equivalente a 600µL da fase superior era retirada e adicionada a uma mistura de clorofórmio e heptano (5:1 v/v), e 1,0mL de reagente de cobalto. Este reagente é constituído por 1,32 volumes de trietanolamina + 10 volumes de solução A + 7 volumes de solução B. A solução A era formada por uma solução saturada de K_2SO_4 , 6g de nitrato de cobalto e 0,8mL de ácido acético glacial em água fervente. A solução B era composta por solução saturada de Na_2SO_4 em água fervente. Em seguida, as amostras eram fortemente agitadas por 30 segundos e centrifugadas por dois minutos a 3.000 x g por min. Desta mistura, retirava-se uma alíquota de 600µL à qual se adicionava 600µL de solução indicadora, constituída de 0,4% de α -nitroso- β -naftol em etanol, diluída 12,5 vezes. A leitura óptica era realizada em 500nm e a concentração estimada contra um padrão de ácido palmítico 0,4mM contendo 50nmols, e expressa em µmols/g tecido.

4.3.2.9 Intermediários metabólicos

Uma alíquota de plasma era desproteinizada em ácido tricloroacético (TCA) 20%, e os tecidos (fígado, músculo branco e músculo vermelho) foram homogeneizados em TCA 20% com um homogeneizador tipo Potter-Elvehjem a 1.000 x rpm por três minutos em banho de gelo, seguido por centrifugação a 12.000 x g por três minutos. Os sobrenadantes, tanto do plasma como dos tecidos, foram utilizados para as seguintes determinações bioquímicas:

a) Açúcares totais

A determinação de açúcares totais foi baseada no método hidrolítico ácido de DUBOIE e colaboradores (1956). Esta técnica é utilizada na determinação dos teores de açúcares totais, e não de glicose especificamente. O procedimento constitui no emprego de um volume adequado de extrato adicionado a 500µL de fenol 4,1% e 2,5mL de ácido sulfúrico concentrado, rapidamente adicionado ao meio de reação. Os tubos de reação eram imediatamente resfriados em banho de água e a leitura óptica realizada em 480nm. A concentração de glicose foi estimada contra um padrão de glicose contendo 100nmols.

b) Lactato

O lactato foi determinado segundo o método de HARROWER & BROWN (1972). Um volume adequado de extrato era adicionado a 20µL de $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 4% e, 3,5mL de ácido sulfúrico concentrado era lentamente adicionado pelas paredes do tubo. A amostra era agitada e posteriormente fervida por cinco minutos. Após a fervura, os tubos eram totalmente resfriados em banho de gelo, para então, se adicionar 80µL de p-fenilfenol (1,5 g de p-fenilfenol em

solução aquosa de NaOH 2%). Após a adição, a amostra era agitada em vortex e mantida em repouso por uma hora. Os tubos eram então fervidos por 90 segundos, imediatamente resfriados em banho de água e, a leitura óptica realizada em 570nm. As concentrações de lactato foram estimadas contra um padrão de lactato contendo 20 nmols.

c) Amônia

A amônia foi determinada por nesslerização (GENTZKOW & MASEN, 1942), onde um volume adequado de extrato era transferido para um tubo com água destilada em um volume final de 2,0 mL e adicionado 0,5 mL de reativo de Nessler. A leitura óptica era realizada em 420nm. As concentrações de amônia foram estimadas contra um padrão de amônia contendo 100nmols.

4.3.2.10 Glicogênio

As determinações de glicogênio foram realizadas como descrito por BIDINOTTO e colaboradores (1997). O método consiste na separação alcoólica do glicogênio seguida pela determinação direta de glicose (DUBOIE et al, 1956). Os tecidos (fígado, músculo branco e músculo vermelho) dos exemplares foram transferidos para um tubo de ensaio na proporção de 50 a 100 mg de tecido para 1,0mL de KOH 6,0 N e incubados por cinco minutos a 100 °C em banho-maria. Após a dissolução alcalina dos tecidos, 250µL desse extrato era transferido para um tubo rigorosamente limpo onde se adicionava 3mL de etanol e 100µL de K₂SO₄ 10%, seguidos de agitação em vortex. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 3.000 x g por três minutos e o sobrenadante era descartado. O precipitado era re-suspendido em 2,5mL de

água destilada seguido de agitação em vortex. O teor de açúcares totais foi determinado nas amostras ressuspensas pelo método hidrolítico ácido de DUBOIE e colaboradores (1956), contra um padrão de glicose contendo 100nmols. O conteúdo de glicogênio foi expresso em μ mols de glicosil-glicose/mg de tecido.

4.3.2.11 Lipídios totais

A determinação de lipídios totais foi realizada de acordo com FOLCH e colaboradores (1957). Uma alíquota de fígado e de músculo branco era homogeneizada em 5mL de uma mistura de clorofórmio/metanol (2:1). Os tubos eram fechados e guardados na geladeira por seis horas, para que ocorresse extração suficiente de lipídios. Em seguida o homogenato era filtrado em papel filtro e obtinha-se 4mL de amostra, à qual era adicionada 1mL de solução salina (NaCl 0,9%). Os tubos eram agitados suavemente por inversão, fechados e estocados em geladeira por mais seis horas. Após este período, a fase superior (aquosa) era descartada. Toda a parte inferior era transferida para tubos previamente pesados e colocados na capela até que seu conteúdo evaporasse. Após completa evaporação do clorofórmio, os tubos eram novamente pesados e o conteúdo de gordura era calculado pela diferença entre o peso do tubo vazio e do tubo com a amostra. Seu conteúdo está expresso em mg de lipídios/mg de tecido.

4.3.3 RNA/proteína

A taxa RNA/proteína foi determinada de acordo com o método de PIERCE e colaboradores (1999), que se baseia na determinação em ultravioleta do teor de RNA livre em solução. Uma alíquota de músculo branco era homogeneizada por maceração em almofariz com nitrogênio líquido. Quando a amostra era reduzida a pó, adicionava-se 3mL de Trizol e a amostra descansava por 15 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, adicionava-se 1mL de clorofórmio sob homogeneização por agitação, e a amostra era transferida para um tubo e centrifugada a 1500 x *g* por 30 minutos a 4°C. Este procedimento formava duas fases que eram transferidas para tubos separados. Da fase superior (aquosa) retirava-se 0,5mL de amostra e adicionava-se 2mL de isopropanol, seguido por centrifugação a 1600 x *g* por 30 minutos a 4°C. O precipitado era ressuscitado com 1mL de etanol e centrifugado a 1600 x *g* por 15 minutos a 4°C. O novo precipitado era re-suscitado em lauril sulfato de sódio, agitado em vortex, e a quantificação de RNA era determinada em ultravioleta em 260 e 280nm. A razão entre as duas leituras deveria estar entre 1.9 e 2, o que indica ausência de proteína. Da fase inferior (orgânica) retirava-se 0,1mL de amostra e adicionava-se 1mL de isopropanol, seguido de centrifugação a 1600 x *g* por 30 minutos a 4°C. O precipitado era re-suscitado com 1,5mL de NaOH e os tubos eram fervidos a 100° C por três minutos. A proteína era determinada de acordo com o método de LOWRY e colaboradores (1951).

4.3.4 Enzimas do metabolismo

Preparação do homogeneizado de tecidos

Um peso adequado dos tecidos (fígado e músculo branco) era homogeneizado em banho de gelo, em 1mL de tampão neutro de fosfato de sódio pH 7,0 adicionado de glicerol para 50%, utilizando-se um homogeneizador tipo Potter-Elvehjem. Posteriormente, esta amostra era centrifugada a 4°C por três minutos a 600 x *g* e o sobrenadante era submetido à nova centrifugação por oito minutos a 6000 x *g*. O sobrenadante era utilizado para as determinações das atividades enzimáticas de piruvato quinase, lactato desidrogenase e glutamato desidrogenase.

4.3.4.1 Piruvato quinase (PK)

A atividade desta enzima foi determinada de acordo com STAAL e colaboradores (1975). Este método consiste de duas etapas. Inicialmente mede a oxidação de NADH na formação de piruvato a partir do fosfoenolpiruvato, e posteriormente daquele em lactato. Uma alíquota de homogeneizado era adicionada a um meio contendo 711,2mL de tampão HEPES pH 7,4 (100mM), 100μL de KCl (1M), 10μL de MgCl₂ (1M), 56μL fosfoenolpiruvato (50mM), 15μL de NADH (100mM), 50μL de LDH e 82,8μL de ADP (30mM). A reação era determinada cineticamente em espectrofotômetro a 340nm e a atividade da PK era monitorada durante dois minutos com registros de 15 em 15 segundos. O cálculo da atividade específica se baseou na extinção do NADH e no fator para multiplicação das absorbâncias ($F = 107.180$). A atividade da enzima está expressa em mU/mg de proteína.

4.3.4.2 Lactato desidrogenase (LDH) e glutamato desidrogenase (GDH)

A atividade das duas desidrogenases foi determinada por uma adaptação do método de HOCHACHKA e colaboradores (1978) que se baseia na oxidação do NADH, determinada cineticamente em espectrofotômetro a 340nm.

A reação da LDH foi monitorada durante dois minutos com registro de 15 em 15 segundos em um meio contendo 200 μ L de ácido pirúvico (0,05 M), 100 μ L de NADH (2mM) e 1,7mL de tampão Tris pH 7,5 (0,05M), ao qual era adicionado o homogeneizado. O coeficiente de extinção molar do NADH foi determinado e utilizado no cálculo da atividade específica, obtendo-se o valor de 0,855108/mM.cm. A atividade da enzima está expressa em milimol/min/mg de proteína (mU/mg de proteína).

A reação da GDH foi monitorada durante dois minutos com registro de 15 em 15 segundos, em um meio contendo 2mL de um coquetel constituído por tampão imidazol pH 7,0 (0,05M), NADH (0,1mM), ADP (1mM), α -cetoglutarato (5mM) e acetato de amônio (250mM), ao qual foi adicionado homogeneizado. O coeficiente de extinção molar do NADH previamente determinado (0,855108/mM.cm), foi utilizado no cálculo de atividade específica. A atividade da enzima está expressa em μ mol/min/mg de proteína (μ U/mg de proteína).

A proteína total no homogeneizado dos tecidos foi determinada no mesmo homogeneizado preparado para as determinações enzimáticas, de acordo com o método de Wadell apud VILLELA e colaboradores (1972). A concentração de proteína na amostra era dada em μ g/mL de solução, a qual foi

posteriormente dividida pelo peso da amostra. Este valor era usado para o cálculo da atividade das três enzimas.

4.4 Análise estatística

As análises estatísticas dos grupos exercitados por 37 e 72 dias foram realizadas através do pacote estatístico "GraphPad InStat 3.0". As respostas encontradas para cada um dos tratamentos foram analisadas separadamente, ou seja, não foram comparadas as respostas obtidas pelos peixes exercitados por 37 dias com as encontradas pelos que se exercitaram por 72 dias.

O delineamento estatístico utilizado foi o teste t não pareado com 95% de intervalo de confiança ($P < 0,05$). Todos os dados são apresentados com suas médias \pm desvio padrão (DP).

5. RESULTADOS

5.1 Grupo exercitado por 37 dias

Os matrinxãs exercitados por 37 dias cresceram mais que os peixes mantidos em repouso, apesar de a diferença ter sido pequena. Enquanto o grupo controle apresentou aumento de peso corporal de 16,7% ao longo dos 37 dias, o grupo exercitado mostrou crescimento em massa de apenas 18% no mesmo período de tempo (TABELA 1).

Diferenças no comprimento final só foram observadas para os peixes exercitados (15%) e, o índice hepato-somático não foi alterado pelo exercício. A taxa RNA/proteína mostrou-se aumentada para os matrinxãs exercitados e, o exercício também promoveu uma boa melhora na taxa de conversão alimentar aparente (CAA), mostrando-se 32% menor para E₃₇ (TABELA 1).

Não foram encontradas diferenças nos valores de Hct, RBC e HCM, entretanto o VCM aumentou 13% e a concentração de Hb e de CHCM diminuíram 8 e 16%, respectivamente (TABELA 2).

Em relação às respostas plasmáticas, não se evidenciaram eventos iônicos e metabólicos decorrentes do exercício (TABELA 3), bem como valores diferentes de TGL e AGL (FIGURA 2).

A concentração de amônia e de lactato hepático aumentaram 41 e 50%, respectivamente. A relação glicogênio/peso total diminuiu cerca de 24% e a proteína/peso total apresentou aumento de 20% (TABELA 3). O teor de lipídios totais hepático mostrou queda de 24% (FIGURA 3). Os demais parâmetros no tecido hepático não sofreram alterações decorrentes do exercício (TABELA 3).

As atividades enzimáticas hepáticas de PK e da GDH aumentaram 66 e 44%, respectivamente enquanto que a de LDH diminuiu 28,6% (FIGURA 4).

Ao contrário do fígado, o músculo branco sofreu poucas modificações metabólicas, sendo significativo apenas o aumento da atividade da enzima PK (TABELA 3 e FIGURA 4).

A concentração de glicose e de aminoácidos livres no músculo vermelho diminuiu 13 e 26%, respectivamente (TABELA 3).

TABELA 1. Dados de crescimento de matrinxãs submetidos a 37 dias de experimentação.

Parâmetro	Condição		
	C ₃₇	E ₃₇	
Peso corporal (g)	Inicial	40 ± 13,2 ^a	45,6 ± 12,8 ^a
	Final	48 ± 10,6 ^a	55,6 ± 6,4 ^b
Comprimento corporal (cm)	inicial	13,7 ± 1,5 ^a	14 ± 2 ^a
	final	15,3 ± 1,7 ^a	16,4 ± 1,6 ^b
IHS (%)	1 ± 0,3	1,1 ± 0,2	
CAA	7,1	4,84*	
RNA/proteína (µg/g)	3,15 ± 0,82	4,3 ± 1,2*	

Os dados estão expressos como média ± DP. IHS – Índice hepato-somático; CAA – conversão alimentar aparente. Letras sobrescritas e (*) indicam diferenças significativas.

TABELA 2. Valores hematimétricos de matrinxãs submetidos a 37 dias de experimentação.

Parâmetros hematológicos	Condição	
	C ₃₇	E ₃₇
Hematócrito (%)	30,8 ± 6,3	34,2 ± 3,8
Hemoglobina (g%)	10 ± 0,7	9,2 ± 0,8*
RBC (10 ⁶ /mm ³)	2,3 ± 0,5	2,1 ± 0,5
VCM(μ ³)	138,3 ± 19,5	157,5 ± 19,5*
HCM (μgramas)	45,1 ± 14	48,2 ± 23
CHCM (%)	32,9 ± 4,7	27,5 ± 2,8*

Valores expressos com suas médias ± DP. (*) indicam diferenças significativas.

TABELA 3. Respostas metabólicas de plasma, fígado, músculo branco e músculo vermelho de matrinxãs submetidos a 37 dias de experimentação.

Intermediários metabólicos	Plasma		Fígado	
	C ₃₇	E ₃₇	C ₃₇	E ₃₇
Glicogênio	—	—	1,53 ± 0,3	1,5 ± 0,6
Açúcares totais	0,76 ± 0,2	0,7 ± 0,15	556,3 ± 84,6	544,4 ± 120,8
Lactato	0,2 ± 0,01	0,16 ± 0,05	6,4 ± 1,5	12,7 ± 2,9*
Glicogênio/peso total	—	—	34,7 ± 7,7	26,5 ± 6,6*
Proteína	0,2 ± 0,04	0,18 ± 0,02	0,18 ± 0,02	0,17 ± 0,02
Proteína/peso total	—	—	263,5 ± 68,3	331,3 ± 56,8*
Aminoácidos livres	16,7 ± 4,1	18 ± 5,1	53,9 ± 9,4	54,4 ± 8
Amônia	7,8 ± 1,2	6,9 ± 1,6	6,5 ± 1,5	11,1 ± 2,8*
Sódio	143,5 ± 7,7	144,5 ± 9,2	—	—
Potássio	3,6 ± 1,5	4 ± 1,7	—	—
Cloro	1,1 ± 0,08	1 ± 0,06	—	—

Intermediários metabólicos	Músculo branco		Músculo vermelho	
	C ₃₇	E ₃₇	C ₃₇	E ₃₇
Glicogênio	0,02 ± 0,004	0,02 ± 0,003	0,06 ± 0,02	0,08 ± 0,03
Açúcares totais	50 ± 9,7	53 ± 12,6	82,8 ± 11,8	71,7 ± 10*
Lactato	63,2 ± 12,7	69 ± 9,7	39,1 ± 7,5	44,6 ± 7,7
Glicogênio/peso total	0,5 ± 0,2	0,4 ± 0,1	1,4 ± 0,8	1,4 ± 0,7
Proteína	0,28 ± 0,02	0,27 ± 0,04	0,3 ± 0,06	0,3 ± 0,04
Proteína/peso total	173,6 ± 60	216,6 ± 75,2	134,5 ± 41,5	163 ± 26,7
Aminoácidos livres	36,4 ± 11,2	38,4 ± 9,6	20,2 ± 6	15 ± 5*
Amônia	20,1 ± 2,3	19,6 ± 2,0	20,7 ± 4,5	19,7 ± 4,6

Dados expressos com suas médias ± DP. Glicogênio: μmol glicosil glicose/mg de tecido; Proteína: μg/ml de plasma e μg/g de tecido. Demais metabólitos: μmol/ml de plasma e μmol/g de tecido. Sódio e potássio: mEq/ml de plasma. (*) indicam diferenças significativas.

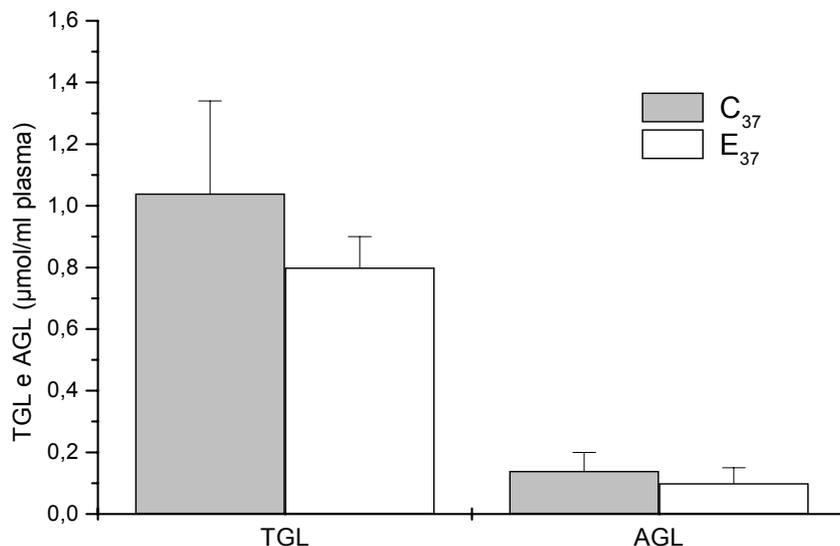


FIGURA 2: Triglicérides e ácidos graxos livres plasmáticos de matrinxãs submetidos a 37 dias de experimentação (média ± DP).

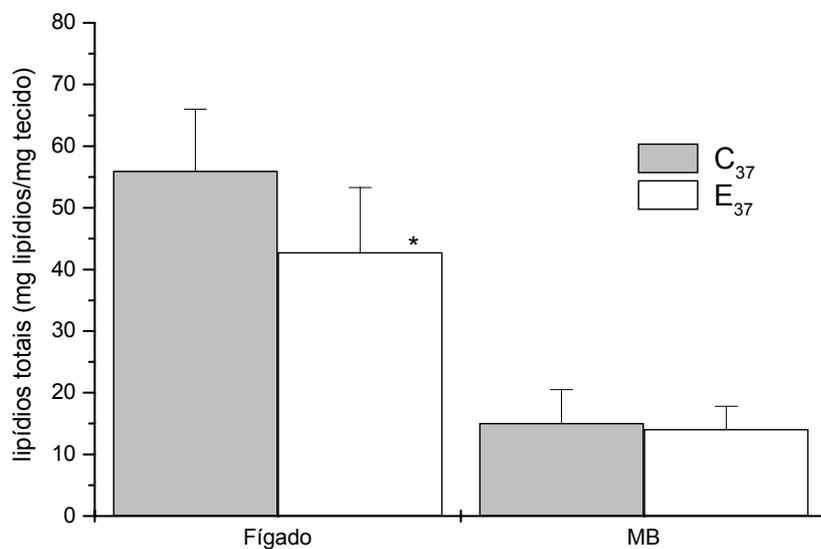


FIGURA 3: Lipídios totais de fígado e músculo branco (MB) de matrinxãs submetidos a 37 dias de experimentação (média ± DP). (*) indica diferença significativa.

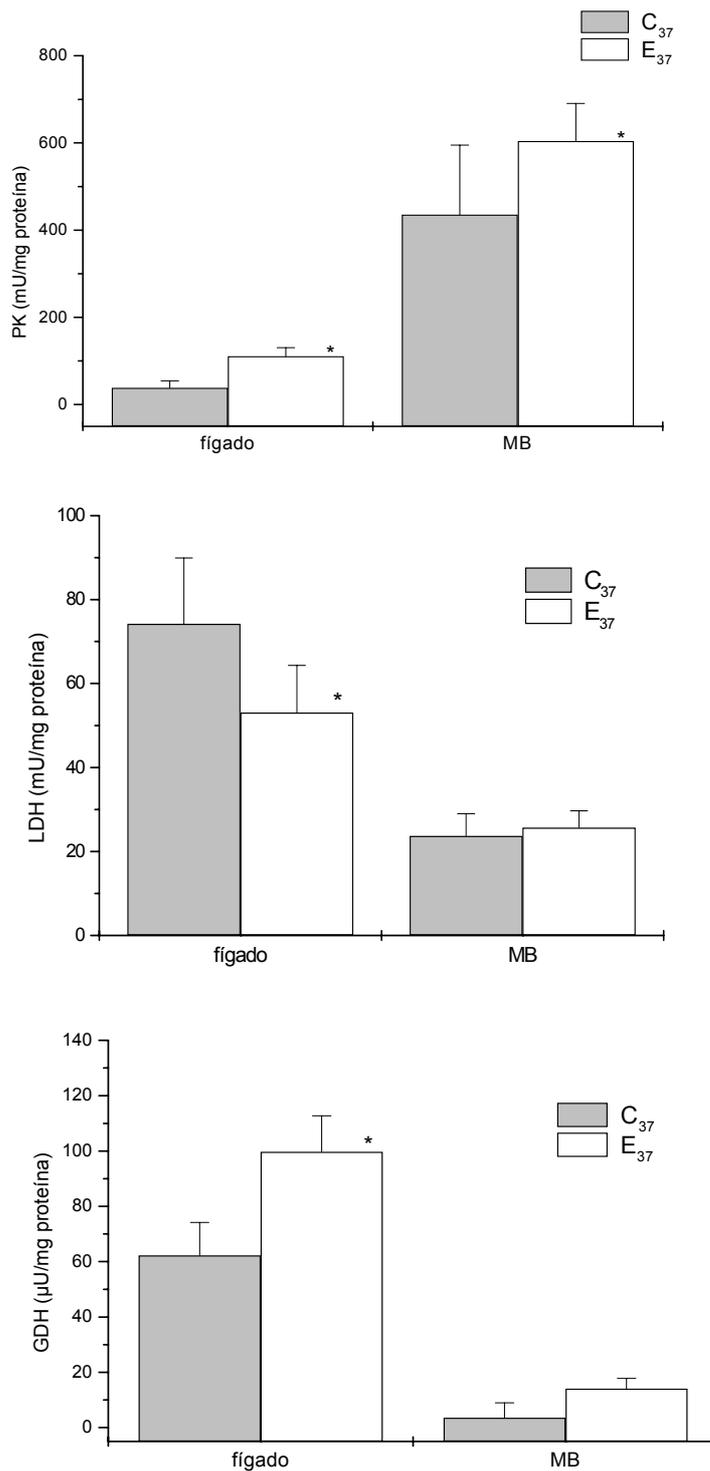


FIGURA 4: Atividade enzimática de fígado e músculo branco (MB) de matrinxãs submetidos a 37 dias de experimentação (média ± DP). (*) indicam diferenças significativas.

5.2 Grupo exercitado por 72 dias

Os matrinxãs exercitados por 72 dias cresceram muito mais que os matrinxãs que não realizaram exercício. O grupo C_{72} cresceu 19% em massa corporal e o grupo E_{72} cresceu mais que 31% (TABELA 4). Foram observadas diferenças no comprimento final para os dois grupos, controle e exercitado, mas com maior relevância para E_{72} , apresentando ganho superior a 20%, em comparação aos 13% apresentados por C_{72} . O IHS não foi alterado pelo exercício, assim como a taxa RNA/proteína. Todavia, a taxa de CAA diminuiu 55% para E_{72} (TABELA 4).

Em relação aos parâmetros hematológicos Hct, RBC e HCM, não houve diferenças para E_{72} . Entretanto, o VCM aumentou 16%, e a Hb e o CHCM diminuíram 6 e 13%, respectivamente (TABELA 5).

Não foram observadas respostas diferentes para glicose, lactato, proteína, potássio e cloreto plasmáticos, mas o teor de aminoácidos livres e de amônia aumentou 19 e 16%, respectivamente. O íon sódio também sofreu ligeiro aumento de 6% (TABELA 6). Também se pôde observar que os valores de TGL diminuíram 46%, ao mesmo tempo em que ocorreu aumento de mesmo valor (46%) de AGL (FIGURA 5).

Em relação à resposta hepática, observou-se aumento na concentração de glicose de 15%, ao mesmo tempo em que ocorreu redução de 28% da relação glicogênio/peso total (TABELA 6). A resposta metabólica de lactato não foi influenciada pelo exercício. A concentração de aminoácidos livres e de amônia aumentou 11,6 e 14,7%, respectivamente, bem como a relação

proteína/peso total, que mostrou um aumento de 39% (TABELA 6). O teor de lipídios totais aumentou 26% (FIGURA 6). As atividades enzimáticas de PK e de LDH reduziram cerca de 19 e 29%, respectivamente, mas a atividade de GDH aumentou 28,6% (FIGURA 7).

O músculo branco foi bastante afetado pelo exercício (TABELA 6). Observou-se queda nos valores de glicose (13%), de lactato (21%) e da relação glicogênio/peso total (25%). Ao mesmo tempo, ocorreu aumento da relação proteína/peso total (36,3%), da concentração de aminoácidos livres (16,5%) e de amônia (7%) (TABELA 6). O teor de lipídios totais também mostrou queda de 43,4% (FIGURA 6). A atividade enzimática de LDH não foi afetada pelo exercício, entretanto a de PK e a de GDH diminuíram 40 e 55%, respectivamente (FIGURA 7).

O músculo vermelho mostrou queda nos valores de glicogênio e da relação glicogênio/peso total de 43 e 53%, respectivamente, e também um decréscimo de 17% na concentração de glicose (TABELA 6).

TABELA 4. Dados de crescimento de matrinxãs submetidos a 72 dias de experimentação.

Parâmetro	Condição		
	C ₇₂	E ₇₂	
Peso corporal (g)	Inicial	43,9 ± 13,5 ^a	52,7 ± 1,5 ^a
	Final	54,1 ± 6,3 ^a	76,5 ± 4,2 ^b
Comprimento corporal (cm)	inicial	14,4 ± 1,5 ^a	14,6 ± 2,2 ^a
	final	16,5 ± 1,9 ^a	18,4 ± 1,8 ^b
IHS (%)	1,3 ± 0,4	1,3 ± 0,4	
CAA	4,28	1,94 [*]	
RNA/proteína (µg/g)	5,7 ± 1,4	4,8 ± 1,5	

Dados apresentados com suas médias ± DP. IHS – Índice hepato-somático; CAA – conversão alimentar aparente. Letras e (*) indicam diferenças significativas.

TABELA 5. Valores hematimétricos de matrinxãs submetidos a 72 dias de experimentação.

Parâmetros hematológicos	Condição	
	C ₇₂	E ₇₂
Hematócrito(%)	33.8 ± 3.5	36 ± 4.1
Hemoglobina (g%)	10 ± 1.2	9.4 ± 1.1*
RBC (10 ⁶ /mm ³)	2.3 ± 0.5	2 ± 0.2
VCM (μ ³)	153.1 ± 36.9	181.3 ± 20.2*
HCM (μgramas)	45.2 ± 10.7	47.6 ± 6.2
CHCM (%)	29.7 ± 3	26.2 ± 2*

Dados apresentados com suas médias ± DP. (*) indicam diferenças significativas.

TABELA 6. Respostas metabólicas de plasma, fígado, músculo branco e músculo vermelho de matrinxãs submetidos a 72 dias de experimentação.

Intermediários metabólicos	Plasma				Fígado			
	C ₃₇		E ₃₇		C ₃₇		E ₃₇	
Glicogênio	—	—	—	—	2	± 0,5	2,2	± 0,7
Açúcares totais	1,3	± 0,4	1,2	± 0,2	440,6	± 62,5	519,4	± 74,1*
Lactato	0,17	± 0,04	0,25	± 0,2	22,2	± 3,66	20,5	± 3,3
Glicogênio/peso total	—	—	—	—	39,6	± 11,5	28,8	± 10*
Proteína	0,2	± 0,02	0,2	± 0,02	0,12	± 0,01	0,11	± 0,02
Proteína/peso total	—	—	—	—	436,5	± 86	718,5	± 123,4*
Aminoácidos livres	7,3	± 1,6	9	± 1,3*	64	± 9,3	72,4	± 8*
Amônia	4	± 0,5	4,8	± 0,4*	123,7	± 19,5	145	± 23,4*
Sódio	156,5	± 8,9	166	± 10,6*	—	—	—	—
Potássio	3,3	± 1,1	3,6	± 1,8	—	—	—	—
Cloreto	1,3	± 0,06	1,3	± 0,07	—	—	—	—

Intermediários metabólicos	Músculo branco				Músculo vermelho			
	C ₃₇		E ₃₇		C ₃₇		E ₃₇	
Glicogênio	0,04	± 0,006	0,04	± 0,004	0,14	± 0,06	0,08	± 0,04*
Açúcares totais	34,6	± 4,4-	30,1	± 5,7*	71,8	± 9,2	60,3	± 10,6*
Lactato	57,6	± 4,4	45,6	± 8,3*	44,5	± 4,5	48,2	± 5,8
Glicogênio/peso total	0,8	± 0,1	0,6	± 0,2*	2,7	± 0,9	1,25	± 0,9*
Proteína	0,2	± 0,02	0,2	± 0,02	0,16	± 0,04	0,176	± 0,02
Proteína/peso total	275,5	± 86,6	432,5	± 155,3*	499	± 125,3	484,3	± 120
Aminoácidos livres	42,6	± 11,3	51	± 6,7*	23,2	± 3	23,4	± 5
Amônia	30,1	± 1,2	32,4	± 2,3*	30	± 8,2	32,5	± 7

Dados expressos com suas médias ± DP. Glicogênio: μmol glicosil glicose/mg de tecido; Proteína: μg/ml de plasma e μg/g de tecido; Demais metabólitos: μmol/ml de plasma e μmol/g de tecido; Sódio e potássio: mEq/ml de plasma. (*) indicam diferenças significativas.

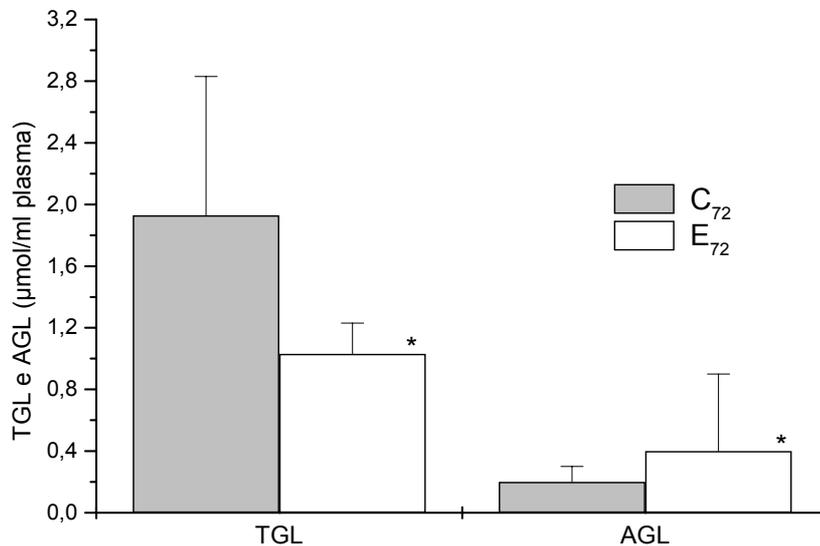


FIGURA 5. Triglicérides e ácidos graxos livres plasmáticos de matrizãs submetidos a 72 dias de experimentação (média ± DP). (*) indicam diferenças significativas.

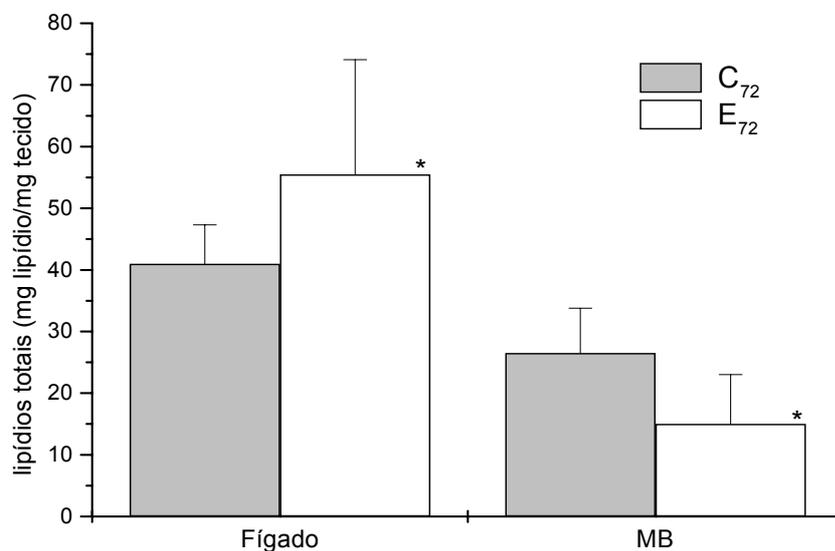


FIGURA 6. Lipídios totais de fígado e músculo branco (MB) de matrizãs submetidos a 72 dias de experimentação (média ± DP). (*) indicam diferenças significativas.

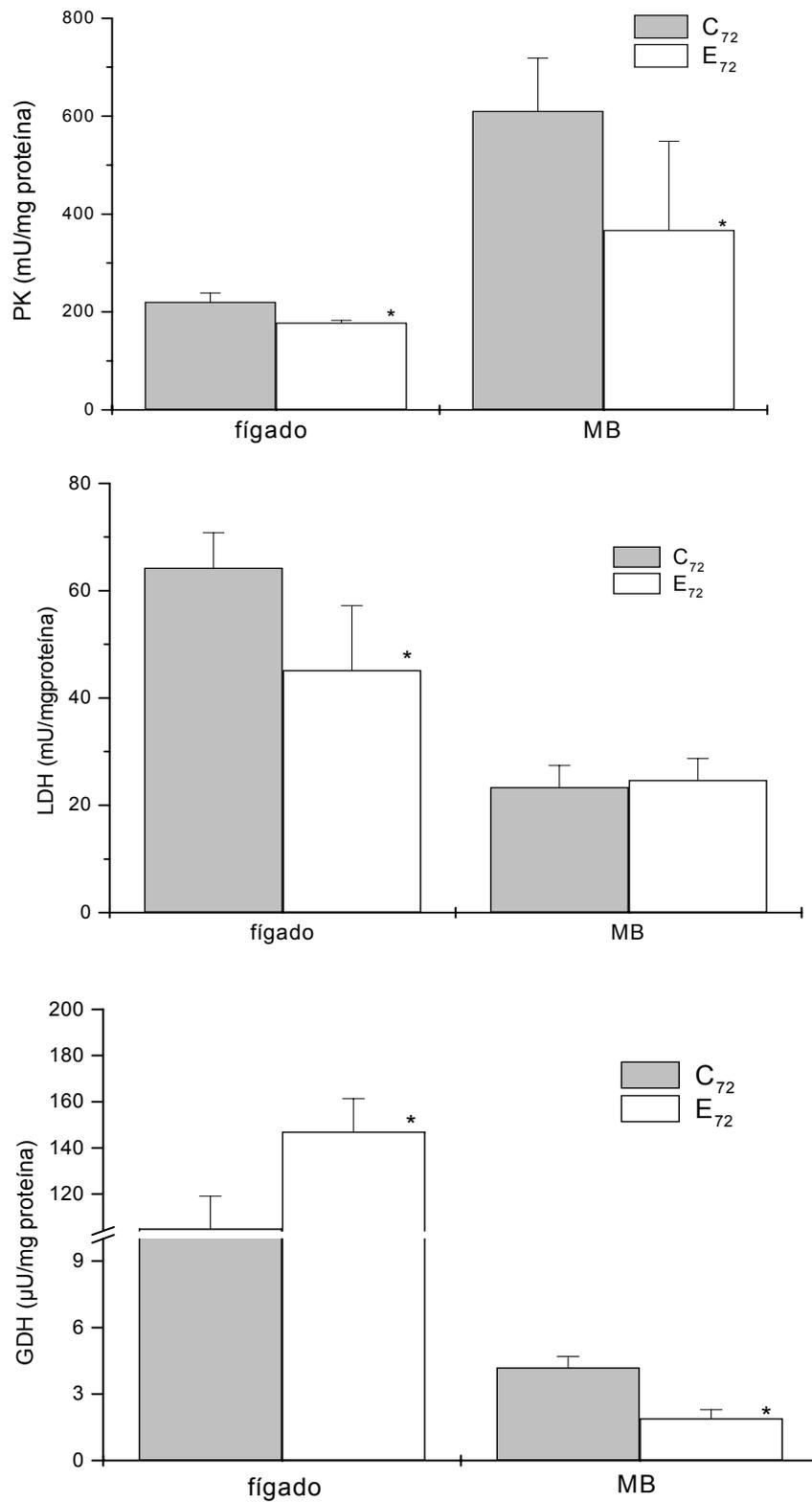


FIGURA 7. Atividade enzimática de fígado e músculo branco (MB) de matrinxãs submetidos a 72 dias de experimentação (média \pm DP). (*) indicam diferenças significativas.

6. DISCUSSÃO

6.1 Grupo exercitado por 37 dias

Os matrinxãs exercitados por 37 dias se desenvolveram mais que os peixes não-exercitados, tanto em peso como em comprimento corporal. O exercício acelerou o processo de crescimento, apesar da diferença não ter sido superior a 2% para peso e 5% para o comprimento. Este efeito já foi relatado para outras espécies, como “striped bass”, salmão, truta arco-íris, truta-marrom (*Salmo trutta*), “red sea bream”, “masu salmon” (*Oncorhynchus masou masou*), “japanese flounder” e “yellowtail” (*Seriola quinqueradiata*) (JOBBLING, 1994; YOUNG & CECH JR, 1994; FORSTER & OGATA, 1996; OGATA & OKU, 2000; YOGATA & OKU, 2000; AZUMA et al, 2002; BUGEON et al, 2003).

O IHS não foi alterado pela prática de exercício, o que sugere que a atividade desenvolvida pelos matrinxãs não resultou em gastos metabólicos extras. Resultados semelhantes foram encontrados por BUGEON e colaboradores (2003). Entretanto, medidas das reservas metabólicas de glicogênio e de lipídios mostraram que os matrinxãs exercitados usaram essas fontes energéticas para atender à demanda do organismo frente ao exercício imposto. Isto reflete uma sensibilidade diferente para os dois procedimentos, e sugere que medidas bioquímicas são mais precisas para se avaliar o estado metabólico do fígado do que o IHS.

A taxa RNA/proteína mostrou-se aumentada para o grupo exercitado, evidenciando um maior crescimento destes peixes. Vários autores observaram o mesmo, sugerindo que o aumento do conteúdo de RNA reflete maior síntese protéica (BUSACKER et al, 1990; HOULIHAN et al, 1994; JOBBLING, 1993;

BURNESS et al, 1999; PIERCE et al, 1999). Apesar de não significativos, o teor da relação proteína/peso total e dos aminoácidos livres do músculo branco são maiores nos matrinxãs exercitados, o que também indicaria o aumento da síntese protéica.

Os resultados mostram que os matrinxãs foram positivamente afetados pelo exercício, já que conseguiram crescer um pouco mais e com melhor taxa de CAA. O decréscimo de 32% na taxa de CAA para E₃₇ indica que seriam necessários 4,8 kg de ração para que os matrinxãs atingissem 1 kg de peso corporal, enquanto que os peixes de C₃₇ precisariam de 7 kg de ração para atingir o mesmo peso. A maior uniformidade observada sugere que a ração foi melhor distribuída entre os peixes (JOBBLING, 1994; DAVISON, 1997). Evidentemente, a presença de resíduos nos tanques de água parada e de exercício poderiam ser diferentes, bem como a qualidade da água, fatos que afetariam a taxa de CAA. Mas este não foi o caso, visto que todos os parâmetros da água foram constantemente monitorados, e a limpeza das caixas era efetuada regularmente. Outro ponto a salientar é que após a morte de algum peixe, seu peso era subtraído da biomassa para que assim pudesse se respeitar os 3% de biomassa pré-estipulados.

Apesar das alterações hematológicas poderem ser correlacionadas positivamente com o crescimento (SATCHELL, 1991; FRANKLIN et al, 1992), os matrinxãs exercitados não exibiram as mesmas respostas encontradas para outras espécies (HOUSTON, 1990; MARTINEZ et al, 1994). Observou-se redução no conteúdo de hemoglobina, fato que não dificultou o crescimento, talvez pelo fato de o exercício promover melhora no transporte de nutrientes e

oxigênio através do sangue. Ou talvez os matrinxãs maiores (exercitados) não necessitem de tanto oxigênio para atender sua demanda energética, fato já mencionado por GOOLISH (1995). Os valores de hematócrito permaneceram constantes, o que já foi mostrado em um trabalho recente com dourado (*Salminus maxillosus*), onde o exercício aeróbico não alterou os valores de hematócrito (MORAES e colaboradores, 2004). Entretanto, estes peixes foram expostos à apenas 15 minutos de exercício. A HCM é um parâmetro relacionado à capacidade respiratória (HOUSTON, 1990), e sua invariabilidade sugere que o metabolismo, ao longo do exercício, não foi intenso o suficiente para promover mudanças respiratórias. Já o VCM está relacionado ao estado osmorregulatório, à dinâmica cardíaca e ao fluxo sanguíneo (HOUSTON, 1990). O fato de o exercício poder causar vasodilatação (SATCHELL, 1991) explicaria o aumento do VCM; desta forma o animal poderia manter a osmolaridade, o fluxo e a pressão sanguínea apropriadamente.

Os distúrbios eletrolíticos, como o efluxo de sódio e de cloreto e o influxo de potássio, estão diretamente correlacionados com a intensidade do exercício. Quando os peixes realizam uma atividade extenuante, as grandes perdas plasmáticas de sódio, cloreto e o influxo de potássio são decorrentes das altas concentrações de lactato intracelular que favorecem a entrada de íons e água para as células. A maior demanda de oxigênio ocasionada pela atividade estressante também aumenta a área das brânquias permitindo maior saída dos íons (WOOD, 1991; POSTLETHWAITE & McDONALD, 1994; HOLK & LYKKEBOE, 1998; KNUDSEN & JENSEN, 1998). Como não houve desbalanço

iônico para o grupo E₃₇, admite-se que o exercício imposto não foi do tipo máximo ou mesmo sub-máximo.

Os matrinxãs exercitados não parecem ter aumentado a oxidação de carboidratos em músculo branco além dos valores controles. Isto concorda com a literatura, que afirma que a velocidades inferiores a 80% da U_{crit} o papel da glicólise permanece irrelevante (MILLIGAN & GIRARD, 1993; JÜRS & BASTROP, 1995; MOYES & WEST, 1995; WEBER & HAMAN, 1996; SHANGAVI & WEBER, 1999; RICHARDS et al, 2002). Entretanto, dourados exercitados por 15 minutos a 0,5 cm/seg, aumentaram suas concentrações plasmáticas de lactato e de glicose (MORAES et al, 2004), indicando que a preferência metabólica para esta espécie não foi a mesma que a dos matrinxãs exercitados. Os açúcares totais plasmáticos também não sofreram alterações em decorrência do exercício, e isto pode ser um indicativo de que a atividade imposta aos matrinxãs não foi estressante ou causadora de depleção das fontes energéticas (van den THILLART & KESKEBE, 1978; RISTORI & LAURENT, 1985; WEBER & HAMAN, 1996). Entretanto, os dados sugerem que o exercício imposto aos matrinxãs levou a um aumento na concentração de lactato hepático, ao mesmo tempo em que promoveu diminuição da atividade de LDH. Provavelmente, a produção de lactato era rapidamente balanceada com sua oxidação, já que este metabólito não desempenha papel importante na manutenção de exercício aeróbico. Além disto, há uma queda de 13% no valor de açúcares totais em músculo vermelho, podendo ser este o responsável tanto pelo aparecimento de lactato no fígado como pela sua conversão em glicose.

As fontes de glicose no fígado através do processo neoglicogênico, são em geral, o lactato e as proteínas (MOON & FOSTER, 1995). Esse processo explicaria o aumento de lactato e também de amônia neste órgão, tal como é proposto em truta arco-íris (MOYES & WEST, 1995; van den THILLART & van RAAJI, 1995). Apesar destes resultados, SHANGAVI & WEBER (1999), demonstraram que trutas arco-íris exercitadas a 70% da U_{crit} reduziram a concentração de glicose hepática. Porém, MOYES & WEST (1995) e RICHARDS e colaboradores (2002), mostraram mobilização das reservas de glicogênio de músculo vermelho em carpa e truta arco-íris.

As mesmas concentrações de glicogênio e a concentração de açúcares totais invariáveis no músculo branco sugerem que os carboidratos não são fonte importante de obtenção de energia para músculo branco de matrinxãs exercitados, fato anteriormente mencionado para outras espécies (MOYES & WEST, 1995; WEBER & HAMAN, 1996). Entretanto, o decréscimo da relação glicogênio/peso total de fígado, a maior atividade de PK, tanto para fígado como para músculo branco, podem indicar que os peixes estavam usando das suas fontes de reserva glicolítica para manter a atividade natatória, já que para crescer mais ele não pode catabolizar proteína em excesso.

Em peixes, o catabolismo protéico é preferencial ao de açúcar (WEBER & HAMAN, 1996) e estima-se que, quando em repouso, 80% do substrato utilizado sejam oriundos das proteínas, e durante o exercício sua participação possa ser superior a 90%, aumentando a disponibilidade de aminoácidos para o fígado, cérebro, músculos branco e vermelho (JÜRS & BASTROP, 1995; van den THILLART & van RAAJI, 1995). Entretanto, os matrinxãs exercitados

apresentaram maior concentração protéica em músculo branco, apesar de não significativa, o que sugere que eles não estão utilizando em excesso esta fonte para suprir a demanda metabólica.

Considerando-se que a amônia é o produto final do catabolismo das proteínas e reflete reações de transaminação, sua concentração pode indicar se os aminoácidos estão sendo catabolizados (van den THILLAR & KESBEKE, 1978; MOYES & WEST, 1995; BALLANTYNE, 1995). Não foi observado aumento no teor de aminoácidos e de amônia plasmática para E₃₇, apesar da relação proteína/peso total e da amônia hepática estarem aumentadas, assim como a atividade de GDH. Esta maior concentração de proteínas no fígado deve ser oriunda do músculo vermelho, já que neste tecido há uma queda de 25% no teor destes intermediários. Todos estes fatores indicam que o matrinxã exercitado por 37 dias fez uso de proteína para obtenção de energia, mas provavelmente esta não foi a única fonte utilizada, ou os peixes provavelmente teriam seu crescimento prejudicado.

Os lipídios geralmente são mobilizados do plasma para o músculo para atender a demanda imposta pelo exercício (WEBER & HAMAN, 1996; DAVISON, 1997). Os matrinxãs exercitados por 37 dias apresentaram queda de 24% nos estoques de lipídios totais hepáticos, fato indicador de que os peixes exercitados estão oxidando lipídios para manter a atividade natatória exigida. Outros autores afirmam que em peixes exercitados, os lipídios que estão estocados em sua maioria como TGL 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).

Nossos dados indicam que o matrinxã, sob condições de exercício, oxida mais lipídios. Provavelmente, por ser um peixe de piracema e que nada contra corrente durante a migração, ele necessita de outra fonte energética além da proteína para que suas taxas de crescimento continuem altas, apesar do esforço que ele demanda enquanto realiza a atividade.

Existem algumas espécies que, apesar de menos ativas, apresentam respostas similares, como é o caso do “red sea bream” e do “japanese flounder” (FORSTER & OGATA, 1996; OGATA & OKU, 2000). Entretanto, esta não é uma regra para todas as espécies. Existem algumas, como o “striped bass” e a truta arco-íris que não mobilizam TGL e AGL além dos valores de repouso (YOUNG & CECH JR, 1994; BERNARD et al, 1999).

De acordo com a literatura (PELLETIER et al, 1995; BURNESSE et al, 1999), esperava-se que, com o crescimento, os matrinxãs também apresentassem maior atividade enzimática muscular de LDH e PK, já que um peixe de maior tamanho geralmente dependeria mais da via glicolítica do que um menor. Realmente ocorreu um aumento de 66% da atividade da PK, mas não de LDH, o que indicaria uma grande preferência pelo metabolismo glicolítico, mas sem promover fermentação láctica, já que a LDH apresenta atividade diminuída. Tais dados discordam daqueles apresentados por GOOLISH (1995) que afirma que peixes maiores apresentam maior atividade anaeróbica do que os menores. Provavelmente, o exercício estimulou o uso contínuo da via aeróbica para prover energia e facilitou o crescimento dos matrinxãs exercitados.

Desta forma, pode-se dizer que os matrinxãs exercitados por 37 dias apresentam maior gasto energético, mas este não causa grandes depleções protéicas, já que os peixes parecem estar conseguindo mobilizar mais as reservas de glicogênio e de lipídios em vez dos aminoácidos. As alterações hematológicas apontam para um melhor transporte de oxigênio e nutrientes, apesar da maior demanda imposta pelo exercício. A menor atividade de LDH hepática indica preferência pelo metabolismo oxidativo, apontando mais uma vez que o exercício realizado pelos matrinxãs não foi extenuante.

6.2 Grupo exercitado por 72 dias

A atividade imposta aos matrinxãs por 72 dias foi capaz de produzir grandes benefícios. Os matrinxãs exercitados cresceram muito mais que aqueles mantidos em repouso, apresentando ganho superior a 38%, tanto em peso como em comprimento corporal. Outras espécies também apresentaram grandes ganhos com a realização de exercício, tanto em peso como em comprimento (JOBILING, 1994; YOUNG & CECH JR, 1994; FORSTER & OGATA, 1996; AZUMA et al, 2000; OGATA & OKU, 2000; YOGATA & OKU, 2000; BUGEON et al, 2003).

O IHS não mostrou modificações em decorrência do exercício, o que poderia sugerir que os matrinxãs exercitados não gastaram suas reservas energéticas (BUSACKER, 1990). BUGEON e colaboradores (2003) também demonstraram a invariabilidade deste índice em truta marrom exercitada. Entretanto, as respostas bioquímicas de lipídios totais e glicogênio mostram que estes metabólitos foram utilizados para manter o suprimento energético

dos matrinxãs durante o exercício. Tal observação já foi descrita para o grupo E₃₇, e provavelmente reflete uma sensibilidade diferente entre os métodos utilizados, classificando os procedimentos bioquímicos como mais precisos para se aferir a condição energética do fígado.

A taxa RNA/proteína não mostrou correlação positiva com o crescimento. Apesar de ser um parâmetro que avalia o nível de crescimento pela capacidade ribossomal em sintetizar proteínas, E₇₂ não mostrou valor aumentado desta taxa como esperado. Entretanto, os matrinxãs exercitados eram bem maiores. Tal dado nos faz concordar com outros autores que o uso deste parâmetro como indicador de crescimento é muito controverso (JOBILING, 1993; HOULIHAN et al, 1994). Enquanto alguns autores são capazes de demonstrar tal correlação (MATHERS et al, 1999; PIERCE et al, 1999), outros não o são (JOBILING, 1993). Talvez uma das falhas neste parâmetro seja que ele somente leve em conta a síntese protéica, mas quando se quer calcular o crescimento total do peixe não se pode esquecer da taxa de degradação protéica. Então, na verdade, é o balanço entre anabolismo e catabolismo protéico que pode fornecer dados que evidenciem o crescimento dos peixes. Provavelmente, os matrinxãs exercitados apresentaram taxas de degradação protéica aquém daquelas dos peixes não exercitados, fato que pode ser comprovado pelos valores aumentados de aminoácidos e proteína no músculo branco do grupo em questão. GOOLISH (1995) relata que o RNA responde muito rapidamente ao crescimento, e quando se quer estudar as respostas a longo prazo, a taxa de proteína pode fornecer idéias mais apuradas sobre o crescimento.

Um dos fatores que pode ter promovido o maior crescimento dos peixes exercitados foi a mudança de comportamento causada pela prática exercício. Como já mencionado para os peixes exercitados por 37 dias, o matrinxã é uma espécie muito agressiva, mas o exercício realmente pôde alterar este comportamento, visto que diminuiu o estresse dentro das caixas e permitiu que todos os peixes crescessem mais.

Além do crescimento, a glicose plasmática também pode fornecer alguma idéia sobre o estresse. Caso os peixes estivessem sendo expostos a uma condição estressante, provocado por fator externo ou interno, provavelmente eles apresentariam glicose plasmática aumentada (van den THILLART & KESBEKE, 1978; RISTORI & LAURENT, 1985; WOOD, 1991; WEBER & HAMAN, 1996). Entretanto, os níveis de açúcares totais plasmáticos dos matrinxãs exercitados não excederam os valores basais, o que poderia indicar que a atividade imposta não estressou os peixes, estando dentro de uma velocidade adequada. MORAES e colaboradores (2004) encontraram respostas diferentes para dourados exercitados por 15 minutos, com aumento tanto de glicose como de lactato plasmático.

Os matrinxãs exercitados também fizeram um melhor uso da ração ofertada, o que pode ser confirmado pelos baixos valores de CAA. Pode-se dizer que estes peixes precisariam de apenas 2 kg de ração para atingir 1 kg de peso, enquanto que aqueles mantidos em repouso, precisariam de mais de 4 kg de ração para atingir o mesmo peso, apontando uma diferença de consumo menor que 54% para aqueles que se exercitaram. Valores melhores

de CAA já foram mencionados para salmão e truta quando expostos ao exercício de longa duração (JOBILING, 1994; DAVISON, 1997).

Apesar dos índices hematológicos poderem ser correlacionados positivamente com o crescimento (SATCHELL, 1991; FRANKLIN et al, 1992) o grupo E₇₂ não apresentou as mesmas alterações descritas na literatura. Pode-se observar redução no conteúdo de hemoglobina, talvez porque o exercício facilite e/ou melhore o transporte de oxigênio através do sangue, ou talvez, os peixes consigam captar melhor o oxigênio que está chegando, e desta forma, menos hemoglobina precisa estar transportando oxigênio. Provavelmente um peixe exercitado pode apresentar melhor transporte de nutrientes, facilitando seu crescimento. Ou ainda, matrinxãs maiores não necessitam de tanto oxigênio para atender sua demanda energética (GOOLISH, 1995). Assim como para dourados exercitados (MORAES et al, 2004), o hematócrito permaneceu constante apesar da atividade imposta. Como o valor de HCM não variou para o grupo exercitado pode-se sugerir que o exercício não promove mudanças respiratórias para atender a demanda aumentada. Já que o exercício pode causar vasodilatação (SATCHELL, 1991), isto explicaria o maior valor do VCM, pois assim o animal poderia manter a osmorregulação, o fluxo e a pressão sanguínea apropriadamente.

Os distúrbios eletrolíticos estão presentes em exercícios do tipo explosão e submáximos (WOOD, 1991; POSTLETHWAITE & McDONALD, 1995; HOLK & LYKKEBOE, 1998), onde o peixe é obrigado a nadar contra uma grande correnteza. Tais alterações são diretamente proporcionais à intensidade do exercício. Os matrinxãs exercitados por 72 dias não apresentaram grandes

alterações iônicas, a não ser, um discreto aumento de 6% nos níveis de sódio, o que pode estar relacionado à interrupção do exercício minutos antes do sacrifício dos peixes. Neste período, pode ter acontecido um influxo de sódio como tentativa de excreção de metabólitos ácidos (WOOD, 1991). Entretanto, o sódio é responsável pelo transporte de aminoácidos para dentro do músculo (HOCHACHKA, 1985) e como este tecido apresenta aumento tanto de aminoácidos como de proteína, é bem provável que haja maior dependência do mecanismo de transporte sódio-aminoácido.

Outro fato a se levar em conta é que qualquer tipo de exercício promove aumento na entrada de água através das brânquias, levando a uma maior excreção renal e conseqüentemente, maior mobilização dos íons.

Os estudos relacionados ao papel oxidativo de carboidratos, proteínas e lipídios de peixes submetidos ao exercício, quer seja de longa duração ou de explosão, são bastante controversos. Durante o exercício de longa duração, o papel oxidativo do músculo branco é muito pequeno. Sua participação é maior em altas velocidades, como nos exercícios de explosão, e durante as fases iniciais de transição do repouso para o exercício (MOYES & WEST, 1995; WEBER & HAMAN, 1996). Apesar de vários autores afirmarem que peixes utilizam pouco a via glicolítica (MILLIGAN & GIRARD, 1993; JÜRS & BASTROP, 1995; MOYES & WEST, 1995; WEBER & HAMAN, 1996; SHANGAVI & WEBER, 1999; RICHARDS et al, 2002), é provável que os matrinxãs exercitados por 72 dias supram suas necessidades energéticas através desta via fornecedora de energia.

Pode-se perceber diminuição na concentração de glicose de 13 e 17% para músculo branco e vermelho, ao mesmo tempo em que ocorreu um aumento de 15% no fígado. Não obstante, os estoques de glicogênio hepático, de músculo branco e vermelho também mostram quedas consideráveis, indicando que a glicose está sendo utilizada para manter a atividade natatória. Carpas e truta arco-íris também mobilizam suas reservas de glicogênio a 30 e 60% da U_{crit} (MOYES & WEST, 1995; RICHARDS et al, 2002), mas SHANGAVI & WEBER (1999) mostraram decréscimo na utilização de glicose hepática de truta arco-íris que nadaram a 70% da U_{crit} .

A menor concentração de lactato no músculo branco e a atividade de LDH hepática diminuída poderiam sugerir tanto um aumento da preferência oxidativa, como também maior utilização desta fonte de carbono pelo músculo vermelho para atender sua demanda energética. Como foi observado, ocorreu diminuição nos valores de glicogênio e de açúcares totais no músculo vermelho, mas para que a taxa glicêmica deste tecido seja mantida, pôde ter sido necessário um redirecionamento da glicose (que também diminuiu) e do lactato do músculo branco ao músculo vermelho. MOYES & WEST (1995) acreditam que o exercício estimula maior liberação de lactato do músculo branco para o vermelho. O pequeno aumento de lactato plasmático (não significativo) poderia indicar que o lactato estaria sendo exportado do músculo branco e possivelmente se dirigindo ao músculo vermelho para ser usado como fonte de energia (MOYES & WEST, 1995; WEBER & HAMAN, 1996). Apesar do lactato não ser uma fonte energética importante para manter o exercício, pode ser que a atividade aeróbica, de longa duração, promova um aumento no

seu papel oxidativo. Talvez essa maior atividade confira ao matrinxã a capacidade de usar o lactato como fonte mantenedora dos níveis adequados de glicemia, além da própria glicose ingerida, sem, entretanto, promover aumento da atividade anaeróbica, própria do músculo branco.

A concentração plasmática de amônia permite inferir sobre o catabolismo de aminoácidos (van den THILLART & KESBEKE, 1978; MOYES & WEST, 1995; BALLANTYNE, 1995). Sendo assim, poderíamos dizer que os matrinxãs exercitados estão usando esta fonte para obtenção de energia, devido aos valores aumentados de aminoácidos e amônia em fígado e em plasma. O aumento aproximado de 30% na concentração de proteínas e na atividade de GDH hepática corroboram a idéia de maior utilização desta fonte como substrato energético, visto que o fígado é o principal órgão envolvido no catabolismo das proteínas (MOYES & WEST, 1995). Provavelmente, a origem desta oxidação protéica seja o músculo vermelho, que apresenta queda na concentração destas moléculas e ligeiro aumento de amônia, apesar de não significativos. Apesar de o fígado mostrar maior oxidação de proteínas, os matrinxãs exercitados mostram que seu papel não é tão importante como substrato energético, contrariamente a idéia clássica que afirma que durante o exercício, o papel dos aminoácidos e proteínas pode ser superior a 90% entre os peixes (JÜRS & BASTROP, 1995; WEBER & HAMAN, 1996).

O catabolismo de aminoácidos não é maior que sua síntese, visto que o matrinxã exercitado é maior do que aquele mantido em repouso. Tal afirmação é possível, mesmo com a taxa RNA/proteína não exibindo aumento na síntese de proteína, visto que se observou um grande aumento na concentração de

proteína, assim como de aminoácidos livres no músculo branco. Provavelmente este tecido também está metabolizando proteína, já que há um pequeno aumento na concentração de amônia. Mas a atividade de GDH muscular do matrinxã exercitado foi 55% menor, o que ratifica a idéia de menor catabolismo dos aminoácidos no músculo branco. Desta forma, podemos inferir que a anabolismo de aminoácidos é maior que sua oxidação. Resultados similares foram encontrados para truta arco-íris que nadaram a 55-85% U_{crit} (RICHARDS et al, 2002). Porém, neste caso, o principal combustível energético utilizado foi oriundo da oxidação lipídica seguida pela de carboidratos e só então proteínas.

A exigência energética de matrinxãs exercitados por 72 dias também foi suprida pelos lipídios. A modificação no conteúdo de lipídios de fígado e músculo branco, bem como de triglicérides e ácidos graxos livres plasmáticos mostram o grande papel desta fonte calórica em manter os níveis energéticos do matrinxã exercitado. A diminuição superior a 43% dos lipídios no músculo branco, associada ao decréscimo de 46% de TGL e aumento de 46% de AGL, mostra que os lipídios foram disponibilizados para atender à demanda extra imposta pelo exercício. O aumento de 26% de lipídios no fígado pode indicar processo lipogênico para suprir a demanda lipídica de outros tecidos.

Alguns estudos também puderam mostrar diminuição nos estoques lipídicos de “red sea bream” e “japanese flounder” submetidos a exercício a 80% da U_{crit} por um mês e dois meses, respectivamente (FORSTER & OGATA, 1996; OGATA & OKU, 2000). Todavia, esta não é uma regra para todas as espécies. Em um estudo de BERNARD e colaboradores (1999), trutas arco-íris exercitadas não mobilizaram TGL e AGL além dos valores de repouso. Além

disso, “striped bass” inclusive aumenta seus estoques de lipídios (YOUNG & CECH JR, 1994); mas este peixe é sedentário, o que explicaria seu comportamento bioquímico distinto. DAVISON (1997) já havia mencionado o quão contraditório são os estudos relacionados à oxidação lipídica e exercício, e como os peixes respondem de diferentes maneiras ao mesmo estímulo.

Estes dados indicam que quando o matrinxã é exercitado continuamente, por um período prolongado, ele aumenta sua capacidade de oxidar lipídios. Provavelmente esta espécie é melhor adaptada a oxidá-los durante o exercício por ser um peixe de piracema, ou seja, acostumado ao exercício naturalmente enquanto migra através dos rios para se reproduzir. Entretanto, no ambiente natural os peixes mantêm os níveis de lipídios porque vão se reproduzir, e talvez por isso os matrinxãs exercitados também exibam maior atividade da via glicolítica em conjunto com a lipídica para atender a demanda energética.

Esta preferência lipídica deve ser uma das características da espécie responsáveis pelo seu grande crescimento, mesmo quando está realizando exercício, já que as gorduras ofereceriam maior suprimento energético para sustentar as diferentes necessidades da espécie. Em outras palavras poderia se dizer que o matrinxã exercitado não precisa oxidar muita proteína para manter a atividade, já que existe uma maior oxidação lipídica e glicolítica, e desta forma ele pode se desenvolver mais, e com isso, apresentar maiores taxas de crescimento.

Em relação aos índices bioquímicos enzimáticos, esperava-se um aumento da atividade de LDH e PK, em concordância com o aumento da

massa muscular, ou seja, quando o peixe cresce utiliza preferencialmente a via glicolítica (GOOLISH, 1995; PELLETIER et al, 1995; BURNESSE et al, 1999). Entretanto, os matrinxãs exercitados por 72 dias não excedem a utilização da via glicolítica para prover energia; pelo contrário, apresentaram atividade diminuída destas enzimas, indicando que o papel dos carboidratos não é fundamental, apesar de ser maior do que nos matrinxãs não exercitados. Desta forma, pode-se dizer que a oxidação lipídica é superior a qualquer uma das três grandes vias para suprir a demanda energética na espécie.

A diminuição das atividades enzimáticas da PK e da GDH no músculo branco confirma o maior uso dos lipídios como fonte energética. Os ácidos graxos de cadeia longa e uma quantidade extra de acetil-CoA inibem a atividade da PK, induzindo uma menor utilização dos carboidratos (NELSON & COX, 2002). O aumento da atividade da GDH hepática enfatiza o papel do fígado em fornecer glicose a partir da oxidação dos aminoácidos e, também indica uma rota alternativa para fornecer NADPH para a síntese lipídica.

De uma forma geral, pode-se dizer que o matrinxã sob exercício constante por 72 dias incorporou aminoácidos no músculo branco, em vez de somente oxidá-los. Os níveis de açúcares redutores e de glicogênio menores indicam que os matrinxãs exercitados utilizaram mais a via glicolítica do que os matrinxãs não-exercitados atendendo a demanda energética e mantendo os níveis adequados de glicemia. A concentração de lactato diminuída indica a preferência pela oxidação lipídica e maior uso deste metabólito pelo músculo vermelho para atender suas necessidades metabólicas. Talvez por todos estes fatores, os lipídios sejam os principais combustíveis para o fornecimento de

energia. As mudanças hematológicas sugerem que o exercício de longa duração facilita o transporte de oxigênio e nutrientes, e a melhor taxa de CAA acrescida ao fato do maior crescimento, mostra que estes peixes são beneficiados por um ecossistema que possibilita o exercício de longa duração.

7. CONCLUSÕES

Os matrinxãs responderam de forma diferente ao tempo de exercício, mas em ambos os casos, o exercício foi benéfico aos peixes pois produziu melhores taxas de crescimento com menores gastos protéicos para manutenção energética.

Os matrinxãs exercitados por 37 dias apresentaram peso e comprimento maiores do que aqueles mantidos em repouso. As alterações hematológicas apontam para um melhor transporte de oxigênio e nutrientes. Os valores de LDH hepáticos indicam maior preferência pelo metabolismo oxidativo. O maior gasto energético foi atendido pela mobilização de glicogênio e de lipídios em vez de somente ser pelos aminoácidos, o que favoreceu o maior crescimento dos matrinxãs exercitados. Estes peixes também apresentaram taxas favoráveis de conversão alimentar aparente.

Os matrinxãs exercitados por 72 dias apresentaram mudanças hematológicas que sugerem que o exercício de longa duração facilita o transporte de oxigênio e nutrientes. Eles também incorporaram muito mais aminoácidos no músculo branco em vez de somente oxidá-los, o que favoreceu o seu crescimento. Para atender a demanda energética, os matrinxãs utilizaram a via glicolítica e principalmente a lipídica. A concentração de lactato diminuída e a menor atividade de LDH hepática indicam a preferência oxidativa e maior utilização deste combustível para suprir os gastos energéticos. A taxa de CAA apresentou melhora considerável nos peixes exercitados.

O maior crescimento dos matrinxãs exercitados, associado ao fato de apresentarem melhores taxas de conversão alimentar, fazem do exercício moderado, de longa duração, uma boa prática para o cultivo de *Brycon cephalus*.

+ REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APHA. Standard methods for determinations of water and wastes (1980).
Washington: Joint editorial board, DC, 12th ed.
- AZUMA, T., NODA, S., YADA, T., OTOTAKE, M., NAGOYA, H., MMORIYAMA, S., YAMADA, H., NAKANISHI, T. & IWATA, M. (2002). Profiles in growth, smoltification, immune function and swimming performance of 1-year-old masu salmon *Onchorhynchus masou masou* reared in water flow. Fisheries science. 68C: 1282-1294.
- BALLANTYNE, J.S. (1995). Metabolic organization of thermogenic tissues of fishes. In: HOCHACHKA, P.W. & MOMMSEN, T.P. (eds.). Metabolic Biochemistry. Biochemistry and Molecular Biology of Fishes. Vol. 4. Elsevier Science, Amsterdam, pp. 241-258.
- BERNARD, S.F., REIDY, S.P., ZWINGELSTEIN, G. & WEBER, J-M., (1999). Glycerol and fatty acid kinetics in rainbow trout: effects of endurance swimming. J. Exp. Biol. 202C: 279-288.
- BIDINOTTO, P.M., SOUZA, R.H.S. & MORAES, G. (1997). Hepatic glycogen in eight tropical freshwater teleost fish: A procedure for field determinants of microsamples. Bol. Tec. CEPTA – Pirassununga, 10: 53-60.
- BUGEON, J.; LEFEVRE, F. & PAUCONNEAU, B. (2003). Fillet texture and muscle structure in brown trout (*Salmo trutta*) subjected to long-term exercise. Aquaculture Research. 34: 1287-1295.

-
- BURNESS, G.P., LEARLY, S.C., HOCHACHKA, P.W. & MOYES, C. (1999). Allometric scaling of RNA, DNA and enzyme levels: an intraspecific study. *Reg. Integ. Comp. Physiol.* 46C: 1164-1170.
- BUSACKER, G.P., ADELMAN, I.R. & GOOLISH, E.M. (1990). Growth. In: SCHRECK, C.B. & MOYLE, P.B. (eds.). *Methods for fish biology*. American Fisheries Society, Maryland, pp. 363-388.
- BUTLER, P.J., METCALFE, J.D. & GINLEY, S.A. (1986). Plasma catecholamines in the lesser spotted dogfish and rainbow trout at rest and during different levels of exercise. *Experimental Biology*. 123C: 409-421.
- CASTAGNOLLI, N (1992). *Criação de peixes de água doce*. Jaboticabal: UNESP. 189 p.
- CEPTA (1994). I Seminário sobre criação de espécies do gênero *Brycon*. Anais, Pirassununga, 82p.
- CONTE, L.; BOZANO, G.L.N. & LIMA, J.A.F. (1995). Influência do sistema de alimentação no crescimento da piracanjuba *Brycon orbignyanus*, em gaiolas. *Boletim Técnico do CEPTA*. 8: 49-60.
- COPLEY, N.G. (1941). Alloxan and ninhydrin test. *Analyst*. 66: 492-493.
- CHERNECKY, C.C., KRECH, R.L. & BERGER, B.J. (1993). Laboratory tests and diagnostic procedures. pp. 932-933.
- DAVISON, W. (1997). The effects of exercise training on Teleost Fish, a review of recent literature. *Comp. Biochemistry Physiology*. 117: 67-75.
- DRABKIN, D. (1948). The standardization of hemoglobin measurement. *Am. J. Med. Sci.* 215C: 110-111.

-
- DUBOIE, M.G., GILLES, K.A. & HAMILTON, J.K. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. 28: 350-358.
- EVANS, D. H. (1993). *The physiology of fishes*. Florida: CRC press. p.592.
- FOLCH, G.D., LESS, M. & STOME-STANLEY, G.H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226C, 497-509.
- FORSTER, I. P. & OGATA, H. (1996). Growth and whole-body lipid content of juvenile red sea bream reared under different conditions of exercise training and dietary lipid. *Fisheries Science*. 62: 404-409.
- FRANKLIN, C.E., DAVISON, W. & MCKENZIE, J.C. (1993). The role of the spleen during exercise in the antarctic teleost, *Pagothenia borchgrevinki*. *J. Exp. Biol.* 174C: 381-386.
- GENTZKOW, C.J. & MASEN, J.M. (1942). An accurate method for the determination of blood urea nitrogen by direct nesslerization. *J. Biol. Chem.* 143: 531-544.
- GOOLISH, E.M. (1995). The metabolic consequences of body size. In: HOCHACHKA, P.W. & MOMMSEN, T.P. (eds.). *Metabolic Biochemistry. Biochemistry and molecular biology of fishes*. Vol. 4. Elsevier Science, Amsterdam, pp.335-366.
- HARROWER, J.R. & BROWN, C.H. (1972). Blood lactic acid. A micromethod adapted to field collection of microliter samples. *J. Appl. Physiol.* 32C: 224-228.

-
- HOCHACHKA, P.W., GUPPY, M., GUDERLY, H..E., STOREY, K.B. & HULBERT, W.C. (1978). Metabolic biochemistry of water–vs air breathing fishes: muscle enzymes and ultrastruture. *Can. J. Zool.* .56: 736-750.
- HOCHACHKA, P.W. (1985). Fuels and pathways systems for support os muscle work. *J. Exp. Biol.* 115:149-164.
- HOLK, K. & LYKKEBOE, G. (1998). The impact of endurance training on arterial plasma K⁺ levels and swimming performance of rainbow trout. *J. Exp. Biol.* 201C: 1373-1380.
- HOULIHAN, D. F., MATHERS, E. & FOSTER, A. (1993). Biochemical correlates of growth rate in fish. In: RANKIN, J.F. & JENSEN, F.B. (eds.). *Fish ecophysiology*. Chapman & Hall, London, pp.45-71.
- HOUSTON, A.H. (1990). Blood and circulation. In: SCHRECK, C.B. & MOYLE, P.B. (eds.). *Methods for fish biology*. American Fisheries Society, Maryland, pp.273-334.
- INOUE, L.A.K., SANTOS NETO, C. & MORAES, G. (2003). Clove oil as anaesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869). *Ciência Rural.* 33C: 943-947.
- INSTITUTO DE PESCA (2003). 3.º Encontro Regional de Piscicultores de Mococa – SP. 06/nov.
- JENSEN, F. B.; NIKINMAA, M. & WEBBER, R. E. (1983). Effects of exercise stress on acid-base balance and respiratory function in blood of the teleost *Tinca tinca*. *Journal of Respiration Physiology.* 51: 291-301; 1983.

-
- JOBLING, M. (1993). Bioenergetics: feed intake and energy partitioning. In: RANKIN, J. F.; JENSEN, F. B. Fish ecophysiology. Chapman & Hall: London, pp. 1-44
- JOBLING, M. (1994). Fish Bioenergetics. Chapman & Hall: London, 309 p.
- JÜRSS, K.A. & BASTROP, R. (1995). Amino acid metabolism in fish. In: HOCHACHKA, P.W. & MOMMSEN, T.P. (eds.). Metabolic Biochemistry. Biochemistry and molecular biology of fishes. Vol. 4. Elsevier Science, Amsterdam, pp.159-190.
- KNUDSEN, P.K. & JENSEN, F.B. (1998). Effects of exhausting exercise and catecholamines on K^+ balance, acid-base status and blood respiratory properties in carp. Comp. Biochem. Physiol. 119A: 301-307.
- KUBITZA, F. (1998). Nutrição e alimentação de peixes cultivados. 108 p.
- LACKNER, R.; WIESER, W.; HUBER, M. & VIA, J.D. (1988). Responses of intermediary metabolism to acute handling stress and recovery in untrained and trained *Leuciscus cephalus* (Cyprinidae, Teleostei). J. Exp. Biol. 140: 393:404.
- NELSON, D.L. & COX, M.M. (2002). Lehninger princípios de bioquímica. 3. ed. São Paulo: Sarvier. 975 p.
- LIMA, A.O; SOARES, J.B.; GRECO, J.B.; GALIZZI, J. & CANÇADO. J.R. (1969). Métodos de laboratório aplicados à clínica. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 653 p.
- LOWRY, O.H.; ROSENBROUGH, N.J.; FARR, A.L. & RANDALL, R.J. (1951). Protein measurement with phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-275.

-
- MARGARIDO, V.P. & GLETTI, P.M.Jr. (1996). Chromosome studies in fish of the genus *Brycon* (Characiformes, Characidae, Bryconinae). *Cytobios.* 85: 219-228.
- MARTINEZ, F.J.; GARCÍA-RIERA, M.P. CANTERAS, M.; COSTA, J. & ZAMORA, S. (1994). Blood parameters in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*): simultaneous influence of various factors. *Comp. Biochem. Physiol.* 107A: 95-100.
- MATHERS, E.M.; HOULIHAN, D.F. & CUNNINGHAM, M.J. (1992). Nucleic acid concentrations and enzyme activities as correlates of growth rate of the saithe. *Pollachius virens*: growth-rate estimates of opean-sea fish. *Mar. Biol.* 112: 363-369.
- MENDONÇA, J. O. J. (1996). O gênero *Brycon*. *Aqüicultura*.
- MILLIGAN, C.L. & GIRARD, S.S. (1993). Lactate metabolism in rainbow trout. *J. Exp. Biol.* 180: 175-193.
- MILLIGAN, C.L. (1996). Metabolic recovery from exhaustive exercise in rainbow trout. *Comp. Biochem. Physiol.* 113: 51-60.
- MOON, T.W. & FOSTER, G.D. (1995). 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.* Vol. 4. Elsevier Science, Amsterdam, pp. 65-100.
- MORAES, G.; CHOUDHURI, J.V.; SOUZA R.H.S. & NETO, C.S. (2004). Metabolic effects of exercise in the golden fish *Salminus maxillosus* “dourado” (Valenciennes, 1849). *Braz. J. Biol.* 64 (3B): 655-660.

-
- MOYES C.D. & WEST, T.G. (1995). Exercise metabolism of fish. In: HOCHACHKA, P.W. & MOMMSEN, T.P. (eds.). *Metabolic Biochemistry. Biochemistry and molecular biology of fishes*. Vol. 4. Elsevier Science, Amsterdam, pp. 367-392.
- NORVÁK, M. (1965). Colorimetric ultramicro method for the determination of free fatty acids. *Journal of lipid research*. 6: 431-433.
- OGATA, H.Y. & OKU, H. (2000). Effects of water velocity on growth performance of juvenile flounder *Paralichthys olivaceus*. *J. World Aqua. Soc.* 31: 225-231.
- PELLETIER, D.; BLIER, P.U.; DUTIL, J-D. & GUDERLEY, H. (1995). How should enzyme activities be used in fish growth studies? *J. Exp. Biol.* 198: 1493-1497.
- PIERCE, G.J.; KEY, L.N.; BOYLE, K.J.; SIEGERT, K.J.; GONÇALVES, J.M.; PROTEIRO, F.M. & MARTINS, H.R. (1999). RNA concentration and the RNA to protein ratio in cephalopod tissues: sources of variation and relationship with growth rate. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 237: 185-201.
- POSTLETHWAITE, E.K. & McDONALD, D.G. (1995). Mechanisms of Na⁺ and Cl⁻ regulation in freshwater-adapted rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during exercise and stress. *J. Exp. Biol.* 198: 295-304.
- RANDALL, D. & BRAUNER, C. (1991). Effects of environmental factors on exercise in fish. *Experimental biology*. 160: 113-126.
- RANDALL, D. (1982). The control of respiration and circulation in fish during exercise and hypoxia. *Journal of Experimental Biology*. 100: 275-288.

-
- REIDY, S.R.; KERR, S.R.; NELSON, J. A. (1990). Aerobic and anaerobic swimming performance of individual Atlantic cod. *Journal of Experimental Biology*. 203: 347-357.
- RICHARDS, J.G.; MERCADO, A.J.; CALYTON, C.A.; HEIGENHAUSER, G.J.F. & WOOD, C.M., (2002). Substrate utilization during graded aerobic exercise in rainbow trout. *Experimental Biology*. 205: 2067-2077.
- RISTORI, M.T. & LAURENT, P. (1985). Plasma catecholamines and glucose during moderate exercise in trout: comparison with bursts of violent activity. *Experimental Biology*. 44: 247-253.
- SATCHEL, G.H. (1991). *Physiology and form of fish circulation*. Cambridge University Press. 235 p.
- SHANGAVI, D.S. & WEBER, J.M. (1999). Effects of sustained swimming on hepatic glucose production of rainbow trout. *J. Exp. Biol*. 202: 2161-2166.
- SILVA, J. W.; B.E.; BERNARDINO, G.; NOBRE, M. J. S.; FERRARI, V. A. & MENDONÇA, J. O. J. (1997). Cultivo do pacu *Piaratus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) em duas densidades de estocagem no nordeste do Brasil. *Boletim Técnico do CEPTA*. 10: 61-70.
- STAAL, G.E.; KOSTER, J.F.L. & VEEGER, C. (1975). Human erythrocyte pyruvate kinase. *Meth. Enzymol*. 42: 182-186.
- STRAUSS R.E. & BOND, C.E. (1990) In: SCHRECK, C.B. & MOYLE, P.B. (eds.). *Methods for fish biology*. American Fisheries Society, Maryland, pp. 109-140.
- TAVARES-DIAS, M. & MORAES F.R. (2004). *Hematologia de peixes teleósteos*. Villimpress, Ribeirão Preto. 144 p.

-
- TAYLOR, S.E.; EGGINTON, S. & TAYLOR, E.W. (1995). Seasonal temperature acclimatisation of rainbow trout: cardiovascular and morphometric influences on maximal sustainable exercise level. *F. Exp. Biol.* 199: 835-845.
- TODGHAM A. E. ; ANDERSON, P.M. & WRIGHT, P.A. (2001). Effects of exercise on nitrogen excretion, carbamoyl phosphate synthetase III activity and related urea cycle enzymes in muscle and liver tissues of juvenils rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp. biochem. Physiol.* 129A: 527-239.
- TOTLAND, G.K.; KRYVY, H.; JODESTOL, K.A.; CHRISTIANSEN, E.N.; TANGERAS, A. & SLINDE, E. (1987). Growth and composition of the swimming muscle of adult Atlantic Salmon (*Salmo salar.*) during long-term sustained swimming. *Aquaculture.* 66: 299-313.
- VAL, A. L. & HONCZARYK, A. (1995). Criando peixes na Amazônia. Manaus, INPA. 160p.
- van den THILLART, G.V.D. & KESBEKE, F. (1978). Anaerobic production of carbon dioxide and ammonia by goldfish *Carassius auratus* (L.). *Comp. Biochemistry and Physiology.* 59: 393-400.
- van den THILLART, G.V.D. & van RAAJ, M. (1995). Endogenous fuels; non invasive versus invasive approaches. In: HOCHACHKA, P.W. & MOMMSEN, T.P. (eds.). *Metabolic Biochemistry. Biochemistry and molecular biology of fishes.* Vol. 4. Elsevier Science, Amsterdam, pp. 33-64.
- VIEIRA, V. L. (2002). Estudo comparativo de processos digestivos em *Brycon cephalus* (matrinxã) e *Brycon orbignyanus* (piracanjuba) alimentados com

- diferentes teores de proteína: aspectos adaptativos e resposta metabólica. Tese (doutorado), São Carlos: UFSCar. 78 p.
- VILELLA, G.G.; BACILA, M. & TASTALDI, H. (1972). Técnicas e experimentos de bioquímica. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 552 p.
- WEBER, J. M. (1991). Effects of endurance swimming on the lactate kinetics of rainbow trout. *Experimental Biology*. 158: 463-476.
- WEBER, J.M. & ZWINGELSTEIN, G. (1995). Circulatory substrate fluxes and their regulation. In: HOCHACHKA, P.W. & MOMMSEN, T.P. (eds.). *Metabolic Biochemistry. Biochemistry and molecular biology of fishes*. Vol. 4. Elsevier Science, Amsterdam, pp. 15-32.
- WEBER, J.M. & HAMAN, F. (1996). Pathways for metabolic fuels and oxygen in high performance fish. *Comp. Biochemistry and Physiology*. 113: 33-38.
- WEBER, L.P.; HIGGINS, P.S.; CARLSON, R.I. & JANZ, D.M. (2003). Development and validation of methods for measuring multiple biochemical indices of condition in juvenile fishes. *J. Fish Biology*. 63:637-658.
- WOOD, C.M. (1991). Acid-base and ion balance, metabolism, and their interactions, after exhaustive exercise in fish. *J. Exp. Biol*. 160: 285-308.
- WOOD, C.M. (2001). Influence of feeding, exercise and temperature on nitrogen metabolism and excretion. In: WRIGHT P. & ANDERSON, P. *Nitrogen excretion*. Academic Press, California. pp. 201-238.
- YOGATA . H. & OKU, H. (2000). 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.

YOUNG, P.S. & Cech Jr, J.J. (1994). Effects of different exercise conditioning velocities on the energy reserves and swimming stress responses in young-of-the-year striped bass (*Morone saxatilis*). Can. J. Fish. Aquat. Sci. 51: 1528-1534.