

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

**EXERCÍCIO AERÓBICO E SUAS IMPLICAÇÕES NO CRESCIMENTO  
E METABOLISMO DE PACU (*Piaractus mesopotamicus*)**

Araceli Hackbarth

São Carlos

2010

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

**EXERCÍCIO AERÓBICO E SUAS IMPLICAÇÕES NO CRESCIMENTO  
E METABOLISMO DE PACU (*Piaractus mesopotamicus*)**

Araceli Hackbarth

Tese apresentada ao Programa Interinstitucional 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 Doutora em Ciências Fisiológicas.

São Carlos

2010

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

H118ea

Hackbarth, Araceli.

Exercício aeróbico e suas implicações no crescimento e metabolismo de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) / Araceli Hackbarth. -- São Carlos : UFSCar, 2010.

112 f.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2010.

1. Fisiologia comparada. 2. Condicionamento - adaptação. 3. Metabolismo. 4. Crescimento. 5. Raceway - desempenho. I. Título.

CDD: 591.1 (20<sup>a</sup>)

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

Defesa de Tese de Araceli Hackbarth

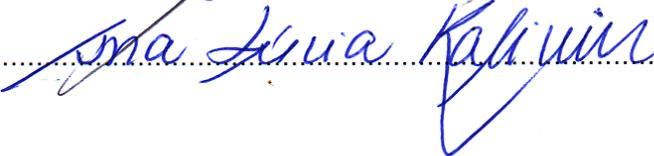
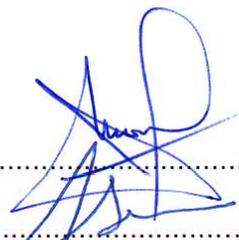
Prof. Dr. Gilberto Moraes.....

Prof. Dr. José Augusto Senhorini.....

Prof. Dr. Dalton José Carneiro.....

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marisa Narciso Fernandes.....

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Lúcia Kalinin.....



---

Orientador  
Prof. Dr. Gilberto Moraes

## **Agradecimentos**

A Deus, pela inspiração e certeza do caminho seguido.

Professor Gilberto, para você eu deveria escrever uma carta. Obrigada por todos estes anos juntos, pelo ensinamento humilde, pela torcida, crença e confiança que eu conseguiria chegar neste momento, pela conversas bioquímicas e “extra-bioquímicas” que me transformaram ao longo desta jornada. Estes foram os melhores anos da minha vida!

Chico, meu companheiro de todas as horas. Sua compreensão pelas minhas escolhas me faz te amar cada dia mais. Obrigada pelo apoio e amor todo o tempo!

Minha família merece repartir todo sucesso comigo. Chayene, Irene, Eden e Udo, vocês sempre estiveram ao meu lado, torcendo pelas minhas escolhas, mesmo que isto diminuísse nosso tempo de convivência. Amo vocês!

A Rita de Cássia Marquetti Durigan. Sua coragem e determinação mudaram minha vida e me trouxeram para esta cidade maravilhosa. Sem você nada disso teria sido possível!

Claucia Honorato, minha querida amiga. Por todo seu carinho, compreensão, auxílio, amizade, sorriso, paciência, montagem dos experimentos.....

Luciana Almeida, você é um anjo. Obrigada pela leitura atenta e carinhosa da tese.

A todos os amigos do laboratório: Ive, Rodrigo, Fernanda, Priscila, Cleujosí, Fernando, Gustavo, Lícia, Luís Inoue, Marcelo Assano, seu Toninho, Luciana, Cláudia, Lívia, Lucas, Diego (desculpem se esqueci alguém). Por todos estes anos juntos, pelas alegrias, tristezas, frustrações, sucessos, horas na bancada do “lab” e churrascos compartilhados. Vocês são especiais!

A todos os professores do PIPGCF pelas contribuições e ensinamentos ao longo destes anos.

A todos os meus demais amigos e amigas que, sempre me apoiaram e torceram pela minha conquista.

## RESUMO

A adaptação ao exercício aeróbico traz vários benefícios aos peixes, como: maior crescimento, taxas de conversão alimentar eficientes, diminuição do comportamento agressivo e otimização da utilização de fontes não-nitrogenadas como combustível energético. O objetivo deste trabalho foi avaliar as respostas metabólicas e de crescimento de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) submetido a diferentes velocidades de natação aeróbica, e à associação da prática da atividade natatória a diferentes dietas contendo níveis variáveis de carboidratos e lipídios. Dois experimentos foram realizados. No primeiro verificaram-se as respostas de crescimento e bioquímico-fisiológicas de pacus submetidos a três velocidades de natação aeróbica: 1 comprimento corporal por segundo (CC/seg), 2CC/seg e 3CC/seg. No segundo, avaliaram-se as mesmas respostas de pacus submetidos à velocidade ideal determinada no primeiro experimento, e alimentados com diferentes regimes de alimentação, com níveis variados de carboidratos e de lipídeos. As dietas utilizadas constituíram-se nas seguintes proporções: 27%ENN e 15%EE, 36%ENN e 10%EE, e 45%ENN e 5%EE. Em ambos os experimentos analisaram-se parâmetros de desempenho, variáveis hematimétricas, íons plasmáticos (apenas no primeiro experimento), metabolismo intermediário plasmático, hepático e dos tecidos musculares branco e vermelho, e enzimas do metabolismo intermediário em fígado, músculo branco e vermelho. O primeiro experimento revelou que a velocidade de natação ideal para pacus, nas condições ensaiadas, foi de 2CC/seg, pois houve adaptação metabólica para atender a demanda exigida pelo exercício, com melhores respostas de crescimento e quadro metabólico sugestivo de maior utilização de fontes não-protéicas para geração de energia. O efeito poupador de proteína foi observado nos grupos 1CC e 2CC, assim como maior oxidação protéica para manter os níveis energéticos e a glicemia adequados no grupo 3CC. No segundo experimento observaram-se, sob exercício a 2CC/seg., os melhores valores de crescimento foram encontrados em peixes alimentados com a dieta 36/10. Nesta condição, observou-se maximização da utilização dos substratos energéticos, com maior participação dos lipídeos como mantenedores da atividade física. Conclui-se assim que, pacus submetidos ao exercício aeróbico, à velocidade de 2CC/seg e alimentados com 36% de carboidratos e 10% de lipídeos (36/10), apresentam excelente desempenho de crescimento e redirecionam melhor fontes não-nitrogenadas para fins energéticos.

**Palavras-chave: natação sustentada, metabolismo, crescimento.**

## ABSTRACT

Fishes as well as other group of species can accrue benefits from adapting to aerobic exercises. Examples of these benefits are: higher growth and feed conversion rates, less aggressive behavior, and optimization of non-nitrogenous nutrient as source of metabolic energy. The aim of this work was to evaluate growth and metabolic responses of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) to aerobic swimming speeds and diets, varying in proportions of carbohydrates and lipids. Two experiments were carried out. One of it aimed to determining the ideal aerobic swimming speed for pacu; three speeds were compared: 1 body-length per second (BL/sec), 2 BL/sec, and 3 BL/sec besides a control treatment (non-exercised). In the second experiment the fish were kept at non-exercising or swimming at the ideal speed determined in the previous experiment, and submitted to different feeding regimes, in which the diets presented varying proportions (%) of carbohydrate and lipid, respectively: 27/15, 36/10 and 45/5. In both experiments, treatment effects were evaluated in terms of zootechnical parameters, several hematological variables, and intermediary plasmatic, hepatic and muscle tissue (white and red) intermediary metabolites and several metabolic enzyme activities. It was concluded from the first experiment that swimming at 2 BL/sec was ideal for pacu, considering the comparatively higher rate of growth and a metabolic response indicative of a higher utilization of non-protein sources for energy production. The spare-protein effect was also observed under the 1 and 2 BL/sec treatments while higher levels of protein oxidation, possibly for the maintenance of energy levels, and adequate levels of glycemia were observed in the individuals kept swimming at 3 BL/sec. In the second experiment, the best growth rates were presented by swimming fishes kept under the 36/10 feeding regime; a higher participation of lipids as metabolic energy supplier was also noted under this regime. It was concluded that pacu submitted to aerobic swimming at 2 BL/sec and fed with diet containing 36% lipids and 10% carbohydrates presented better growth performance and higher efficiency in directing non-protein sources for metabolic energy production.

**Keywords: swimming, metabolism, growth.**

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - 1a, 1b e 1c: exemplo de túneis de natação.....	13
Figura 2 - 2a e 2b: tanques circulares utilizados no laboratório na situação sem exercício e em exercício.....	14
Figura 3 - Esquema morfológico do tecido muscular vermelho e branco de diferentes espécies de peixes.....	28
Figura 4 - Exemplar de <i>P. mesopotamicus</i> .....	36
Figura 5 - Esquema demonstrativo dos tanques do primeiro desenho experimental.....	40
Figura 6 - Esquema demonstrativo dos tanques do segundo desenho experimental.....	43
Figura 7 - Exemplar de <i>P. mesopotamicus</i> não exercitado, no momento da biometria final.....	88
Figura 8 - Exemplar de <i>P. mesopotamicus</i> exercitado, no momento da biometria final.....	88

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Formulação e composição das dietas experimentais.....	42
Tabela 2 -	Desempenho de <i>P. mesopotamicus</i> submetidos ao exercício.....	52
Tabela 3 -	Variáveis hematológicas de <i>P. mesopotamicus</i> submetido a exercício.....	53
Tabela 4 -	Íons e proteína plasmáticos em <i>P. mesopotamicus</i> submetido ao exercício.....	53
Tabela 5 -	Metabólitos plasmáticos e hepáticos de <i>P. mesopotamicus</i> submetido ao exercício.....	54
Tabela 6 -	Metabólitos de músculo branco e músculo vermelho de <i>P. mesopotamicus</i> submetidos a exercício.....	55
Tabela 7 -	Respostas enzimáticas de <i>P. mesopotamicus</i> submetido a exercício.....	57
Tabela 8 -	Desempenho de <i>P. mesopotamicus</i> não-exercitados e exercitados alimentados com diferentes dietas.....	59
Tabela 9 -	Variáveis hematológicas de <i>P. mesopotamicus</i> não-exercitados e exercitados alimentados com diferentes dietas.....	60
Tabela 10 -	Metabólitos plasmáticos e hepáticos de <i>P. mesopotamicus</i> não-exercitados e exercitados alimentados com diferentes dietas.....	63
Tabela 11 -	Metabólitos de músculo branco e vermelho <i>P. mesopotamicus</i> não-exercitados e exercitados alimentados com diferentes dietas.....	64
Tabela 12 -	Atividades enzimáticas tissulares de <i>P. mesopotamicus</i> não-exercitados e exercitados alimentados com diferentes dietas.....	66

## SUMÁRIO

RESUMO.....	05
ABSTRACT.....	06
LISTA DE FIGURAS.....	07
LISTA DE TABELAS.....	08
1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	12
2.1 Exercício em peixes.....	12
2.2 Exercício e respostas metabólicas.....	13
2.3 Exercício, crescimento e comportamento.....	21
2.4 Exercício <i>versus</i> parâmetros hematológicos e iônicos.....	25
2.5 Exercício e atividade muscular.....	27
2.6 Nutrição e respostas metabólicas.....	30
2.7 A espécie.....	35
3. JUSTIFICATIVA.....	37
3.1 Hipóteses.....	37
3.2 Objetivos.....	38
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	39
4.1 Determinação da velocidade ideal de natação aeróbica.....	39
4.2 Avaliação das respostas fisiológico-bioquímicas à velocidade ideal.....	41
4.3 Avaliação estatística.....	43
4.4 Variáveis de desempenho.....	44
4.5 Variáveis hematimétricas.....	44
4.6 Íons plasmáticos.....	46
4.7 Metabólitos.....	46
4.7.1 Extrato ácido de tecidos.....	46
4.7.2 Extrato neutro de tecidos.....	47
4.7.3 Quantificação dos metabólitos.....	47
4.7.4 Ensaios enzimáticos.....	50
5 RESULTADOS.....	52
5.1 Primeiro experimento.....	52
5.2 Segundo experimento.....	57
6 DISCUSSÃO.....	67

6.1 Primeiro experimento .....	67
6.2 Segundo experimento .....	83
7 CONCLUSÕES .....	101
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	102

## 1 INTRODUÇÃO

Os peixes são organismos versáteis, com grande capacidade de adaptação. Por sua própria natureza, são animais com habilidade diferenciada ao nado e têm desenvolvido, em graus diferenciados, diversos tipos de natação. Por conseguinte, apresentam uma série de respostas metabólicas para lidar com as diferentes necessidades impostas pela atividade física. É por isso que vários aspectos relacionados ao exercício em peixes merecem atenção. Se na natureza diversas espécies de peixes se exercitam, por que não ocorreria o mesmo em sistemas de cultivo?

Peixes que se exercitam em velocidade ideal, nem muito rápida nem lenta demais, apresentam uma série de respostas diferenciadas, tais como: melhor utilização de fontes energéticas não-protéicas, maior redirecionamento de proteínas para o crescimento, diminuição do comportamento agressivo, melhor orientação na corrente de água, melhora do convívio social e diminuição do estresse. Se a prática do exercício parece trazer tais respostas benéficas aos peixes, sua prática em sistemas de criação, ou até em laboratório, é justificável, pois o exercício regular aumenta as taxas de crescimento e o bem-estar.

Da mesma forma que o exercício, os cuidados com o arraçoamento são indispensáveis em face da necessidade de elaboração de dietas específicas para cada espécie e das condições a que ela é submetida. A nutrição em peixes no Brasil vem conquistando espaço a cada dia, ressaltando as diferenças existentes entre as espécies e explorando o potencial metabólico de cada uma delas em favor de maior sustentabilidade econômica e ambiental. Todavia, é provável que peixes em exercício apresentem demanda energética diferenciada de não-exercitados, afetando diretamente suas necessidades nutricionais. Levando-se em conta que tanto o exercício aeróbico como a nutrição adequada refletem em ganhos em crescimento e mudanças metabólicas, é possível que a associação destas duas variáveis proporcionem respostas mais pronunciáveis no crescimento, na qualidade de vida e nas adaptações metabólicas.

O metabolismo é o fulcro deste trabalho ao mostrar as diferentes possibilidades bioquímicas de utilização dos nutrientes e as interações entre os órgãos envolvidos nas respostas adaptativas ao exercício. Este estudo é inédito ao juntar duas frentes de avaliação, ambas possibilitando a introdução de melhorias em sistemas de criação, quer nas taxas de crescimento quer nos custos de produção. Através das respostas fisiológicas e metabólicas de pacu sob exercício, arraçoado com diferentes teores de lipídeos e carboidratos, poder-se-ia visualizar as adaptações fisiológicas de um peixe Neotropical sob exercício.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Exercício em peixes

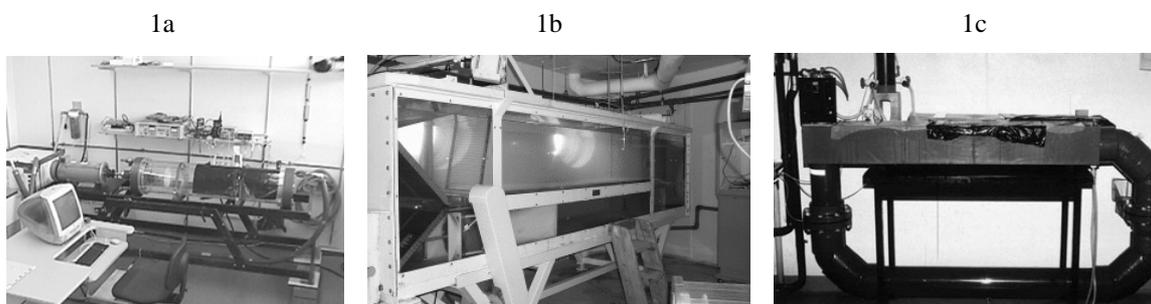
Em peixes, o ato de nadar compreende um sistema complexo de movimentos com os quais eles realizam numerosas atividades relacionadas à sua sobrevivência nos diversos habitats. A velocidade com que eles se exercitam determina sua duração (EVANS, 1993) e sua capacidade de natação é o determinante central de sua condição física e está envolvida diretamente com captura, fuga de predadores, migração e seleção de condições ambientais mais favoráveis. Por isso, a capacidade de natação do peixe tem papel decisivo sobre sua saúde (MARTÍNEZ et al., 2003). Apesar de serem, até certo ponto, similares aos animais terrestres em suas bases bioquímicas, os peixes apresentam algumas adaptações especiais que lhes permitem viver nos mais variados ecossistemas aquáticos. Entre estes processos adaptativos se encontram a ontogenia, os processos respiratórios, a osmorregulação, a excreção de subprodutos nitrogenados, a alimentação, a digestão (MORAES et al., 2009) e basicamente, a grande capacidade que a maioria apresenta de nadar por longos períodos. Por isso e por sua grande mobilidade em nadar contra corrente, eles se tornam sujeitos ideais tanto para o estudo de efeitos do exercício forçado como do treinamento aeróbico (DAVISON, 1997; SÄNGER & PÖTSCHER, 2000). Do ponto de vista prático sua realização melhora o desempenho e a qualidade da carne (GRÜNBAUM et al., 2008), e isto pode ter impacto direto na criação mais efetiva de peixes.

No que concerne à criação de peixes, sua habilidade natural de nado pode trazer vantagens no desempenho e na produtividade quando bem explorada nos sistemas de cultivo, pois traz reflexos no estado fisiológico e conseqüentemente nas condições de saúde dos animais. Vários fatores relacionados ao cultivo, como forma de criação, adensamento, manejo, arraçamento, composição das dietas, entre outros fatores de igual importância, podem reduzir ou melhorar o desempenho dos animais. Dentre eles, o exercício traz resultados de desempenho que podem e devem ser vistos em última análise como função de adaptações fisiológico-bioquímicas que, se bem exploradas, podem aumentar o rendimento na atividade produtora de criação (MORAES et al., 2009).

## 2.2 Exercício e respostas metabólicas

A classificação de natação em peixes indica o tempo, a intensidade do exercício, o dispêndio respiratório e o metabolismo empregado para atender a demanda energética imposta pela atividade. Sabe-se que existem basicamente três tipos de exercícios diferentes que os peixes podem realizar, a saber: aeróbico, de resistência e de explosão. Cada um deles produz uma série de respostas metabólicas diferenciadas que por sua vez, determinam suas condições fisiológicas durante e após o exercício (JOBBLING, 1994; DAVISON, 1997).

A velocidade crítica de natação ( $U_{crit}$ ) é o parâmetro ideal para se determinar a velocidade máxima em que um peixe pode se sustentar até a fadiga. Uma vez descoberto este valor podem-se categorizar os diferentes tipos de exercício praticados pelos peixes (BRETT, 1964 apud RICHARDS et al., 2002). O protocolo para determinação da  $U_{crit}$  consiste em colocar os animais em túneis de natação, que são tanques próprios para o teste, onde são submetidos à natação contracorrente (figuras 1a, 1b e 1c). A velocidade de nado é ajustada de 5-10 cm/seg., em intervalos de tempo pré-determinados 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 é definido como fadiga, e é o ponto onde ele atinge sua velocidade máxima (JOBBLING, 1994; RICHARDS et al., 2002). A velocidade é expressa em cm/seg., ou então, em CC/seg. (comprimento corporal/segundo), que leva em conta o tamanho do peixe. Por exemplo: um peixe que tem 23 cm de comprimento e que nada a 23 cm/seg., na verdade está nadando a 1CC/seg. (RICHARDS et al., 2002).

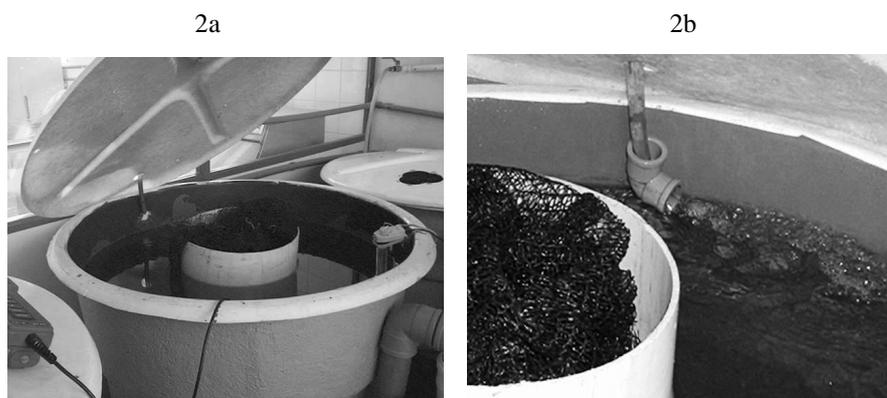


Figuras 1a, 1b e 1c: exemplo de túneis de natação.

- a) "Blatzka-Type Swim Tunnel" ([www.ucs.mun.ca/~kgamperl/pics/swim\\_tunnel\\_sm.gif](http://www.ucs.mun.ca/~kgamperl/pics/swim_tunnel_sm.gif))
- b) "Swim Flume" ([www.ucs.mun.ca/~kgamperl/pics/swim\\_tunnel\\_sm.gif](http://www.ucs.mun.ca/~kgamperl/pics/swim_tunnel_sm.gif)).
- c) "Swim tunnel" (<http://www.aquatic.uoguelph.ca/Human/Research/mno/milliganc.htm>).

Entretanto, nem sempre é possível realizar este protocolo de velocidade máxima. Nestes casos, expor o peixe a diferentes velocidades de exercício por um tempo prolongado e observar as respostas metabólicas e de crescimento pode ser uma alternativa confiável, já que estes parâmetros indicam as respostas decorrentes dos diferentes tipos de nado. No laboratório de Bioquímica Adaptativa de Peixes de Água Doce (DGE – UFSCar), por exemplo, os peixes expostos a protocolos de exercício são colocados em tanques circulares e submetidos a diferentes velocidades de natação, seguido então de avaliações bioquímicas para compreender os ajustes e adaptações metabólicas frente às diferentes situações de exercício (figuras 2a e 2b). Apesar das figuras não evidenciarem a entrada de água no tanque sem correnteza, cabe ressaltar aqui que há entrada constante de água em todos os tanques, diferenciada apenas pelo seu redirecionamento para gerar correnteza, o que mantém o nível adequado de oxigênio, pH e amônia em todos os tanques experimentais (tais valores se encontram no capítulo 4).

No *exercício aeróbico*, o peixe é mantido em atividade por no mínimo 200 minutos, a preferência metabólica é aeróbica e o peixe não entra em fadiga muscular ou apresenta acúmulo de lactato. Teoricamente, o animal poderia ser mantido indefinidamente nesta condição. Este tipo de atividade pode ser encontrado na natureza para diversas espécies, permitindo a elas atenderem suas demandas respiratórias e manterem sua flutuabilidade durante a alimentação a baixas velocidades ou durante a migração de longa distância (JOBILING, 1994; DAVISON, 1997; HOLK & LYKKEBOE, 1998; AZUMA et al., 2002; MARTÍNEZ et al., 2003).



Figuras 2a e 2b: tanques circulares utilizados no laboratório na situação sem exercício e em exercício.

O *exercício prolongado* tem duração que varia entre 20 seg. a 200 min. Resulta em fadiga no momento em que o peixe não é mais capaz de executar a atividade, ou seja, ele nada a velocidades relativamente altas, mas não sofre fadiga imediatamente. A demanda energética é atendida tanto pelo metabolismo aeróbico como anaeróbico e representa o limite máximo antes que ocorra a exaustão (JOBLING, 1994; HOLK & LYKKEBOE, 1998; MARTÍNEZ et al., 2003).

No *exercício explosivo*, o peixe é obrigado a nadar contra velocidades bastante altas, resultando rapidamente em fadiga (JOBLING, 1994; TAYLOR et al., 1995). Por conta disso, o exercício é mantido por um curto intervalo, não ultrapassando os 20 segundos. O metabolismo energético é suprido preferencialmente pelo metabolismo anaeróbico, o qual é menos eficiente que o aeróbico, e o oxigênio é rapidamente utilizado.

No início das atividades que envolvem grandes velocidades (exercícios de explosão e final do prolongado), ocorre grande recrutamento das fibras vermelhas (oxidativas), as quais são rapidamente substituídas pelas fibras brancas (glicolíticas), com queda na concentração 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). Além destas modificações, a atividade extenuante promove decréscimo do pH sanguíneo, profundos distúrbios hidroeletrólíticos (WOOD, 1991; POSTLETHWAITE & McDONALD, 1995; HOLK & LYKKEBOE, 1998) e uma série de alterações metabólicas que comprometem seu crescimento (DAVISON, 1997; MILLIGAN, 1996; YOGATA & OKU, 2000; KIEFFER et al., 2001; AZUMA et al., 2002; HERNÁNDEZ et al., 2002), já que o custo energético se torna muito alto, levando ao uso de oxidação de proteínas e aminoácidos para suprir sua demanda energética (YOUNG & CECH Jr., 1994; MOYES & WEST, 1995; FORSTER & OGATA, 1996; WEBER & HAMAN, 1996; DAVISON, 1997; OGATA & OKU, 2000; RICHARDS et al., 2002; WOOD, 2001). Por outro lado, quando o peixe realiza atividade aeróbica que envolve exercícios até 80% da  $U_{crit}$ , dependendo da espécie, pode haver aumento a tolerância ao exercício, permitindo que o peixe atinja velocidades maiores em testes subsequentes (DAVISON, 1997; HOLK & LYKKEBOE, 1998; RICHARDS et al., 2002).

Além desta aclimação, existem duas conseqüências metabólicas essenciais à 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; MORAES et al., 2009). A adaptação ao exercício aeróbico traz também outros benefícios, como: maior crescimento,

taxas mais eficientes de conversão alimentar e diminuição do comportamento agressivo (TAYLOR et al., 1995; DAVISON, 1997; HOLK & LYKKEBOE, 1998; AZUMA et al., 2002; BUGEON et al., 2003; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007). Mas para que estes benefícios sejam atingidos, o peixe deve nadar dentro da faixa de velocidade ideal para a espécie (YOUNG & CECH Jr., 1994; JOBLING, 1994; FORSTER & OGATA, 1996; AZUMA et al., 2002; OGATA & OKU, 2000; BUGEON et al., 2003; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007). Exemplares de “striped bass” (*Morone saxatilis*), quando exercitados a 1,5 – 2,4 CC/seg., apresentam taxas de crescimento superiores a exemplares não-exercitados (YOUNG & CECH Jr., 1994). O mesmo observado para o “Japanese flounder” (*Paralichthys olivaceus*) ao nadar a 0,9CC/seg. (OGATA & OKU, 2000). A maioria das espécies estudadas apresenta uma velocidade ideal dentro da faixa de 1 à 2CC/seg. (DAVISON, 1997; AZUMA et al., 2002; RICHARDS et al., 2002). Matrinxã (*Brycon amazonicus*), espécie reofílica Neotropical de água doce, apresenta valor de natação ideal entre 1,0 e 1,5CC/seg. (ARBELÁEZ-ROJAS, 2007). Matrinxã exercitados nesta faixa de velocidade atingem taxas de crescimento, após 60 dias de exercício a 1CC/seg., maiores que exemplares não-exercitados (HACKBARTH & MORAES, 2006). Segundo Arbeláez-Rojas (2007), matrinxã exercitado dentro da sua faixa de velocidade ideal é capaz de sintetizar mais proteínas, refletindo-se em maiores taxas de crescimento.

Dentre as várias respostas fisiológicas e metabólicas encontradas durante a prática de exercício, uma delas é a diferenciação na utilização dos substratos energéticos (carboidratos, proteínas e lipídeos). Parece que durante o exercício de longa duração, a contribuição energética de lipídeos e carboidratos torna-se maior (YOUNG & CECH Jr., 1994; MOYES & WEST, 1995; FORSTER & OGATA, 1996; WEBER & HAMAN, 1996; DAVISON, 1997; OGATA & OKU, 2000; RICHARDS et al., 2002; WOOD, 2001) e as proteínas podem ser direcionadas para o crescimento e, isto é o que favorece taxas de crescimento maiores (DAVISON, 1997; WOOD, 2001). Quando realizada sem interrupções, a atividade reorganiza o metabolismo poupando gastos extras provenientes do exercício, o que possibilita, ao mesmo tempo, maior síntese protéica e maior utilização das vias oxidativas (DAVISON, 1997; MOYES & WEST, 1995; WOOD, 2001; RICHARDS et al., 2002; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007). Matrinxã exercitado a 1CC/seg. apresenta maior capacidade em oxidar lipídeos e carboidratos, mostrando preferência por lipólise seguida por glicólise (HACKBARTH & MORAES, 2006). A mesma espécie, quando exercitada a 1 e 1,5CC/seg. também mostra aumento de 30 % de síntese de proteína muscular (ARBELÁEZ-ROJAS, 2007). Acima destas velocidades, há maior

mobilização de aminoácidos como fonte de combustível para atender as demandas energéticas, sugerindo que velocidades de natação muito altas provocam efeitos danosos ao metabolismo e conseqüentemente sobre o crescimento (ARBELÁEZ-ROJAS, 2007).

A oxidação dos lipídeos contribui para o metabolismo energético de muitos tecidos, inclusive para os músculos; entretanto, algumas espécies podem mobilizá-los mais que outras (van den THILLART & van RAAJI, 1995; WEBER & HAMAN, 1996; FORSTER & OGATA, 1996; BERNARD et al., 1999; YOGATA & OKU, 2000; OGATA & OKU, 2000). Algumas espécies, ao realizar exercício aeróbico, utilizam os lipídeos de forma continuada, o que favorece o anabolismo protéico (DAVISON, 1997; YOGATA & OKU, 2000). Por exemplo, matrinxãs exercitadas a 1CC/seg. apresentam mobilização de lipídeos totais, TG e AGL no músculo branco (HACKBARTH & MORAES, 2006). “Red sea bream” (*Pagrus major*) e “japanese flounder” ao se exercitarem a 80% da  $U_{crit}$ , também diminuem seus estoques lipídicos (FORSTER & OGATA, 1996; OGATA & OKU, 2000). Todavia, truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) exercitada a 1CC/seg. não mobiliza TG e AGL além dos valores de repouso (BERNARD et al, 1999) e “striped bass” apresenta aumento dos estoques lipídicos após exercício a 1,5 – 2,4CC/seg. e 2,4 – 3,6CC/seg. (YOUNG & CECH Jr., 1994). Por outro lado, Magnoni et al. (2006) afirmam que durante o exercício de longa duração (aeróbico), lipídeos, carboidratos e proteínas são combustíveis energéticos importantes, sendo o músculo vermelho o maior consumidor de fontes lipídicas, visto sua importância em manter as atividades aeróbica e de resistência. Em peixes exercitados, os lipídeos que estão estocados em sua maioria como TG em vísceras e fígado são liberados como ácidos graxos livres para o sangue, e assim, atendem à demanda energética (van den THILLART & Van RAAJI, 1995; BERNARD et al., 1999). Durante a migração, parece que o exercício também estimula a oxidação lipídica (FORSTER & OGATA, 1996; OGATA & OKU, 2000; MAGNONI et al., 2006), sendo eles os maiores contribuintes energéticos (MAGNONI et al., 2006). Em truta arco-íris exercitada até a exaustão, o aumento na oxidação de TG muscular e AGL no plasma poderiam indicar maior papel dos lipídeos também durante a recuperação (RICHARDS et al., 2001).

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

MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007; DAVISON, 1997; KIEFFER et al., 1998; MOYES & WEST, 1995; RICHARDS et al., 2002). O papel do lactato também não parece ser grande durante exercícios aeróbicos, sendo mais evidente em exercícios submáximos e explosivos e, durante a transição do repouso para o exercício (WEBER & HAMAN, 1996). Matrinxã exercitado a 1CC/seg. também apresenta diminuição de lactato no MB, sugerindo menor participação das vias oxidativas (HACKBARTH & MORAES, 2006). No entanto, parece que com a prática de exercício há maior eficiência na utilização dos diferentes extratos energéticos, e não simplesmente preferência aumentada por um ou por outro (MOON & FOSTER, 1995).

Peixes treinados aumentam o nível das enzimas associadas ao metabolismo aeróbico, bem como da capacidade aeróbica (KIEFFER, 2000; DAVISON, 1997). Truta arco-íris e *Channa punctata* exercitadas apresentam aumento nos níveis de enzimas associadas ao metabolismo aeróbico no músculo vermelho, branco e cardíaco, tais como:  $\beta$ -hidroxiacil CoA desidrogenase e succinato desidrogenase (DAVISON, 1997). Em contraste, “danube bleak” (*Alburnus chalcoides*) e “nase” (*Chondrostoma nasus*), apresentam apenas discreto aumento das enzimas glicolíticas no músculo branco. Durante a migração “lacustrine masou” (*O. masou*) e “sockeye salmon” (*O. nerka*) apresentam diminuição da atividade de piruvato quinase, lactato desidrogenase e malato desidrogenase de músculo branco, provavelmente devido ao consumo de alimento e a migração em si. Todavia, enzimas como  $\beta$ -hidroxil CoA desidrogenase, fosfofrutoquinase e aspartato aminotransferase não apresentam diminuição da atividade, provavelmente por serem responsáveis pela manutenção energética durante o exercício decorrente da migração (LEONARD et al., 2002). Durante o exercício, “cod” (*Gadus morhua*) também apresenta aumento da atividade enzimática glicolítica e lipolítica (MARTÍNEZ et al., 2003).

O metabolismo aeróbico e anaeróbico também pode ser evidenciado por outras enzimas, como a malato desidrogenase (MDH) e a lactato desidrogenase (LDH). Quando os tecidos animais não podem ser supridos com oxigênio suficiente para suportar a oxidação aeróbica do piruvato e, do NADH produzidos na glicólise, o  $\text{NAD}^+$  é regenerado a partir do NADH pela redução do piruvato a lactato, através da ação da LDH. O lactato formado por músculos de vertebrados em atividade também pode ser reciclado; processo em que ele é transportado pelo sangue até o fígado onde é convertido em glicose. A associação da concentração do lactato e a atividade da LDH nos diferentes tecidos pode, por tanto, prever o caminho metabólico empregado pelo peixe em decorrência da atividade que ele realiza. A MDH, por sua vez, é uma enzima encontrada na última reação do ciclo do ácido cítrico e

catalisa a oxidação de malato em oxaloacetato, estando envolvida diretamente com o processo oxidativo de obtenção de energia. Esta enzima também participa da gliconeogênese, ao reduzir o oxaloacetato a malato dentro da mitocôndria e formar NADH necessário para que a sequência de eventos possa continuar. Ambas as enzimas são ferramentas úteis ao predizer se o exercício aplicado foi um evento anaeróbico ou aeróbico e, se foi exaustivo ou não para o peixe. Além disso, a MDH serve de ferramenta indicativa de possível gliconeogênese. LDH, PK (piruvato quinase) e GDH (glutamato desidrogenase) foram avaliadas em um trabalho prévio com matrinxã exercitado, e as diferenças de atividade encontradas reforçam a hipótese que o exercício aeróbico diminui a oxidação protéica e aumenta a utilização de outras fontes energéticas como mantenedoras da atividade (HACKBARTH & MORAES, 2006).

Dado que uma espécie possui habilidade para utilizar carboidratos e lipídeos como substrato energético, as proteínas podem ser direcionadas para o crescimento e, isto é o que favorece taxas de crescimento maiores (DAVISON, 1997; WOOD, 2001; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007; MORAES et al., 2009). Diferentemente, durante o exercício submáximo as proteínas podem corresponder a cerca de 90% do total de substratos utilizados (JÜRS & BASTROP, 1995; WEBER & HAMAN, 1996), o que pode inclusive prejudicar seu crescimento e comprometer suas condições fisiológicas (KIEFFER et al., 2001; HERNÁNDEZ et al., 2001). Truta arco-íris exercitada aerobicamente também apresenta maior consumo de carboidratos e lipídeos, diminuindo o uso de proteínas (KIEFFER et al., 1998; ALSOP & WOOD, 1997). Richards et al. (2002) demonstram que esta espécie, ao nadar entre 55-85% da  $U_{crit}$ , oxida preferencialmente lipídeos, seguidos por carboidratos e só então proteínas. Em peixes exercitados a velocidades moderadas, a contribuição energética da oxidação protéica permanece a mesma, ou em alguns casos pode até diminuir (WOOD 2001), e não seria lógico utilizar a própria maquinaria metabólica para suprir a demanda energética.

O exercício por si só é um estimulador da oxidação lipídica, sendo os músculos locomotores os principais consumidores desta fonte (MAGNONI et al., 2006). O aumento do catabolismo lipídico em peixes exercitados vem se tornando um fato concreto, independente do habitat ou do hábito alimentar, visto os resultados mostrados por diversos autores (van den THILLART & Van RAAJI, 1995; BERNARD et al., 1999; FORSTER & OGATA, 1996; OGATA & OKU, 2000; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007). Por exemplo, quando truta arco-íris é submetida ao exercício aeróbico, carboidratos e lipídeos suportam o dispêndio energético; mas quando não é submetida à atividade, são os carboidratos que contribuem primariamente como combustível oxidativo (RICHARDS et al., 2002). “Cod”

sob exercício aeróbico também aumenta a oxidação de carboidratos e lipídeos (MARTÍNEZ et al., 2003). Davison (1997) afirma que o exercício estimula o metabolismo aeróbico, particularmente o que está envolvido com a oxidação de lipídeos. Matrinxãs submetidos à velocidade moderada também demonstram maior capacidade metabolizar lipídeos seguidos de carboidratos (HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007).

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

Para que se possa compreender melhor o metabolismo protéico, é importante a análise de outras ferramentas metabólicas, como a atividade enzimática do metabolismo protéico. As enzimas glutamato desidrogenase (GDH), alanina aminotransferase (ALAT) e aspartato aminotransferase (ASAT) estão envolvidas diretamente com a transdesaminação e maior ou menor catabolismo protéico. De forma resumida, compreende-se que as enzimas ALAT e ASAT são consideradas aminotransferases, pois são responsáveis por transferir o grupo  $\alpha$ -amino para o átomo de carbono  $\alpha$  do  $\alpha$ -cetogluturato. Desta forma, é possível coletar os grupos amino de muitos aminoácidos diferentes na forma de apenas um, o glutamato. Nestas reações não ocorre desaminação efetivamente, pois o  $\alpha$ -cetogluturato se torna aminado à medida que o  $\alpha$ -aminoácido é desaminado. É o glutamato formado pela ação das aminotransferases que sofre desaminação oxidativa, passo catalisado pela GDH. Esta enzima está presente apenas na matriz mitocondrial, e sua ação combinada com a das aminotransferases é referida como transdesaminação. O processo pode se dar também ao inverso, onde há formação de grupos amino durante a biossíntese.

Alguns trabalhos afirmam que as proteínas e os lipídeos parecem ser os combustíveis preferidos para suprir a demanda energética durante os exercícios mais intensos,

e estima-se que as proteínas sejam responsáveis por 80% de todo substrato energético utilizado durante o repouso e 90% durante o exercício (JÜRS & BASTROP, 1995; van den THILLART & van RAAJI, 1995). Tal fato, no entanto, não parece ser observado em matrinxãs exercitadas, pois os mesmos não utilizam as proteínas como substrato energético de forma tão relevante em comparação a peixes que não realizam exercício, sendo sua síntese maior que o seu catabolismo (HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007). Neste caso, os lipídeos assumem papel principal na manutenção energética, tanto para atender a demanda aumentada de energia dos músculos quanto para manter sua posição na correnteza da água (MORAES et al., 2009). Entretanto, se o peixe é exposto a velocidades de natação maiores do que aquela considerada ideal para sua espécie, há maior redirecionamento de aminoácidos para os processos catabólicos. Sabe-se que para juvenis de matrinxã a velocidade sustentável recomendada para seu ótimo crescimento situa-se entre 1 a 1,5 CC/seg. Acima destas velocidades ocorre mobilização de aminoácidos para atender as demandas energéticas. Isto indica que velocidades de natação muito altas provocam efeitos danosos no metabolismo e conseqüentemente afetam o crescimento de matrinxã (MORAES et al., 2009).

### **2.3 Exercício, crescimento e comportamento**

O crescimento também pode ser modificado em vista da prática de exercício. De maneira geral, o crescimento pode ser definido como o aumento de tamanho (largura, altura e comprimento), considerando-se a massa estrutural, os órgãos e a mudança de forma ou de composição das partes do indivíduo (BUREAU et al., 2000). Todavia, o crescimento dos peixes depende do potencial genético da espécie, mas também de melhorias nas condições de criação, quer sejam, densidade de estocagem adequada, alimentação de qualidade e quantidade correta, temperatura e qualidade adequada da água, sistema de prevenção de doenças e manejo em geral (CECARELLI et al., 2000).

Dentre estas condições, o exercício moderado de longa duração é um procedimento que pode contribuir significativamente para a criação mais eficiente de peixes. Esta prática melhora o crescimento, as taxas de conversão alimentar, adapta as respostas fisiológicas e bioquímicas em favor do crescimento, aumenta as taxas de sobrevivência e diminui o comportamento agressivo de diversas espécies (DAVISON, 1997; SHANGAVI & WEBER, 1999; YOGATA & OKU, 2000; AZUMA et al., 2002; HACKBARTH & MORAES, 2006). Estas diferenças no crescimento, entretanto, dependem da espécie e do tipo

de treinamento realizado e, mesmo peixes considerados sedentários, com pouca habilidade natatória, podem ser beneficiados pelo exercício (OGATA & OKU, 2000).

Diversas espécies são beneficiadas em termos de maior de crescimento quando nadam a velocidades moderadas por períodos prolongados. Entre elas pode-se citar: salmonídeos, “catfish” (*Ictalurus punctatus*); “striped bass”, “whiting” (*Merlangius merlagus*), trutas (*Salmo truta*, *Oncorhynchus mykiss*), “striped bass”, “red sea bream”, “yellowtail” (*Seriola quinqueradiata*) e matrinxã (HOULIHAN & LAURENT, 1987; DAVISON, 1997; CHRISTIANSEN & JOBLING, 1990; JOBLING, 1993; YOUNG & CECH Jr., 1993; YOUNG & CECH Jr., 1994a; JARBOE & GRANT, 1996; HAMMER & SCHWARZ, 1996; DAVISON, 1997; YOGATA & OKU, 2000; AZUMA et al., 2002; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007).

Concomitante ao aumento em peso é observada melhoria na eficiência da conversão alimentar (ganho em peso por unidade de peso de alimento consumido) quando comparados a peixes não-exercitados (DAVISON, 1997; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS & MORAES, 2009). Acredita-se que 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. Além disto, a ração também é melhor distribuída e os peixes crescem mais uniformemente (JOBLING, 1994; WOOD, 2001; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007; BRÄNNÄS, 2009). A reorganização do metabolismo poupa gastos extras provenientes do exercício, permitindo maior síntese protéica e aumentando o catabolismo lipídico e glicídico, o que também favorece o crescimento (DAVISON, 1997; MOYES & WEST, 1995; WOOD, 2001; RICHARDS et al., 2002; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007). Por exemplo, matrinxã exercitado por 72 dias, a velocidade de 1 CC/seg., apresenta melhores taxas de conversão alimentar e de crescimento, com ganho em peso superior a 38 % comparado ao peixe não-exercitado (HACKBARTH & MORAES, 2006). Outro dado importante é que juvenis de matrinxã sob regime de natação constante e estocados em densidade média (176 peixes/m<sup>3</sup>), apresentam taxas de crescimento superiores aos peixes estocados em mesma densidade ou até em densidade mais baixa, sem realização de exercício (ARBELÁEZ-ROJAS, 2007). Estes resultados sugerem que o exercício potencializa o crescimento e a homogeneidade dos peixes, mesmo quando se aumenta a densidade de estocagem (MORAES et al., 2009).

O aumento na taxa de crescimento e a melhoria na eficiência da conversão do alimento têm implicações fisiológicas que refletem a mudança metabólica causada pelo exercício de longa duração. Além de mudanças na atuação e fisiologia dos tecidos musculares, as mobilizações de açúcares e lipídeos vêm sendo discutidas como um dos grandes benefícios desta prática para diversas espécies de peixes, pois é possível que durante o exercício de longa duração a contribuição destes metabólitos se torne maior (YOUNG & CECH Jr., 1994; MOYES & WEST, 1995; FORSTER & OGATA, 1996; WEBER & HAMAN, 1996; DAVISON, 1997; OGATA & OKU, 2000; WOOD, 2001; RICHARDS et al., 2002; HACKBARTH & MORAES, 2006, ARBELÁEZ-ROJAS, 2007). Estas adaptações metabólicas permitem que o peixe metabolize melhor o alimento ofertado, o que poderia contribuir para diminuir um dos problemas enfrentado no cultivo de peixes: os gastos com alimentos. Estes representam de 50 a 70 % dos custos de produção, e a redução nesta porcentagem pode ser alcançada através da utilização de ingredientes de alta qualidade, do uso de técnicas eficazes de processamento das rações e da aplicação de estratégias na alimentação e na criação (KUBITZA, 1998). O exercício aeróbico poderia auxiliar no aproveitamento da dieta proporcionando maior crescimento em menor tempo, pois, é provável que sua realização possibilite maior utilização de fontes não-protéicas como combustíveis energéticos e redirecionamento das proteínas para o crescimento.

Além do crescimento, o comportamento é afetado diretamente pela prática do exercício, fato este que, por sua vez, interfere no crescimento. Diversos autores apontam melhores taxas de sobrevivência e mudança do comportamento agressivo de peixes que são submetidos ao exercício aeróbico (TOTLAND et al., 1987; JOBLING, 1994; DAVISON, 1997, CHRISTIANSEN & JOBLING, 1990). Em ambientes sem correnteza, algumas espécies de peixes tendem a se tornar socialmente dominantes, impondo domínio hierárquico sobre os menores (BALDISSEROTTO, 2002; KUBITZA, 2006). Este comportamento agressivo faz com que a mortalidade seja alta e também que alguns peixes se alimentem mais que outros e, portanto, cresçam mais (JOBILING & WANDSVIK, 1983; JOBLING, 1994; DAVISON, 1997). Entretanto, quando o peixe é submetido à natação sustentada, ficam evidentes o efeito cardume e a diminuição da agressividade (CHRISTIANSEN & JOBLING, 1990). Quando o exercício é realizado de forma moderada o peixe apresenta uma série de comportamentos diferentes: melhora da orientação na corrente e do convívio social, diminuição do nível de dominância, da frequência dos ataques, e muito provavelmente do nível de estresse (TOTLAND et al., 1987; JOBLING, 1994; DAVISON, 1997). Juvenis de matrinxã exercitados por 60 dias e submetidos ao estresse de transporte apresentam

concentrações plasmáticas de cortisol menores do que nos peixes sedentários. Conseqüentemente, a concentração de glicose encontrada nos peixes sedentários é maior e demora duas vezes mais para retornar aos valores basais (MORAES et al., 2009). Ou seja, o exercício aeróbico traz tanto conseqüências diretas como indiretas, pois ao mesmo tempo em que diminui o comportamento agressivo, melhora as taxas de sobrevivência e o aproveitamento dos nutrientes, também desempenha papel atenuador das respostas secundárias ao estresse, ao permitir o retorno mais rápido aos valores basais da maioria dos metabólitos relacionados ao estresse após evento estressor.

Estudos de comportamento e exercício em arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) mostram relação entre a realização da atividade e a diminuição na frequência de ataques agressivos (DAVISON, 1997). Brännäs (2009), afirma que o exercício diminui a agressão em “arctic charr” principalmente durante os períodos de alimentação, talvez porque a ração seja distribuída uniformemente pelo tanque, enquanto que em água parada a ração vai para qualquer direção, forçando o peixe ir ao encontro dele, sem saber direito para onde se locomover. Salmonídeos submetidos a velocidades moderadas demonstram mudanças comportamentais e modificações no modo de natação em respostas às condições do ambiente de criação. Estes peixes geralmente orientam-se e começam a nadar contra a correnteza, formando cardumes (BLAKE, 2004). GRÜMBAUM et al. (2008) perceberam que “arctic charr”, ao se exercitar em velocidade moderada também exibe efeito cardume, o que diminui a frequência de ataques e a agressividade. A mesma mudança de comportamento foi relatada em matrinxã (HACKBARTH & MORAES, 2006) ao se exercitar a 1CC/seg., com diminuição dos ataques agressivos e, por sua vez do estresse dentro das caixas, o que permitiu crescimento mais homogêneo.

Além disso, a modificação do comportamento traz outros benefícios: diminui o custo energético e reduz a incidência de nadadeiras com feridas ocasionadas por mordeduras. Conseqüentemente, melhora-se a aparência geral dos peixes e também se reduz o risco de infecções ocasionadas por bactérias ou fungos (CHRISTIANSEN et al., 1991; JORGENSEN & JOBLING, 1993). Observações subjetivas sugerem que o comportamento antagonístico, em termos de mordidas e perseguições, reduz-se em juvenis de “arctic charr” (*Salvelinus alpinus* L.) criado em altas velocidades. Aproximadamente 80% dos controles (sedentários) mostram evidências de marcas de mordidas, e a proporção se reduz em 14% para peixes exercitados até 2 CC/seg. (CHRISTIANSEN & JOBLING, 1990). Brännäs (2009) também afirma que esta mesma espécie melhora o comportamento em situações de exercício. Além disso, a natação sustentada pode trazer efeitos benéficos no consumo

alimentar e conseqüentemente no crescimento devido às alterações do comportamento. Matrinxãs, trutas e salmonídeos também exibem mudanças de comportamento ao se exercitar a velocidade considerada ideal para a espécie (HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS & MORAES, 2009; DAVISON, 1997), e uma menor interação agressiva diminui os custos energéticos, permitindo maior crescimento (CHRISTIANSEN & JOBLING, 1990; HALLER, 1991a; JORGENSEN & JOBLING, 1993; GRÜMBAUM et al., 2008; BRÄNNÄS, 2009).

#### **2.4 Exercício *versus* parâmetros hematológicos e iônicos**

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

Os índices hematológicos da série vermelha – eritrócitos, hemoglobina, quantidade de células vermelhas – são considerados primários e indicam a capacidade de transporte de oxigênio através do sangue e da utilização do mesmo pelo organismo. Os eritrócitos, também conhecidos como hemácias, são as células mais numerosas no sangue e são repletas de hemoglobina que, por sua vez, fazem o transporte de oxigênio e de dióxido de carbono. O volume de eritrócitos se determina através do hematócrito, o qual indica a porcentagem das células vermelhas presentes no sangue em relação ao seu volume total. A hemoglobina é uma proteína presente nos eritrócitos e além de transportar os gases respiratórios também atua como excelente tampão ácido-básico, de modo que os eritrócitos são responsáveis pela maior parte da capacidade de tamponamento ácido-básico do sangue (GUYTON & HALL, 2002). O número de células vermelhas (CE = contagem de eritrócitos) é usualmente calculado por  $\text{mm}^3$  de sangue. A quantidade de células é regulada dentro de limites estreitos, de modo que uma quantidade de eritrócitos sempre esteja disponível para efetuar o transporte de oxigênio suficiente sem impedir o fluxo sanguíneo (GUYTON & HALL, 2002). Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM) e Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM), indicam respectivamente, o estado osmorregulatório (que está diretamente envolvido com a dinâmica cardíaca e com o fluxo sanguíneo), a função respiratória e, o conteúdo de hemoglobina por 100mL de eritrócitos (HOUSTON, 1990).

Através dos parâmetros hematológicos pode-se inferir 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, SÄNGER & PÖTSCHER, 2000). O exercício aeróbico aumenta a capilarização do tecido muscular e isto traz conseqüências diretas ao organismo, aumentando a capacidade de transporte de oxigênio, lipídeos e açúcares, bem como promovendo remoção mais rápida de resíduos metabólicos (SÄNGER & PÖTSCHER, 2000).

Além de mostrarem o estado fisiológico dos peixes, os índices hematológicos são utilizados nos estudos de controle de patologias e de estresse de qualquer natureza (MARTINEZ et al., 1994). No caso de realização de exercícios extenuantes há grande demanda de oxigênio para os tecidos, e o sistema circulatório precisa atender estas necessidades extras elevando a concentração de 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 maior concentração de hemoglobina, a maior recrutamento dos eritrócitos estocados no baço e liberados por contração esplênica, a entumescimento dos eritrócitos, ou ainda, à volemia resultando em hemoconcentração ou hemodiluição (FRANKLIN et al., 1993). Os ajustes necessários à maximização do fluxo de oxigênio para os tecidos incluem o aumento da ventilação, da frequência cardíaca e da diferença no conteúdo arteriovenoso. Por outro lado, o exercício aeróbico promove maior equilíbrio entre o suprimento e a demanda de oxigênio despendido pelo organismo durante a atividade, aumentando a transferência gasosa do peixe e a capacidade de difusão e extração de oxigênio dos tecidos, sem necessariamente promover alterações nos parâmetros hematológicos (RANDAL, 1982; JENSEN et al., 1983). Matrinxã exercitado a 1CC/seg. por 72 dias apresenta alterações hematológicas sugestivas de *a*) facilitação e/ou melhora no transporte de oxigênio através do sangue, *b*) melhor captação de oxigênio, *c*) ou talvez manutenção da osmorregulação (HACKBARTH & MORAES, 2006). Estes mesmo autores acreditam que provavelmente um peixe exercitado aerobicamente apresente melhor transporte de nutrientes, facilitando seu crescimento.

Os distúrbios hidroeletrólíticos decorrentes do exercício também estão correlacionados com a sua intensidade. A atividade extenuante leva a um decréscimo do pH sanguíneo devido à acidose tanto metabólica quanto respiratória (WOOD, 1991). A acidose extracelular causada pela produção de prótons decorrente da glicólise anaeróbica é típica em salmonídeos expostos ao exercício exaustivo (CECH Jr. et al., 2004). As grandes perdas

plasmáticas de sódio, cloreto e potássio ocorrem junto à hemoconcentração, visto que altas concentrações de lactato intracelular favorecem a entrada de íons e água para dentro das células (WOOD, 1991). Além destes fatores, a maior demanda de oxigênio aumenta a superfície das brânquias permitindo maior saída dos íons (WOOD, 1991; POSTLETHWAITE & McDONALD, 1995; HOLK & LYKKEBOE, 1998; KNUDSEN & JENSEN, 1998). Tais alterações iônicas promovem 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). Além do mais, parece que o exercício moderado além de não aumentar os níveis circulantes de hormônios relacionados ao estresse, reduz seus valores atenuando as alterações hidroeletrólíticas (WOOD, 1991; RISTORI & LAURENT, 1985; DAVISON, 1997). Experimentos anteriores com matrinxãs submetidos ao exercício mostram que a atividade aeróbica não causa mudanças iônicas significativas que causem prejuízos homeostáticos (HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007).

## **2.5 Exercício e atividade muscular**

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 são conhecidas (WEBER, 1991; YOUNG & CECH Jr., 1994; WEBER & HAMAN, 1996; DAVISON, 1997; SHANGAVI & WEBER, 1999; OGATA & OKU, 2000). Entretanto, existem grandes variações na capacidade de nadar dos teleósteos, tanto por variações morfológicas e fisiológicas, como pela dependência do tipo de alimentação e habitat (REIDY et al., 2000).

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 histológica e histoquimicamente diferentes (MOYES & WEST, 1995), e com distintas estratégias metabólicas para atender à demanda energética imposta pelo exercício. Para cada tipo de exercício, há recrutamento de fibras musculares específicas, que podem atuar em conjunto ou não, dependendo da velocidade de natação. A figura 3 ilustra as divisões estruturais dos diferentes tipos de fibras para diferentes espécies.

O músculo vermelho, sendo mais oxidativo que o branco, é mais dependente da oxidação de aminoácidos e grande consumidor de lipídeos (MILLIGAN & GIRARD, 1993; JÜRS & BASTROP, 1995; MOYES & WEST, 1995; RICHARDS et al, 2002). Entretanto, o músculo branco é o tecido dominante e constitui 60% do peso vivo do peixe

(KIESSLING et al., 2005), sendo ele o maior consumidor de energia. Qualquer mudança neste tecido influenciará as respostas metabólicas e o crescimento do organismo em geral (JOBLING, 1994; JÜRS & BASTROP, 1995; MOYES & WEST, 1995).

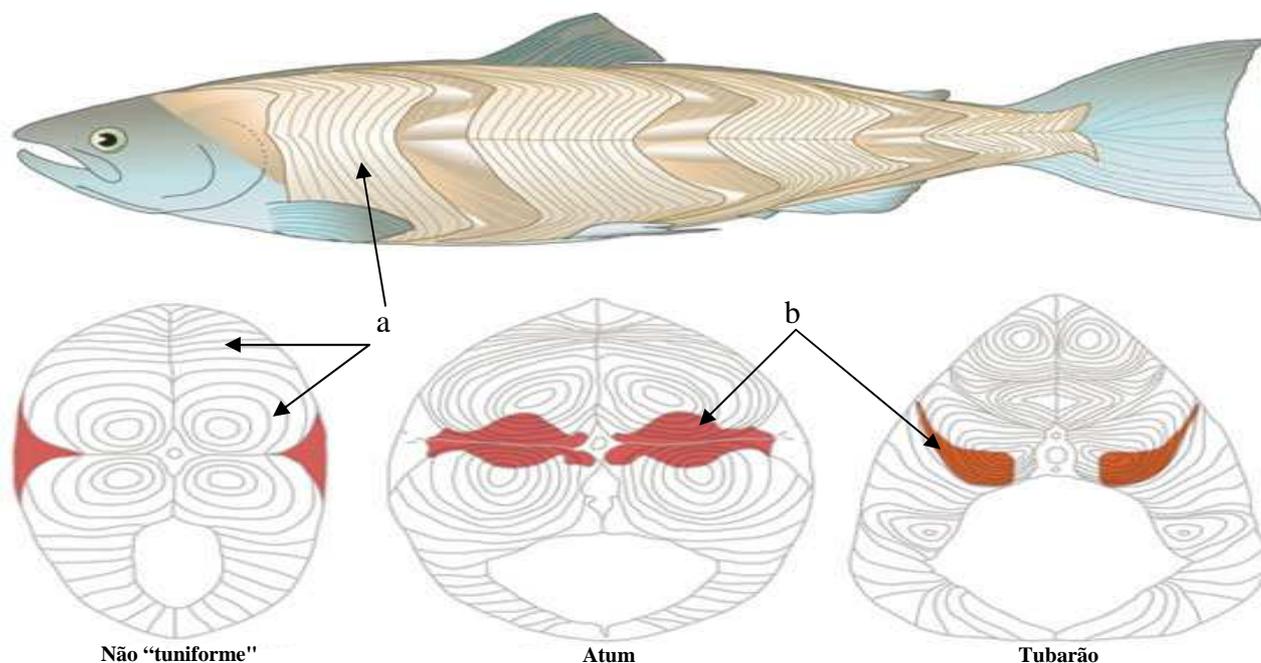


Figura 3. Esquema morfológico do tecido muscular vermelho e branco de diferentes espécies de peixes. Adaptado de: [http://www.americanscientist.org:80/include/popup\\_fullImage.aspx?key=NCWz2dMqY1OIm9utC45yy+Om8IOPKgCE](http://www.americanscientist.org:80/include/popup_fullImage.aspx?key=NCWz2dMqY1OIm9utC45yy+Om8IOPKgCE).

As fibras vermelhas são assim classificadas devido à alta concentração de mioglobina e maior densidade de vascularização. Este tecido necessita de grande demanda de oxigênio devido à realização de movimentos constantes em condições aeróbicas (MOYES & WEST, 1995). Estas fibras musculares realizam um tipo de contração que as tornam lentas, mas resistem a tempos prolongados de exercício, ou seja, sua ativação ocorre nos exercícios prolongados e aeróbicos. O músculo vermelho consegue gerar energia via cadeia fosforilativa, pois o oxigênio está presente neste tecido e é carregado via mioglobina, que é o que dá a cor vermelha característica do músculo oxidativo (LUTHER et al., 1995). Estas fibras musculares possuem muitas mitocôndrias, poucos grânulos de glicogênio e são chamadas de fibras do Tipo I. Durante o exercício aeróbico as fibras oxidativas do músculo vermelho são mais atuantes (KIEFFER, 2000), sendo ele o principal consumidor de fontes não-protéicas (DAVISON, 1997).

Em contraste, as fibras brancas são utilizadas para realização de atividades explosivas, que resultam em movimento repentino, forte e de curta duração, demandam bastante energia e necessitam quase que inteiramente do metabolismo anaeróbico (DRIEDZIC & HOCHACHKA, 1978). O músculo branco utiliza o glicogênio primariamente, gerando ATP e ácido láctico, na ausência de oxigênio; neste caso são chamadas de fibras Tipo IIB, já que não geram energia via metabolismo aeróbico. Diferentemente, existem algumas porções das fibras musculares que possuem mitocôndrias e são chamadas fibras Tipo IIA, pois são fibras de contração rápida, mas com capacidade oxidativa (LUTHER et al., 1995). Por exemplo, “cod” (*Gadus morhua*) aumenta a capacidade oxidativa do MB durante a realização de exercícios aeróbicos, pois o peixe recruta mais fibras musculares do que se estivesse em condição de não-exercício (MARTÍNEZ et al., 2003).

O crescimento muscular em peixes envolve tanto a combinação da utilização das fibras musculares já existentes (hipertrofia) como do recrutamento de novas fibras (hiperplasia). Apesar de ser o balanço entre estes dois mecanismos que determina a taxa de crescimento e o tamanho de cada peixe, existem fatores internos e externos que interferem com estes processos (STOIBER et al., 2002). O MV é mais aeróbico que o MB (MOYES & WEST, 1995), e geralmente o treinamento com velocidade sustentável aumenta proporcionalmente o número de células e o diâmetro, sua capacidade aeróbica, bem como reduz os 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). Entretanto, quando o peixe é exposto a velocidades altas (exercícios de explosão e final do prolongado) a fadiga aparece rapidamente, levando à mudanças metabólicas que podem comprometer seu crescimento. Neste caso, as fibras musculares recrutadas são inicialmente as vermelhas, sendo substituídas logo em seguida pelas fibras brancas (LACKNER et al., 1988; MOYES & WEST, 1995; TAYLOR et al., 1995; MILLIGAN, 1996; RICHARDS et al., 2002). Durante atividades extenuantes ocorre diminuição do pH sanguíneo, elevação do lactato intracelular e diminuição dos estoques de fosfocreatina, o que mostra a utilização do metabolismo anaeróbico para atender a demanda energética durante a execução de exercícios máximos (BURGETZ et al., 1998).

Além do que já foi mencionado, existem adaptações metabólicas musculares decorrentes da prática aeróbica. Parece que o exercício aeróbico aumenta o fluxo sanguíneo do MV, o que aumenta sua capacidade aeróbica (MOON & FOSTER, 1995) e, por

consequente, diminui sua dependência da fermentação láctica. A utilização dos carboidratos via oxidação aeróbica e não por fermentação láctica, também é observada em matrinxã exercitado a ICC/seg., no qual há diminuição na concentração de lactato e da atividade da LDH no MB (HACKBARTH & MORAES, 2006). O papel do lactato é mais evidente em exercícios submáximos e explosivos e, durante a transição do repouso para o exercício como descrito anteriormente (WEBER & HAMAN, 1996; BURGETZ et al., 1998).

## 2.6 Nutrição e respostas metabólicas

Os peixes obtêm energia através do metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas. Todavia, acredita-se que apresentem preferência pelas proteínas, e a quantidade de aminoácidos requerida está relacionada diretamente ao seu estado nutricional, variando de acordo com a espécie (MOYES & WEST, 1995). Um dos objetivos dos estudos em nutrição é a busca pelo menor valor de proteína necessária, pois seu excesso na dieta diminui o desempenho, aumenta o custo de produção e deteriora a qualidade da água (KIM & LEE, 2005). Quando o peixe é alimentado com quantidades elevadas de proteína, o excedente é utilizado tanto para crescimento como para a gliconeogênese, como é o caso do jundiá (*Rhamdia quelen*) (MELO et al., 2006), entretanto, a conversão de glicose via compostos nitrogenados pode ser diminuída, pois poderia ser mantida por carboidratos e lipídeos. Sendo assim, torna-se necessário determinar a concentração de proteínas adequada para cada espécie, já que pouca proteína poderia causar prejuízos metabólicos e de crescimento, e seu excesso poderia levar a excreção desnecessária de compostos nitrogenados. Diversos peixes têm o valor dietético de proteína já estabelecido. “Yellow catfish” (*Pseudobagrus fulvidraco*) exige 42 % de proteína bruta (KIM & LEE, 2005); matrinxã em torno de 28 % (IZIEL et al., 2004); jundiá e tilápia (*Oreochromis niloticus*) necessitam de 37% de proteína na composição da dieta (SALHI et al., 2004; ALI et al., 2008). Para o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) os melhores resultados de desempenho foram encontrados utilizando-se 22 % de proteína bruta (PB) para juvenis (FERNANDES et al., 2001) e, 26 % para alevinos (FERNANDES et al., 2000), sendo que para os alevinos a proporção entre os nutrientes considerada ideal seria em torno de 46% de carboidratos e 4% de lipídeos (ABIMORAD et al., 2007).

Apesar dos valores protéicos apontados acima serem considerados ideais para aquelas espécies, é provável que a prática de exercício modifique as necessidades e a utilização dos diferentes componentes energéticos. A atividade aeróbica tem se mostrado coadjuvante na incorporação de proteínas em favor do crescimento ao diminuir a utilização de

fontes nitrogenadas como energia. Neste caso, carboidratos e lipídeos assumiriam em partes, o papel energético das proteínas (YOUNG & CECH Jr., 1994; MOYES & WEST, 1995; FORSTER & OGATA, 1996; WEBER & HAMAN, 1996; DAVISON, 1997; OGATA & OKU, 2000; RICHARDS et al., 2002; WOOD, 2001; HACKBARTH & MORAES, 2006, ARBELÁEZ-ROJAS, 2007; MORAES et al., 2009).

Os carboidratos representam o grupo de nutrientes mais controversos na alimentação de peixes, pois, além de serem a fonte de energia de mais baixo custo na ração, os peixes não expressam deficiências e sintomas de carência evidente quando submetidos a dietas isentas deste nutriente (SILVEIRA et al., 2009). Salmão e truta, por exemplo, que são peixes carnívoros, não digerem eficientemente as fontes de carboidratos e toleram melhor as fontes de lipídeos mais altas, pois possuem baixa atividade enzimática para digerir carboidratos (HEMRE et al., 2002; SILVEIRA et al., 2009). Bagre e tilápia, por outro lado, são peixes onívoros e toleram fontes mais altas de carboidratos na ração, usando-os de maneira mais efetiva que espécies carnívoras. Os níveis de carboidratos que podem ser utilizados variam de 7 a 40%, dependendo principalmente do hábito alimentar da espécie (SILVEIRA et al., 2009), sendo que os peixes de águas neotropicais e de hábito onívoro ou herbívoro toleram níveis mais altos de carboidratos (HEMRE et al., 2002).

O efeito poupador de proteína por carboidrato pode estar relacionado com a preferência oxidativa por açúcares de alguns tecidos, como o nervoso e células sanguíneas. Isto levaria a menor neoglicogênese, pois redirecionaria os aminoácidos dos caminhos oxidativos. Além destes tecidos, brânquias, coração, músculo vermelho, fígado e músculo branco também utilizam a energia oriunda da oxidação glicolítica. O efeito poupador de proteína pelo uso de carboidratos também varia dentro de uma mesma espécie, variabilidade esta que pode ser causada pelo estresse ao que o peixe é exposto, tanto por fatores ambientais (temperatura, regime de fotoperíodo e estação do ano) como pela quantidade de açúcar ofertado na dieta (HEMRE et al., 2002). Considerando o fato de que dentre os fatores ambientais o exercício pode ser considerado um deles, é provável que a prática ou não da atividade aeróbica pode estar relacionada diretamente com seu aproveitamento.

Estudos sobre nutrição e manejo de pacus têm sido abordados com relativa frequência (MUÑOZ-RAMIREZ & CARNEIRO, 2002; SOUZA et al., 2002; DIAS-KOBERSTEIN et al., 2004; VIEGAS et al., 2008), entretanto, as bases da prática de exercício aeróbico e sua associação a dietas, é novidade para a espécie. Quando o pacu é alimentado com dietas equilibradas, utilizando-se inclusive o mínimo de proteínas possível (ABIMORAD et al., 2007) a utilização de carboidratos é alta, cerca de 46%, o que mostra a tolerância da

espécie em utilizar este metabólito como provedor de energia. Entretanto, quando um peixe recebe dieta com elevada concentração de carboidrato, ele pode aumentar sua deposição de gorduras, tanto por aumento do shunt das pentoses (o que gera mais NADPH, essencial na lipogênese) como pela síntese *de novo* de lipídeos a partir de açúcares, apesar de este caminho metabólico ser limitado em peixes (HEMRE et al., 2002). O papel dos carboidratos como estimulador da síntese de lipídeos se deve ao fornecimento de esqueletos de carbono como via de disponibilização de equivalentes redutores citosólicos, mais do que na síntese *de novo* propriamente dita (HEMRE et al., 2002). Por outro lado, é provável que quando o peixe recebe pouco carboidrato na dieta ele os conserva para o melhor uso, como manter a glicemia e atender as exigências de alguns tecidos primordialmente. Por isso, sua inclusão na dieta é essencial, pois também evita a degradação protéica para sintetizar carboidratos e/ou gerar energia, invés de maior crescimento (PERAGÓN et al., 1999; HU et al., 2007).

Os peixes migratórios possuem grande capacidade em oxidar lipídeos, muito mais que carboidratos (MAGNONI et al., 2006; SILVEIRA et al., 2009); entretanto, o mecanismo pelo qual o fazem parece ser diferente dos mamíferos. Nestes, os AG não esterificados são responsáveis por transportar energia dos estoques adiposos para os músculos. Mas em peixe, os AG não esterificados representam pequena porcentagem como transportador de energia no plasma e, o exercício não tem efeito de turnover sobre eles ou sobre sua concentração. Parece que as lipoproteínas estão mais envolvidas na liberação de energia durante o exercício do que os ácidos graxos (não esterificados), com atividade da lipoproteína lipase – que controla a mobilização das lipoproteínas – maior no músculo vermelho, que é o tecido mais requisitado durante o exercício de longa duração (MAGNONI & WEBER, 2007). Em “sockeye salmon” (*Oncorhynchus nerka*) as lipoproteínas são usadas como importante combustível energético e perfazem 93% do total de lipídeos plasmáticos (MAGNONI et al., 2006). Truta arco-íris tem atividade da lipoproteína lipase aumentada no músculo vermelho devido a atividade e mostra grande capacidade de hidrolisar as lipoproteínas circulantes (MAGNONI & WEBER, 2007).

Em outras palavras, o efeito poupador por lipídeos também pode ser observado em diversas espécies. A inclusão de altos teores de lipídeos na dieta tem se tornado uma tendência, pois parece que, assim como os carboidratos, ele aumenta a conversão alimentar e o efeito poupador de proteínas (VERGARA et al., 1999). O aumento da energia digestível através da suplementação com lipídeos, tem mostrado efeito poupador de proteína, além de reduzir as perdas de nitrogênio para o ambiente (PERES & OLIVA-TELES, 1999). Entretanto, o aumento de lipídeos deve ser avaliado cuidadosamente, pois altas concentrações

podem afetar a composição corporal, principalmente devido a maior deposição de lipídeos na carcaça. Juvenil de “sea bass” europeu (*Dicentrarchus labrax*) apresenta boas respostas de crescimento e de efeito poupador de proteína quando alimentado com até 12% de lipídeos (PERES & OLIVA-TELES, 1999). “Gilthead seabream” (*Spaurus aurata*), alimentado com 22% de lipídeos e com boa fonte protéica, apresenta efeito poupador de proteínas, apesar dos resultados deletérios ocasionados pela alta ingestão lipídica, como anormalidade de células hepáticas e crescimento maior devido apenas ao acúmulo de gordura na carcaça (VERGARA et al., 1999). “Dentex fingerlings” (*Dentex dentex*) quando alimentado com 12 a 17% de lipídeo bruto e 50% de proteína bruta apresenta boa taxa de crescimento e de utilização dos nutrientes (ESPINÓS et al., 2003).

Apesar de algumas espécies tolerarem bem fontes de carboidratos e lipídeos, como é o caso do pacu (ABIMORAD et al., 2007), é necessário que haja um balanço entre os nutrientes da dieta. “Grouper” (*Epinephelus malabaricus*) e “silver barb” (*Puntius gonionotus*) obtêm efeito poupador de proteína quando alimentados com dietas contendo valores mais baixos de proteínas e mais altos de carboidratos (SHIAU & LIN, 2001; MOHANTA et al., 2007). Em contrapartida, juvenis de “rockfish” (*Sebastes schlegeli*) e de “yellowfin seabream” (*Spaurus latus*) parecem utilizar melhor os lipídeos advindos da dieta (LEE et al., 2002; HU et al., 2007), obtendo efeito poupador de proteínas pelos lipídeos. Hu et al. (2007) acreditam que ou os peixes são mais capazes em oxidar lipídeos ou são menos tolerantes a altos níveis de carboidratos, o que justificaria as melhores respostas obtidas em dietas com altos teores de lipídeos. Todavia, dietas com grandes quantidades de gordura geram depósitos de gordura visceral e muscular, por isso seus valores devem ser devidamente balanceados (VERGARA et al., 1999; SALHI et al., 2004; HU et al., 2007). Tucunaré (*Cichla sp.*), uma espécie carnívora, apresenta redução nos parâmetros de crescimento em dietas com nível elevado de carboidrato (SAMPAIO et al., 2000); a piracanjuba (*Brycon orbignianus*), que é uma espécie onívora, se beneficia em termos de crescimento quando alimentado com dietas contendo maiores teores de lipídeos do que carboidratos (BORBA et al., 2006).

Sabe-se que durante o exercício de longa duração, inclusive migração, os lipídeos são oxidados preferencialmente (FORSTER & OGATA, 1996; OGATA & OKU, 2000; HACKBARTH & MORAES, 2006; MAGNONI et al., 2006; MAGNONI & WEBER, 2007), mas em situações de confinamento, associado à prática de exercício e a alimentação artificial, as respostas são pouco conhecidas. “Sockeye salmon” apresenta diminuição de TG após migração, sendo que 94% são oxidados para locomoção (MAGNONI et al., 2006). De maneira geral, parece que peixe submetido ao exercício aeróbico, oxida preferencialmente os

lipídeos (DAVISON, 1997; YOGATA & OKU, 2000; HACKBARTH & MORAES, 2006; FORSTER & OGATA, 1996; OGATA & OKU, 2000; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007; MORAES et al., 2009). Além disso, truta arco-íris alimentada com lipídeos  $\omega$ -3 por três meses, mas não exercitada, apresenta aumento da contratilidade musculatura cardíaca ao prolongar a disponibilidade de cálcio intracelular e permitir maior mobilização de cálcio do retículo sarcoplasmático (PAIGE et al., 1996). Se tanto o exercício pode ser responsável por grandes ganhos em termos de crescimento (YOUNG & CECH Jr., 1994; MOYES & WEST, 1995; FORSTER & OGATA, 1996; WEBER & HAMAN, 1996; DAVISON, 1997; OGATA & OKU, 2000; RICHARDS et al., 2002; WOOD, 2001; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007), como a utilização de dietas equilibradas (ABIMORAD et al., 2007; SAMPAIO et al., 2000; BORBA et al., 2006; HU et al., 2007; PERES & OLIVATELES, 1999), é possível que a associação destas duas práticas traga outras respostas de adaptação bioquímica e fisiológica que levam ao maior crescimento.

Entre os poucos trabalhos que relacionam exercício e dieta, o salmão do atlântico (*salmo salar*) suplementado com 25% de lipídeos, apresenta respostas de performance superior, atingindo velocidade máxima maior do que no grupo não-suplementado com lipídeos (McKENZIE et al., 1998). Truta arco-íris aumenta a oxidação de lipídeos após o exercício, na tentativa de recuperar os estoques de ATP, o que justificaria a maior mobilização desta fonte (RICHARDS et al., 2001). Tilápia do Nilo (*Oreochromis nilotica*), aclimatada em três temperaturas diferentes e alimentadas com dieta enriquecida com gordura polinsaturada  $\omega$ -3, apresenta menor excreção de amônia após exercício exaustivo do que tilápia alimentada com ácidos graxos saturados (McKENZIE et al., 1996).

Todavia, o exercício não é benéfico apenas para peixes. Várias pesquisas vêm sendo conduzidas ao longo das últimas décadas que mostram que a associação entre nutrição e exercício pode ser benéfica a diversas espécies. Sabe-se, por exemplo, que mamíferos que realizam atividade física regular associada à dieta apresentam melhoras no desempenho, além de benefícios à saúde (VUORI, 2001; FERREIRA Filho et al., 2007; KIRSHBAUM, 2007). Neste caso, a maioria dos efeitos é previsível, dose-dependente e generalizável para grande parte da população. Sabe-se também que a atividade moderada reduz o risco de doenças coronarianas e cerebrovasculares, hipertensão, aparecimento de diabetes insulino-dependente, excesso de peso e osteoporose, além de numerosos efeitos para pacientes durante tratamento de câncer (VUORI, 2001; FERREIRA Filho et al., 2007; KIRSHBAUM, 2007).

Por outro lado, nos últimos anos, têm se estudado largamente os efeitos da longa migração em aves, e como as diferentes espécies fazem amplo uso de lipídeos como

mantenedores dos níveis energéticos. Neste caso, as grandes distâncias de migração conferem às aves adaptações específicas que as tornam verdadeiras atletas, como: alta eficiência de contração muscular, formação em “V” do bando durante as viagens, atrofia de órgãos não-essenciais, acúmulo de lipídeos de baixa densidade que são rapidamente mobilizados, transportados e utilizados (WEBER, 2009). A capacidade que as aves têm em converter energia metabólica em energia mecânica enquanto voam, é que permite que muitas delas realizem migrações de longa distância, inclusive vôos superiores a 4.000km sem paradas (KVIST et al., 2001).

Partindo do pressuposto que tanto o exercício como a utilização de dietas balanceadas para peixes diminui os níveis de estresse, melhora o comportamento e o convívio, diminui a mortalidade e promove melhores respostas de crescimento, é imprescindível que estudos que correlacionem estas variáveis sejam conduzidos. Desta forma, seria possível estabelecer as bases bioquímicas e fisiológicas decorrentes desta associação, proporcionar melhor qualidade de vida aos peixes e maior rentabilidade na produção.

## 2.7 A espécie

O pacu, gênero *Piaractus* e espécie *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887), é representante da superordem Ostariophysi, sendo um dos peixes de maior valor comercial na pesca e na piscicultura brasileiras (URBINATI & GONÇALVES, 2005; SHIBATT & DIAS, 2006). Pertence a ordem Characiforme, que é um grupo dominante entre os peixes de água doce da América do Sul e compreende formas herbívoras, onívoras, iliófagas e carnívoras. A família Characidae apresenta o maior número de espécies descritas dentro da ordem, com grande número de sub-famílias. Entre elas a Serrasalminae, a qual inclui o pacu (URBINATI & GONÇALVES, 2005). É um peixe de grande porte, de 50 a 100cm de comprimento padrão e, até 20kg de peso.

Possui corpo alto, discoidal, lateralmente comprimido, com escamas ventrais em forma de quilha serrilhada, formada por espinhos (SHIBATT & DIAS, 2006). Sua coloração é castanha escura, com ventre amarelo-dourado. Os jovens são prateados, com máculas escuras no flanco. As nadadeiras são escuras, a boca é terminal, com seis a oito dentes molariformes (SHIBATT & DIAS, 2006). Popularmente, é conhecido como *porco d'água*, já que se alimenta de uma série de itens animais e vegetais (DOMINGUES, 2009). Seu nome popular, de origem indígena, significa “peixe que come rápido” (SHIBATT & DIAS, 2006). Segundo Graça & Pavanelli (2007), o pacu habita rios e lagoas, alimentado-se

de vegetais e insetos e, SHIBATT & DIAS (2006) complementam afirmando que a espécie alimenta-se preferencialmente durante o dia, buscando frutos que caem da vegetação ciliar, restos de vegetais, crustáceos e insetos, sendo considerado onívoro (URBINATI & GONÇALVES, 2005).

É encontrado nas bacias dos rios Paraná, Paraguai e Uruguai e seu ciclo de vida está relacionado a períodos de alta ingestão de carboidratos (URBINATI & GONÇALVES, 2005). É uma espécie migratória, com período reprodutivo entre outubro e janeiro e desova total (SHIBATT & DIAS, 2006), e não apresenta cuidado parental (GRAÇA & PAVANELLI, 2007). De acordo com estes últimos autores, esta espécie era identificada anteriormente no alto rio Paraná como *Colossoma mitrei* (Berg, 1895).



Figura 4: exemplar de *P. mesopotamicus*.

### 3 JUSTIFICATIVA

De acordo com o que foi levantado até o momento, percebe-se que as diferentes formas de exercício com potencial de aplicação na criação de peixes promovem uma variedade de respostas fisiológicas, metabólicas, de crescimento e de comportamento. Estas respostas podem ser medidas através de parâmetros de comportamento, de desempenho e de respostas metabólicas, pois cada uma delas causa mudanças fisiológicas distintas e uso diferenciado dos diferentes substratos energéticos (MORAES et al., 2009). Estas adaptações metabólicas decorrentes da atividade trazem, portanto, alguns questionamentos: *a)* quais seriam os efeitos das diferentes velocidades de nado sobre o pacu? *b)* Quais os efeitos da exposição ao exercício por longos períodos? *c)* Como o exercício altera seu crescimento, metabolismo, comportamento e sobrevivência? *d)* Como se dá a interação entre alimentação e exercício? Para tanto, torna-se imprescindível conhecer as respostas bioquímico-fisiológicas do pacu frente ao exercício, para melhor compreensão dos processos que governam seu crescimento, e a aplicabilidade de exercício nos diferentes sistemas de criação, permitindo assim melhorar as práticas de manejo e bem-estar dos animais.

A razão deste trabalho embasa-se em possível estímulo causado pelo exercício aeróbico sobre o catabolismo de carboidratos e lipídeos de peixes, de forma a poupar proteínas para o crescimento. Entretanto, para que isto ocorra é necessário delimitar a velocidade ideal de nado para a espécie, pois velocidades acima da capacidade aeróbica podem comprometer a integridade fisiológica do animal e, as abaixo podem não modificar as respostas metabólicas e de crescimento. Contudo, o exercício não é a única forma de melhorar a performance de peixes: dietas bem balanceadas também permitem maior efeito poupador de proteína, e conseqüentemente, maior crescimento.

#### 3.1 Hipóteses

Em vista do que foi levantado acima, as hipóteses desta pesquisa foram:

1) A prática do exercício aeróbico na velocidade ideal para o pacu otimiza a utilização de fontes não-protéicas como substratos energéticos.

2) A utilização de dietas com maiores teores de lipídeos ou carboidratos, associada à natação na velocidade ideal, aumenta oxidação dos metabólitos não-nitrogenados em pacu, redirecionando as proteínas em favor do crescimento.

Para testar as hipóteses levantadas, foram inicialmente avaliadas as respostas metabólicas e de crescimento em pacus submetidos a diferentes velocidades de nado, para determinação da velocidade ideal para a espécie, nas condições ensaiadas. Em uma segunda etapa, foram observadas as respostas metabólicas e de crescimento de pacu exercitado na velocidade ideal, em associação à alimentação com dietas contendo altos níveis de lipídeos ou de carboidratos, já que o metabolismo destas fontes parece ser altamente estimulado durante o exercício aeróbico.

### **3.2 Objetivos**

- 1) Avaliar as respostas metabólicas de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) submetido a diferentes velocidades de natação aeróbica;
- 2) Avaliar o crescimento de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) submetido a diferentes velocidades de natação aeróbica;
- 3) Avaliar, a partir da velocidade ideal de nado, as respostas metabólicas e de crescimento de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) submetido a regimes de alimentação com três níveis de carboidrato e lipídeo.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

Esse estudo foi conduzido no Laboratório de Bioquímica Adaptativa de Peixes de Água Doce do Departamento de Genética e Evolução da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos (SP).

### 4.1 Determinação da velocidade ideal de natação aeróbica

120 juvenis de pacu foram obtidos no Centro de Aqüicultura da UNESP – CAUNESP em fevereiro de 2006, os quais foram aclimatados por um mês em tanques de 2000L, com temperatura controlada e aeração constante. O desenho experimental ocorreu no período de abril a julho de 2006, quando 80 alevinos foram aleatoriamente submetidos à biometria ( $23,6 \pm 6,4g$  e  $11 \pm 0,9cm$ ) após anestesia com eugenol (Inoue et al., 2003), marcados com “transponders” de identificação (Animal TAG) e, igualmente distribuídos em quatro tanques circulares de 200L, todos dotados de abastecimento contínuo e aeração constante. Os “transponders” foram implantados na cavidade abdominal de forma padronizada, sendo que cada peixe recebeu um número específico, identificável através de um leitor de “chip”. Desta forma, cada peixe foi acompanhado do início ao fim do experimento e, então, considerado como uma unidade experimental. Após estas intervenções, os peixes passaram por um período de recuperação de uma semana.

#### *Desenho experimental*

Os tanques de natação foram devidamente adaptados para a realização deste protocolo. Cada tanque circular de 200L estava interligado ao biofiltro (através de um cano), pelo qual passava toda a água do sistema. Após filtragem, a água era devolvida aos tanques por meio de torneira exclusiva para cada tanque. A caixa em que os peixes não realizavam exercício (caixa controle) recebia entrada de água continuamente, de modo a manter a sua qualidade e não alterar as condições ambientais dos peixes que não se exercitavam. A diferença entre as caixas era que nas de exercício foram introduzidos dois canos com vários furos (um na posição horizontal e outro na vertical), os quais promoviam a distribuição da água em forma de corrente. O fluxo de entrada da água era regulado pela maior ou menor abertura da torneira, permitindo que a velocidade de entrada, e conseqüentemente da correnteza, fosse controlada. A figura 5 apresenta um esquema dos tanques de natação.

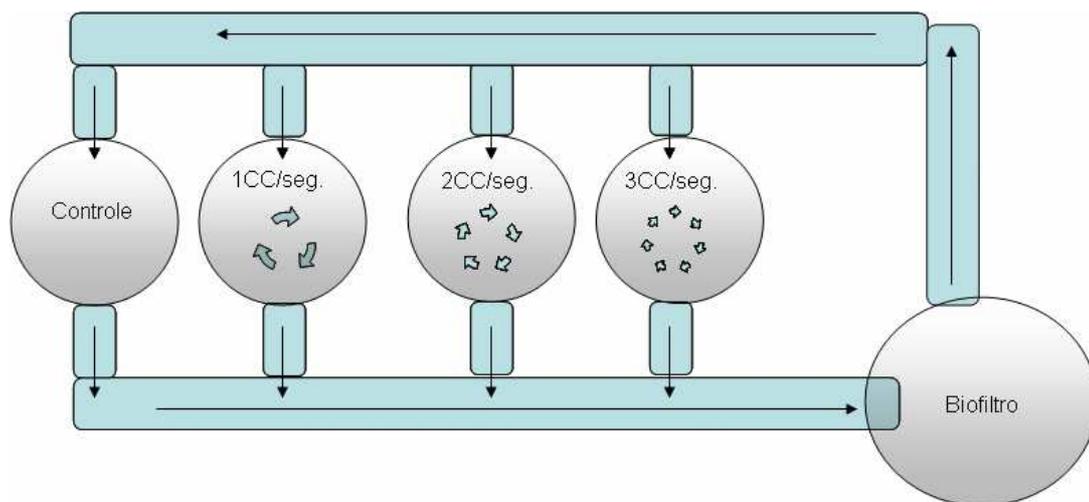


Fig. 5. Esquema demonstrativo dos tanques do primeiro desenho experimental. Cada caixa corresponde a um dos tratamentos descritos acima, além do biofiltro. CC/seg. = comprimento corporal por segundo.

A velocidade de correnteza da água era determinada por fluxômetro mecânico (General Oceanics Inc.) e controlada em cada tanque. A unidade de medida está expressa em comprimentos corporais/segundo (CC/seg.), a qual indica a velocidade em que o peixe se exercitou de acordo com seu tamanho corporal. Os parâmetros de água foram monitorados em todas as caixas, bem como no biofiltro, e observou-se que a temperatura ( $27 \pm 1,6^{\circ}\text{C}$ ), oxigênio dissolvido ( $7,6 \pm 0,4\text{mg/L}$ ), pH ( $7,2 \pm 0,3$ ) e amônia ( $0,5 \pm 0,24\text{mg/L}$ ) apresentavam-se dentro de valores normais, e eram os mesmos, independente da caixa analisada.

Os 80 alevinos, igualmente distribuídos nos quatro tanques circulares, foram submetidos ao exercício por 50 dias obedecendo ao seguinte protocolo: grupo controle (sem exercício, mas os peixes nadavam livremente pelo tanque), grupos 1CC, 2CC e 3CC, exercitados ininterruptamente à velocidade de 1CC/seg., 2CC/seg. e 3CC/seg., respectivamente. Apesar de o exercício ter sido imposto sem interrupção, os peixes não se submeteram ao nado contínuo visto que, esporadicamente ou durante a alimentação, deixavam-se repousar nadando a favor da corrente ou sendo levados pela mesma. Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia até a saciedade, com dieta comercial extrusada, contendo 40% de proteína bruta e 4080 kcal/kg.

A velocidade de nado foi reajustada no momento da segunda biometria, 25 dias após o início do experimento. Os parâmetros da água foram determinados em dias intercalados e apresentavam os valores citados acima. Após o período experimental, seis peixes de cada tanque foram coletados e anestesiados. Após a biometria, procedeu-se à coleta de sangue para obtenção de plasma, e excisão de amostras de fígado, músculo branco (MB) e músculo vermelho (MV) para posteriores análises.

## 4.2 Avaliação das respostas fisiológico-bioquímicas e de crescimento à velocidade ideal

120 juvenis de pacus foram obtidos da Piscicultura São Geraldo, Sertãozinho (SP). Os peixes foram aclimatados por um mês em tanques de 2000L, com temperatura controlada e aeração constante. O desenho experimental ocorreu no período de setembro a outubro de 2008, quando 84 alevinos foram aleatoriamente submetidos à biometria ( $28,4 \pm 2g$  e  $12,2 \pm 0,3cm$ ) após anestesia com eugenol (Inoue et al., 2003), marcados com “transponders” de identificação (Animal TAG) e, igualmente distribuídos em seis tanques circulares de 200L, todos dotados de abastecimento contínuo e aeração constante. Os “transponders” foram implantados conforme descrito no item 4.1 e os peixes passaram por um período de recuperação de uma semana.

### *Desenho experimental*

Após o período de recuperação, foi imposto o exercício à velocidade de natação encontrada no primeiro experimento e aceita como ideal para pacu ( $2 \pm 0,2CC/seg.$ ) por um período de 50 dias. A velocidade de nado em cada aquário foi determinada como descrito em 3.1 e reajustada no momento da segunda biometria (25 dias após o início do experimento). Além do exercício, os peixes foram alimentados com dietas confeccionadas especificamente para este experimento, as quais continham diferentes teores de carboidratos e lipídeos. Foram formuladas três dietas práticas isoprotéicas (28% de proteína bruta), com  $4.200 \pm 100kcal/kg$ , contendo três níveis de carboidratos e três de lipídeos: 1) 27% ENN<sup>1</sup> e 15% EE<sup>2</sup> (27/15), 2) 36%ENN e 10%EE (36/10), e 3) 45% ENN e 5% EE (45/5). Os ingredientes foram misturados e peletizados, e o arraçoamento ocorria três vezes ao dia até a saciedade. A formulação das dietas encontra-se na tabela 1.

Em três tanques o exercício não foi imposto e os peixes foram alimentados com uma das três rações. Estes grupos foram caracterizados como C27/15, C36/10 e C45/5. Nos demais tanques, os peixes foram submetidos ao exercício e alimentados com as diferentes rações. Tais grupos foram chamados de E27/15, E36/10 e E45/5. O desenho esquemático deste experimento é elucidado na Figura 6. Como no primeiro experimento, os peixes não eram forçados a nadar continuamente contra a corrente, pois esporadicamente ou durante a alimentação eles repousavam nadando a favor da corrente ou eram levados pela mesma.

---

<sup>1</sup> ENN = Extrato não nitrogenado.

<sup>2</sup> EE = Extrato etéreo.

Tabela 1. Formulação e composição das dietas experimentais.

Ingrediente	*Níveis de carboidrato e lipídeo		
	27/15	36/10	45/5
Milho <sup>B</sup>	25	39	53
Quirera de arroz	5	5	5
Farelo de soja <sup>2</sup>	11	8	4
Farinha de peixe <sup>A</sup>	35	35	35
Óleo de soja <sup>C</sup>	12	6	1
Rovimix <sup>1</sup>	2	2	2
CMC <sup>3</sup>	10	5	0
Composição			
Proteína bruta (PB) <sup>4</sup>	28.9	28.6	27.9
Energia bruta (EB) <sup>D</sup>	4324.6	4183.8	4096.5
Fibra <sup>4</sup>	11.1	6.4	1.7
Extrato etéreo (EE) <sup>4</sup>	15.6	10.1	5.5
Matéria mineral	8.7	8.7	8.7
Cálcio	2.2	2.2	2.2
Fósforo	1.4	1.4	1.4
ENN <sup>4E</sup>	27.3	36.5	45.4
Matéria seca <sup>4</sup>	91.6	90.3	89.2
Proteína digestível (PD)	24.4	24.4	24.0
Energia digestível (ED)	3406.8	3303.5	3258.0
Amido	20.3	28.3	36.2
Relação ED:PD <sup>6</sup>	14.0	13.6	13.6
Relação EB:PB <sup>5</sup>	15.0	14.6	14.7

Composição aproximada baseada na matéria natural. <sup>1</sup> - Pré-mistura vitamínica e mineral/kg de ração: vitaminas A 20000UI, D3 6250UI, E 3750UI, K3 25mg, B1 50mg, B2 50mg, B6 37,5mg, B12 0,075mg, C 625mg, niacina 250mg, ácido pantotênico 125mg, biotina 2,5mg, ácido fólico 15mg, colina 1000mg, inositol 250mg, ferro 125mg, cobre 12,5mg, zinco 125mg, manganês 37,5mg, selênio 0,25mg, iodo 1,25mg, cobalto 0,25mg, dióxido de silício 200mg. <sup>2</sup> - Composição em %: 89,36 matéria seca, 5,17 cinzas, 0,89 lipídeos, 4,59 proteína bruta e 18,40 MJ energia bruta. <sup>3</sup> - Carboximetilcelulose USP, Labsynth®Products, Laboratory Ltda (Diadema-SP-Brazil). <sup>4</sup> - Expresso em %. <sup>5</sup> - Relação energia bruta/proteína bruta. <sup>6</sup> - Relação energia digestível/proteína digestível e digestibilidade dos ingredientes para pacu, de acordo com Abimorad & Carneiro, 2004. <sup>A</sup> - Composição em %: 93,08 matéria seca, 28,38 cinzas, 5,87 lipídeo, 1,53 fibra, 53,72 proteína bruta, 8,94 Ca<sup>2+</sup>, 5,46 fósforo e 3.795 cal/g energia bruta. <sup>B</sup> - O milho não foi pré-cozido. Composição em %: 88,45 matéria seca, 1,31 cinzas, 3,81 lipídeos, 2,29 fibra bruta, 7,30 proteína bruta, 0,06 cálcio, 0,24 fósforo e 4,226 cal/g energia bruta. <sup>C</sup> - Composição: 9.811 cal/g energia bruta. <sup>D</sup> - Expresso em kcal/kg e calculado descontando a energia oriunda da celulose. <sup>E</sup> Extrato não-nitrogenado (carboidrato): ENN = matéria seca – (proteína bruta + lipídeos + cinzas + fibra bruta).

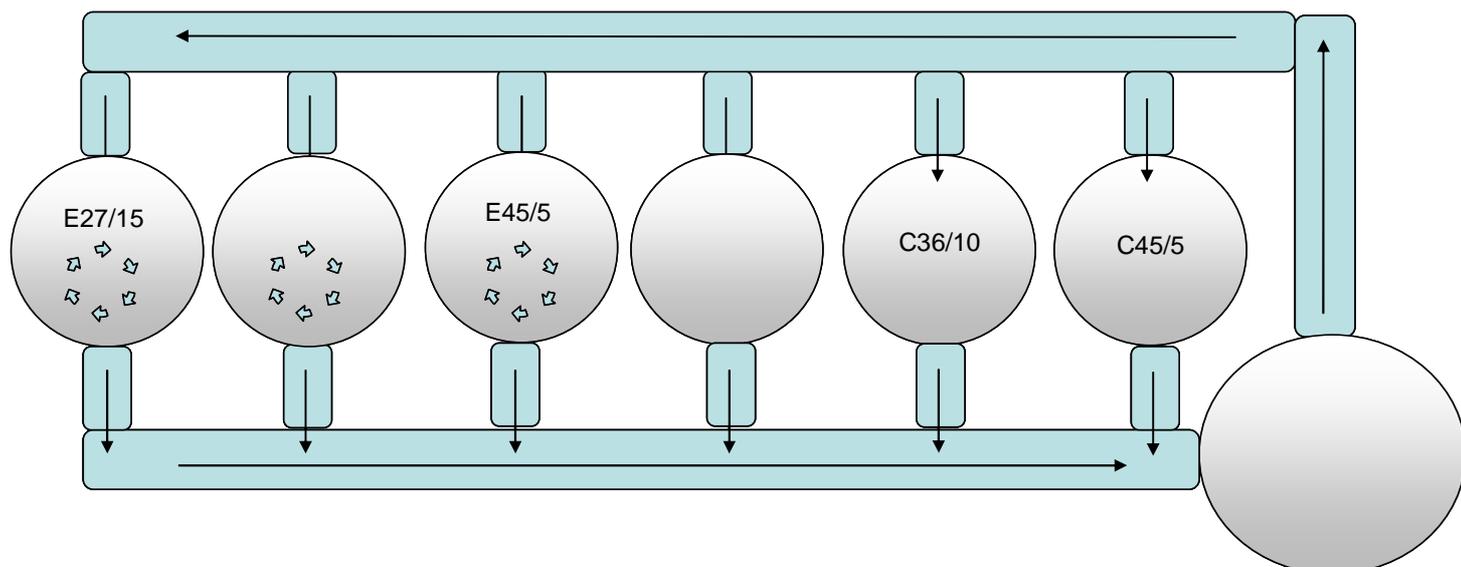


Figura 6. Esquema demonstrativo dos tanques do segundo desenho experimental. Cada caixa corresponde a um dos tratamentos descritos acima, além do biofiltro. Os grupos E27/15, E36/10 e E45/5 foram alimentados com as respectivas rações e se exercitaram a 2CC/seg. Os grupos C27/15, C36/10 e C45/5 foram alimentados com as devidas rações, mas não realizaram atividade natatória aeróbica.

Os parâmetros de qualidade da água: temperatura ( $26,5 \pm 1,4^{\circ}\text{C}$ ), oxigênio dissolvido ( $6 \pm 0,3\text{mg/L}$ ), pH ( $7,2 \pm 0,3$ ) e amônia ( $0,5 \pm 0,2\text{mg/L}$ ) foram determinados em dias intercalados. Após o período experimental, oito peixes de cada tanque foram anestesiados e amostrados, seguindo-se a biometria, coleta de sangue para obtenção de plasma, excisão de fígado, músculo branco (MB) e músculo vermelho (MV) para posteriores análises.

### 4.3 Avaliação estatística

#### *Primeiro experimento*

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, sendo cada peixe considerado uma unidade experimental. As análises de variância e os testes de Tukey para comparação de médias de todos os dados observados foram realizados no “Graph Pad Instat” (versão 3.0, win 95/NT, 1997), e foi aceito o nível de confiança  $P < 0,05$ . Foram realizados dois tipos de comparações: entre o controle e os grupos exercitados e apenas entre os grupos exercitados, sendo que as diferenças são mostradas através de asteriscos para a primeira comparação e letras minúsculas para a segunda comparação.

#### *Segundo experimento*

Os resultados desta etapa do trabalho foram analisados em um Delineamento Inteiramente Casualizado, com seis tratamentos em esquema  $3 \times 2$ , de acordo com os níveis

de carboidratos e lipídeos nas dietas (27/15, 36/10 e 45/5), e com a realização ou não de exercício. Cada peixe foi considerado uma unidade experimental. Para avaliar as interações entre as colunas (exercício e dieta) foi utilizado o teste Two-way ANOVA e aceito nível de confiança de  $P < 0,05$ . Todos os dados observados foram submetidos a RM ANOVA e pós-teste de Tuckey para avaliar onde se encontravam as diferenças ( $P < 0,05$ ). O pacote estatístico utilizado foi o “Sigmastat for Windows Version 2.03”.

Neste experimento, foram realizados dois tipos de comparação: 1) cada grupo exercitado em relação ao seu grupo controle (C27/15 e E27/15, C36/10 e E36/10, C45/5 e E45/5), cujas diferenças foram expressas através de asteriscos e, 2) as diferentes dietas, com e sem exercício (C27/15, C36/10, C45/5 e E27/15, E36/10, E45/5), significâncias estas mostradas através de letras minúsculas.

#### 4.4 Variáveis de desempenho

As variáveis de desempenho foram calculadas para cada unidade experimental, de acordo com as fórmulas descritas a seguir:

- Ganho em peso (GP) = Peso Final – Peso Inicial
- Crescimento em altura (CA) = Altura Final – Altura Inicial
- Crescimento em comprimento (CC) = Comprimento Final – Comprimento Inicial
- Conversão alimentar aparente (CAA) = Consumo de Alimento/ Ganho em Peso Total
- Taxa de Eficiência Protéica (TEP) = Ganho em Peso Vivo/ Proteína Bruta Consumida
- Taxa de Crescimento Específico (TCE) =  
 $(\ln \text{Peso Final} - \ln \text{Peso Inicial}) \times 100 / \text{Tempo Experimental}$

#### 4.5 Variáveis hematimétricas

Todas as análises descritas a seguir foram realizadas em todos os peixes, de todos os grupos, nos dois experimentos.

##### *Hematócrito (Ht)*

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 padronizado para leitura de hematócrito e expressos em %.

#### *Hemoglobina total (Hb<sub>total</sub>)*

A hemoglobina total era determinada adicionando-se 10 $\mu$ L de sangue em 2mL de solução de Drabkin (KCN; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; K<sub>3</sub>[Fe<sub>2</sub>(CN)<sub>6</sub>]) em água destilada, misturando-se 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:

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

#### *Contagem de eritrócitos (CE)*

A contagem de eritrócitos era determinada utilizando-se 10 $\mu$ L de sangue em 2mL de solução de citrato formol (isotônica), misturando-se sem hemolisar. Dessa mistura, utilizava-se 10 $\mu$ L para a contagem em microscópio óptico utilizando-se câmara de contagem e lamínula especial (Câmara de Neubauer). A contagem dos eritrócitos era feita em cinco grupos de quadrados (quatro situados nos ângulos da área reticulada e um próximo do centro), que são subdivididos em 16 quadrados, dando um total de 80 quadrados 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 mm<sup>3</sup> e então, calculava-se o número de eritrócitos em milhões por mm<sup>3</sup>, levando-se em conta a diluição (Lima et al, 1969).

#### *Volume corpuscular médio (VCM)*

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

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

#### *Hemoglobina corpuscular média (HCM)*

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

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

### *Concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM)*

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

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

## **4.6 Íons plasmáticos**

### *Sódio (Na<sup>+</sup>)*

A concentração de Na<sup>+</sup> no plasma total, diluído cem vezes, era determinada em fotômetro de chama, Digimed DM-61, contra uma solução contendo 140mEq/L. Os cálculos foram feitos considerando-se a diluição utilizada e os dados estão expressos como mEq/mL de plasma.

### *Potássio (K<sup>+</sup>)*

A concentração de K<sup>+</sup> no plasma total, diluído cem vezes, era determinada em fotômetro de chama contra uma solução contendo 5mEq/L. Os cálculos foram feitos considerando-se a diluição utilizada e os dados estão apresentados em mEq/mL de plasma.

### *Cloreto (Cl<sup>-</sup>)*

O cloreto foi quantificado segundo metodologia da APHA (1980), através de reação em um volume de 250µL 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 era estimada contra um padrão de 100nmols de cloreto de sódio e seu valor está expresso em µmol/mL de plasma.

## **4.7 Metabólitos**

### **4.7.1 Extrato ácido de tecidos**

Em volume pré-estabelecido de plasma era adicionado 1mL de ácido tricloroacético (TCA) 20% (em uma relação de aproximadamente 1:10) o qual era centrifugado por três minutos a 12.000 x g e o sobrenadante utilizado como extrato celular.

Amostras de fígado, músculo branco e músculo vermelho para as determinações dos intermediários metabólicos eram pesadas em quantidades pré-estabelecidas e homogêneas em 1mL de TCA 20% com homogeneizador mecânico tipo Potter a 1.000 rpm, sob banho de gelo, seguido de centrifugação por três minutos a 12.000 x g. Os sobrenadantes eram utilizados como extratos celulares.

#### **4.7.2 Extrato neutro de tecidos**

Alíquotas de fígado, músculo branco e músculo vermelho eram adicionados em água destilada, homogeneizados em homogeneizador mecânico tipo Potter a 1.000rpm, sob banho de gelo, seguido de centrifugação por três minutos a 12.000 x g e os sobrenadantes utilizados como extratos celulares.

#### **4.7.3 Quantificação dos metabólitos**

##### *Glicogênio*

As determinações de glicogênio foram realizadas como descrito por Bidinotto et al. (1997). Amostras de fígado, músculo branco e músculo vermelho eram transferidas para um tubo de ensaio contendo 1,0mL de KOH 6,0N e incubadas por cinco minutos a 100°C em Banho-Maria. Em seguida, 250µL de extrato eram transferidos para um tubo de ensaio onde eram adicionados 3mL de etanol 90% e 100µL de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%, seguidos de agitação. As amostras eram centrifugadas a 3.000 x g por três minutos e o precipitado ressuspenso em 2,5mL de água destilada, seguido de agitação. Um volume adequado desta dissolução era analisado quanto ao seu teor de açúcares totais (Dubois et al., 1956). Esta análise consiste na adição de um volume adequado de dissolução a 500µl de fenol 4,1 % e 2,0mL 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 açúcares totais era estimada contra um padrão de glicose 1mM e o valor está expresso em µmol de glicosil glicose/mg de tecido.

##### *Glicose*

A quantificação de glicose foi realizada através do método Glicose Oxidase (Trinder, 1969). Uma amostra de 10uL (plasma total ou extrato neutro dos demais tecidos) e 190µL de reagente do kit eram pipetados em uma micro-placa, incubados a 37°C no escuro

por 10 minutos, seguido de leitura em espectrofotômetro a 525nm, através de um leitor de micro-placas (Termomax®, Molecular Devices). Seu valor está expresso em mg/g de tecido ou mg/mL de plasma.

#### *Lactato*

A quantificação de lactato (Harrower & Brown 1972) era realizada em volume adequado e pré-estabelecido de extrato ácido de plasma, fígado, músculo branco e músculo vermelho, aos quais era adicionado 20µL de CuSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 4%, 3,5mL de ácido sulfúrico concentrado e 80µL de p-fenilfenol (1,5g de p-fenilfenol em solução aquosa de NaOH 2%). Após uma hora, os tubos eram fervidos por 90 segundos e imediatamente resfriados em banho de gelo. A leitura era realizada contra um padrão de lactato contendo 20nmols e a leitura óptica, realizada em 570nm. Seu valor está expresso em µmol/g de tecido ou µmol/mL de plasma.

#### *Piruvato*

A quantificação de piruvato (Lu 1939) era realizada em volume adequado e pré-estabelecido de plasma ou dos tecidos preparados em extrato neutro, ao qual era adicionado 250µL de dinitrofenilhidrazina 0,1% em HCL 2,0N. Após 30 minutos de repouso, a 37° C, eram adicionados 3,0mL de NaOH 1,3N e a leitura óptica, efetuada em 440nm contra um padrão de piruvato contendo 100nmols. O valor é expresso em µmol/g de tecido ou µmol/ml de plasma.

#### *Proteína*

O teor de proteína das amostras era determinado segundo Kruger et al. (1994) em 10µL de amostras (plasma total e demais tecidos preparados em extrato neutro) aos quais eram adicionados 190µL de reativo de Bradford (100mg de Comassie blue G250 em 50mL de etanol 95% seguido de adição de 100mL de ácido fosfórico 85% e, volume completado para um litro com água destilada). Após esta mistura ser incubada à temperatura ambiente, no escuro, por 10 minutos, a leitura era feita em um leitor de micro-placas (Termomax®, Molecular Devices) em 620nm contra um padrão de albumina (1mg/ml). Os valores estão expressos em mg/g de tecido ou mg/mL de plasma.

#### *Aminoácidos livres*

Os aminoácidos livres foram determinados segundo Copley (1941). Amostras de plasma total, ou dos demais tecidos preparados em extrato neutro, eram transferidas para um tubo de ensaio seguido da adição de 2mL de ninhidrina 0,1% em propanol. Os tubos eram vedados e colocados em Banho-Maria a 40° C por 40 minutos. Após este período, a leitura óptica era realizada em 570nm, contra um padrão de ácido aminoacético 10mM. O valor está expresso  $\mu\text{mol/g}$  de tecido ou  $\mu\text{mol/mL}$  de plasma.

#### *Amônia*

A determinação da amônia era feita segundo Gentzkow & Masen (1942). Um volume pré-estabelecido de extrato ácido (plasma, fígado, músculo branco e músculo vermelho) era transferido a um tubo de ensaio com água destilada para um volume final de 2,0mL e adicionado de 0,5mL de reativo de Nessler. A leitura óptica era realizada em 420nm contra um padrão de 100nmols de amônia. Os valores estão expressos em  $\mu\text{mol/g}$  de tecido ou  $\mu\text{mol/mL}$  de plasma.

#### *Triglicérides*

A determinação de triglicérides foi feita a partir do Kit Labtest Liquiform. Em um volume de 10 $\mu\text{L}$  de plasma total ou de extrato neutro dos tecidos, eram adicionados 190 $\mu\text{L}$  do reativo do Kit. Após esta mistura ser incubada a 37°C por 10 minutos, a leitura das amostras ocorria em leitor de micro-placas (Termomax®, Molecular Devices) em 525nm. A leitura era realizada contra um padrão de triglicérides 200mg/dL. Os valores de triglicérides das amostras estão expressos em mg/g de tecido ou mg/mL de plasma.

#### *Ácidos graxos livres*

Os ácidos graxos livres foram determinados segundo Norvák (1965). Amostras adequadas dos diferentes tecidos (plasma total e demais preparados em extrato neutro) eram adicionados a 1,0mL de solução DOLE (heptano, álcool isopropílico e ácido sulfúrico 1N na proporção de 1:4:0,1) seguido de agitação. Posteriormente, era adicionado 1,0mL de heptano e 2,0mL de água, agitando-se novamente por inversão. Uma alíquota equivalente a 600 $\mu\text{L}$  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, constituído por 1,32 volumes de trietanolamina + 10 volumes de solução A (solução saturada de  $\text{K}_2\text{SO}_4$ , 6g de nitrato de cobalto e 0,8mL de ácido acético glacial ) + 7 volumes de solução B (solução saturada de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ). As amostras eram fortemente agitadas e centrifugadas por dois minutos a 3.000 x g. Desta mistura, retirava-se

uma alíquota de 600 $\mu$ L à qual se adicionava 600 $\mu$ L de solução indicadora (0,4% de  $\alpha$ -nitroso- $\beta$ -naftol em etanol, diluída 12,5 vezes). A leitura óptica era realizada em 500nm contra um padrão de ácido palmítico 4,0mM e o valor está expresso em  $\mu$ mol/g de tecido ou  $\mu$ mol/mL de plasma.

#### 4.7.4 Ensaio enzimáticos

##### *Homogeneizados celulares*

O tampão de homogeneização utilizado nos ensaios enzimáticos do metabolismo intermediário era fosfato 10mM e TRIS 20mM, pH7,0, em glicerina 50%. Amostras de fígado, músculo branco e músculo vermelho eram homogeneizadas em homogeneizador mecânico tipo Potter a 1.000rpm, sob banho de gelo. Em seguida, os extratos eram centrifugados a 600 x g por três minutos a 4°C e o sobrenadante submetido à nova centrifugação por oito minutos a 6000 x g. O sobrenadante era utilizado como fonte enzimática. O conteúdo de proteínas dos extratos enzimáticos foi determinado pelo método de Kruger et al. (1994).

*Lactato desidrogenase (LDH) EC 1.1.1.27; Malato desidrogenase (MDH) EC 1.1.1.37; Glutamato desidrogenase (GDH) EC 1.4.1.2.*

Os métodos utilizados para quantificar a atividade de LDH, MDH e GDH foram descritos por HOCHACHKA et al. (1978). A oxidação do NADH foi determinada cineticamente em espectrofotômetro a 340nm e as atividades enzimáticas estão expressas em  $\mu$ mol/min/mg de proteína ( $\mu$ U/mg de proteína). O princípio de reação das enzimas LDH, MDH e GDH, se baseia na redução do piruvato em lactato, do oxaloacetato em malato e do  $\alpha$ -cetoglutarato em glutamato, respectivamente, acompanhados paralelamente pela oxidação do NADH. O consumo do NADH era monitorado durante dois minutos com registro de 15 em 15 segundos. O meio de reação para LDH continha em um volume final de 2,0mL: piruvato 5mM, NADH 0,1mM e tampão TRIS 42,5mM pH 7,5, ao qual era adicionado volume adequado pré-ajustado dos diferentes tecidos homogeneizados. Para MDH o meio de reação continha: oxaloacetato 0,33mM, NADH 0,2mM em tampão Imidazol 50mM pH 7,0, ao qual era adicionado volume adequado pré-determinado dos diferentes tecidos homogeneizados em um volume final de 2,0mL. Para GDH o meio de reação continha em um volume final de 2,0mL: acetato de amônio 250mM,  $\alpha$ -cetoglutarato 50mM, NADH 10mM, ADP 1mM em

tampão Imidazol 50mM pH 7,0, ao qual era adicionado volume adequado pré-determinado dos diferentes tecidos homogeneizados.

*Alanina aminotransferase (ALAT) EC 1.6.1.2. e Aspartato aminotransferase (ASAT) EC 2.6.1.1.*

As atividades de ALAT e ASAT foram determinadas em fígado, músculo branco e músculo vermelho, através de dois métodos distintos. No primeiro experimento as atividades de ALAT e ASAT foram ensaiadas segundo Reitman & Frankel (1957). No ensaio de ALAT, esse método se baseia na determinação colorimétrica de piruvato resultante da transaminação da alanina. A mistura de reação para o ensaio de ALAT continha: alanina 400 mM,  $\alpha$ -cetogluturato 210mM, piridoxal-HCl 2,5mM, arsenato de sódio 20mM, tampão fosfato de potássio monobásico 200mM e quantidade pré-estabelecida de homogeneizado celular. No ensaio de ASAT, esse método baseia na determinação colorimétrica de oxaloacetato resultante da conversão do aspartato por transaminação. A mistura de reação continha: aspartato 80mM,  $\alpha$ -cetogluturato 210mM, piridoxal fosfato 0,25mm, arsenato de sódio 20mM e quantidade pré-determinada de homogeneizado celular. As misturas de reação eram incubadas por 30 minutos em Banho-Maria, a 37°C, após o que, a reação era interrompida pela adição de 125uL de dinitrofenilhidrazina 0,1% (em HCL 2,0N). Após a adição de dinitrofenilhidrazina, os tubos eram resfriados em banho de gelo, centrifugados a 12.000 x g por três minutos e adicionado NaOH para 1,3N. O produto de reação com a dinitrofenilhidrazina em pH alcalino para  $\alpha$ -cetoácidos era determinado colorimetricamente em 440nm (Lu, 1939) contra um padrão de piruvato de sódio 100nmols. Ao branco de reação, o homogeneizado era adicionado após a dinitrofenilhidrazina e no padrão excluía-se o coquetel. A atividade enzimática está expressa em nmols/min/mg proteína (nU/mg proteína).

No segundo experimento, as atividades de ALAT e ASAT foram ensaiadas segundo BERGMEYER et al. (1978). Esse método é baseado em ensaio cinético determinando-se a extinção de NADH em 340nm. A determinação de ALAT consistia na transaminação de alanina 500mM para  $\alpha$ -cetogluturato 200mM em tampão TRIS 100mM pH 7,5, com a formação de piruvato e posterior redução a lactato através de LDH exógena (0,1UI). A determinação de ASAT consistia na transaminação de aspartato 220mM e  $\alpha$ -cetogluturato 200mM em tampão TRIS 80mM pH 7,8, com a formação de oxaloacetato e posterior redução a malato através de MDH exógena (0,1UI). As atividades enzimáticas de ALAT e ASAT estão expressas em  $\mu$ mol/min/mg de proteína.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Primeiro experimento

Não houve mortalidade em nenhum dos grupos estudados neste experimento.

*Variáveis de desempenho:* os peixes exercitados a velocidade de 2CC/seg. apresentaram os melhores valores de GP, CA, CC, TCE, TEP e CAA quando comparados com o controle (Tabela 2). Quando comparados os grupos exercitados, os valores de GP foram maiores em 2CC/seg.; CA e CC em 1CC/seg. e 2CC/seg. e TEP em 2CC/seg.

Tabela 2. Desempenho de *P. mesopotamicus* submetidos ao exercício.

Variável	Controle	Velocidade		
		1CC	2CC	3CC
GP	26,7 ± 7,3	34,3 ± 6,2 <sup>b</sup>	40,4 ± 6,0 <sup>*a</sup>	27,4 ± 0,7 <sup>b</sup>
CA	1,1 ± 0,3	1,5 ± 0,2 <sup>a</sup>	1,6 ± 0,4 <sup>*a</sup>	1,0 ± 0,1 <sup>b</sup>
CC	2,5 ± 1,1	3,4 ± 0,7 <sup>a</sup>	3,9 ± 0,6 <sup>*a</sup>	2,2 ± 0,3 <sup>b</sup>
TCE	1,6 ± 0,4	1,8 ± 0,3	2,2 ± 0,4 <sup>*</sup>	1,6 ± 0,1
TEP	1,3 ± 0,6	1,7 ± 0,3 <sup>b</sup>	2,3 ± 0,3 <sup>*a</sup>	1,7 ± 0,04 <sup>b</sup>
CAA	2,1 ± 0,8	1,6 ± 0,4	1,1 ± 0,2 <sup>*</sup>	1,5 ± 0,04

Juvenis de pacu submetidos a exercício por 50 dias nas velocidades 1CC/seg., 2CC/seg. e 3CC/seg. (Comprimento Corporal/segundo). N = 24, sendo seis peixes por tratamento. Os dados apresentados são: Média ± DP admitido p<0,05. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tuckey. O controle não foi submetido ao exercício. Asteriscos indicam diferenças entre o controle e os grupos exercitados na linha; letras indicam diferenças entre os grupos exercitados na linha. GP = Ganho em Peso (g); CA = Crescimento em Altura (cm); CC = Crescimento em Comprimento (cm); TCE = Taxa de Crescimento Específica; TEP = Taxa de Eficiência Protéica; CAA = Conversão Alimentar Aparente.

*Variáveis hematimétricas:* comparados ao controle, o grupo 2CC apresentou os maiores valores de Ht, Hb<sub>total</sub>, VCM e HCM. Entre os grupos exercitados, o grupo 2CC apresentou os maiores valores de hematócrito e VCM (Tabela 3).

*Íons plasmáticos e proteína plasmática:* comparados ao controle, observou-se diminuição de Na<sup>+</sup> nos peixes exercitados a 2CC/seg. e 3CC/seg. e de K<sup>+</sup> em todos exercitados, bem como aumento de proteína nos peixes exercitados a 1CC/seg. (Tabela 4). Comparados os grupos exercitados, observou-se diminuição de Na<sup>+</sup> e de proteína no grupo 3CC.

Tabela 3. Variáveis hematológicas de *P. mesopotamicus* submetido a exercício.

Variável	Controle	Velocidade		
		1CC	2CC	3CC
Ht (%)	26,5 ± 0,3	25,9 ± 0,8 <sup>b</sup>	27,6 ± 0,5 <sup>*a</sup>	26,4 ± 0,6 <sup>b</sup>
Hb <sub>total</sub> (g%)	8,1 ± 0,4	8,5 ± 0,6	9,0 ± 0,6 <sup>*</sup>	8,6 ± 0,1
CE (10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	1,6 ± 0,2	1,6 ± 0,1	1,5 ± 0,1	1,6 ± 0,1
VCM (μ <sup>3</sup> )	171,8 ± 13,6	165,9 ± 3,3 <sup>b</sup>	184,3 ± 5,4 <sup>*a</sup>	171,7 ± 3,3 <sup>b</sup>
HCM (μgramas)	50,7 ± 4,4	54,6 ± 3,5	61,5 ± 8,7 <sup>*</sup>	55,3 ± 4,6
CHCM (%)	30,6 ± 1,6	33,0 ± 1,4	32,7 ± 2,5	32,7 ± 0,8

Juvenis de pacu submetidos a exercício por 50 dias nas velocidades 1CC/seg., 2CC/seg. e 3CC/seg. (Comprimento Corporal/segundo). N = 24, sendo seis peixes por tratamento. Os dados apresentados são: Média ± DP admitido p<0,05. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tuckey. O controle não foi submetido ao exercício. Asteriscos indicam diferenças entre o controle e os grupos exercitados na linha; letras indicam diferenças entre os grupos exercitados na linha. Ht = hematócrito; Hb = hemoglobina; CE = contagem de eritrócitos; VCM = volume corpuscular médio; HCM = hemoglobina corpuscular média e CHCM = concentração de hemoglobina corpuscular média.

Tabela 4. Íons e proteína plasmáticos em *P. mesopotamicus* submetido ao exercício.

Variável	Controle	Velocidade		
		1CC	2CC	3CC
Na <sup>+</sup>	143,2 ± 6	137,3 ± 4 <sup>*a</sup>	129,6 ± 2,6 <sup>*b</sup>	130,5 ± 2 <sup>*b</sup>
K <sup>+</sup>	2,9 ± 0,2	2,4 ± 0,2 <sup>*</sup>	2,1 ± 0,2 <sup>*</sup>	2,4 ± 0,3 <sup>*</sup>
Cl <sup>-</sup>	127,9 ± 3,5	131,4 ± 3,3	130,6 ± 4,5	124,4 ± 6,5
Proteína	0,12 ± 0,004	0,13 ± 0,007 <sup>*a</sup>	0,13 ± 0,006 <sup>*a,b</sup>	0,12 ± 0,002 <sup>*b</sup>

Juvenis de pacu submetidos a exercício por 50 dias nas velocidades 1CC/seg., 2CC/seg. e 3CC/seg. (Comprimento Corporal/segundo). N = 24, sendo seis peixes por tratamento. Os dados apresentados são: Média ± DP admitido p<0,05. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tuckey. O controle não foi submetido ao exercício. Asteriscos indicam diferenças entre o controle e os grupos exercitados na linha; letras indicam diferenças entre os grupos exercitados na linha. Na<sup>+</sup> = sódio e K<sup>+</sup> = potássio (mEq/ml plasma); Cl<sup>-</sup> = cloreto (umol/ml plasma); proteína (mg/ml de plasma).

### Metabólitos

*Plasma:* os peixes sob exercício a 1CC/seg. comparados ao controle apresentaram diminuição dos teores de piruvato e lactato, e aumento de aminoácidos e proteína (Tabela 5). Nos peixes do grupo 2CC, observou-se redução de piruvato e lactato, e aumento de proteína e amônia, enquanto nos do grupo 3CC as concentrações de glicose e amônia aumentaram, e os teores de piruvato, lactato, AGL e TG diminuíram. Entre os peixes exercitados observou-se diminuição de piruvato no grupo 2CC, diminuição de proteína, TG e AGL, e aumento de amônia no grupo 3CC.

Tabela. 5. Metabólitos plasmáticos e hepáticos de *P. mesopotamicus* submetido ao exercício.

<i>Plasma</i>	Velocidade			
	Controle	1CC	2CC	3CC
Glicose	0,6 ± 0,04	0,6 ± 0,05	0,6 ± 0,04	0,7 ± 0,08*
Piruvato	0,28 ± 0,01	0,22 ± 0,02 <sup>a, b</sup>	0,21 ± 0,01 <sup>* b</sup>	0,24 ± 0,01 <sup>* a</sup>
Lactato	5 ± 1,2	2,8 ± 0,5*	2,1 ± 0,3*	3 ± 0,2*
Proteína	24,5 ± 0,9	26,9 ± 1,4 <sup>* a</sup>	26,6 ± 1,2 <sup>* a, b</sup>	25,2 ± 0,5 <sup>b</sup>
AAL	5,6 ± 0,1	6,3 ± 0,4*	6 ± 0,2	6 ± 0,3
Amônia	2,5 ± 0,2	2,7 ± 0,06 <sup>b</sup>	2,9 ± 0,2 <sup>* b</sup>	3,4 ± 0,2 <sup>* a</sup>
TG	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,8 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,6 ± 0,04 <sup>* b</sup>
AGL	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,06 <sup>a</sup>	0,02 ± 0,01 <sup>a, b</sup>	0,01 ± 0,01 <sup>* b</sup>
<i>Fígado</i>	Velocidade			
	Controle	1CC	2CC	3CC
Glicogênio	246,4 ± 37,3	231,2 ± 45,6 <sup>a, b</sup>	246,9 ± 43,6 <sup>a</sup>	168,8 ± 41,9 <sup>* b</sup>
Glicose	48,9 ± 3,7	41 ± 1,4 <sup>b*</sup>	38,6 ± 1,7*	40,1 ± 3,5*
Piruvato	0,6 ± 0,08	0,6 ± 0,04	0,5 ± 0,06*	0,6 ± 0,07
Lactato	16,2 ± 1,5	13,3 ± 1,6 <sup>* a</sup>	12,3 ± 1,5 <sup>* a, b</sup>	10,3 ± 0,9 <sup>* b</sup>
Proteína	103,6 ± 9,6	113,1 ± 3,9	107 ± 8,5	112,8 ± 6
AAL	15,6 ± 1,3	11,7 ± 1,4 <sup>* b</sup>	13,2 ± 0,5 <sup>* a, b</sup>	15 ± 2,1 <sup>a</sup>
Amônia	25,2 ± 1,6	29,8 ± 0,4 <sup>* b</sup>	27,5 ± 0,2 <sup>* c</sup>	32,1 ± 0,1 <sup>* a</sup>
TG	9,1 ± 2,4	7,7 ± 1,4	7,7 ± 0,9	6,8 ± 0,7
AGL	4,2 ± 0,8	2,2 ± 0,4 <sup>* b</sup>	2,6 ± 0,4 <sup>* b</sup>	3,5 ± 0,8 <sup>a</sup>

Juvenis de pacu submetidos a exercício por 50 dias nas velocidades 1CC/seg., 2CC/ seg. e 3CC/ seg. (Comprimento Corporal/segundo). N = 24, sendo seis peixes por tratamento. Os dados apresentados são: Média ± DP admitido p<0,05. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tuckey. O controle não foi submetido ao exercício. Asteriscos indicam diferenças entre o controle e os grupos exercitados na linha; letras indicam diferenças entre os grupos exercitados na linha. AAL – aminoácidos livres, TG – triglicérides, AGL – ácidos graxos livres. Glicogênio (μmol de glicosil glicose/mg de tecido); proteína, glicose e TG (mg/g de tecido ou mg/ml de plasma); demais metabólitos (μmol/g de tecido ou μmol/ml de plasma).

*Fígado:* comparado ao grupo controle, o grupo 1CC apresentou redução de glicose, lactato, aminoácidos e AGL, e aumento da concentração de amônia. No grupo 2CC observou-se diminuição de glicose, piruvato, lactato, AAL e AGL, e aumento da concentração de amônia. Nos peixes do grupo 3CC os teores de glicogênio, glicose e lactato diminuíram e o teor de amônia aumentou (Tabela 5). Entre os grupos exercitados o maior valor de amônia foi encontrado no grupo 3CC, seguido dos mais baixos em 1CC e 2CC, respectivamente. O grupo 3CC apresentou diminuição de glicogênio e lactato, e aumento de AGL.

Tabela. 6. Metabólitos de músculo branco e músculo vermelho de *P. mesopotamicus* submetidos a exercício.

	<i>Músculo branco</i>			
	Controle	Velocidade		
		1CC	2CC	3CC
Glicogênio	4,1 ± 0,2	4,8 ± 0,5 <sup>*a, b</sup>	4,9 ± 0,4 <sup>*a</sup>	4,3 ± 0,1 <sup>b</sup>
Glicose	2,6 ± 0,5	2,0 ± 0,1 <sup>*</sup>	2,0 ± 0,3 <sup>*</sup>	1,8 ± 0,1 <sup>*</sup>
Piruvato	0,8 ± 0,1	0,6 ± 0,1 <sup>*</sup>	0,5 ± 0,04 <sup>*</sup>	0,5 ± 0,07 <sup>*</sup>
Lactato	34,3 ± 6,2	17,9 ± 4,2 <sup>*a, b</sup>	16,3 ± 3 <sup>*b</sup>	24,7 ± 3,7 <sup>*a</sup>
Proteína	35,6 ± 1,1	33,2 ± 1,7	35,0 ± 3,2	34,7 ± 3,0
AAL	14,7 ± 1,8	15,6 ± 1,7 <sup>b</sup>	18,4 ± 2,1 <sup>*a</sup>	18,2 ± 0,4 <sup>*a</sup>
Amônia	23,3 ± 2,5	25,0 ± 1,5	25,5 ± 1,4	24,3 ± 1,3
TG	12,4 ± 4,8	2,5 ± 0,3 <sup>*</sup>	3,2 ± 0,8 <sup>*</sup>	2,2 ± 0,7 <sup>*</sup>
AGL	0,16 ± 0,03	0,20 ± 0,02 <sup>*a</sup>	0,21 ± 0,02 <sup>*a</sup>	0,16 ± 0,03 <sup>b</sup>

	<i>Músculo vermelho</i>			
	Controle	Velocidade		
		1CC	2CC	3CC
Glicogênio	12,4 ± 2,8	7,3 ± 1,8 <sup>*a</sup>	7,6 ± 2,1 <sup>*a</sup>	5,4 ± 1,0 <sup>*b</sup>
Glicose	2,6 ± 0,1	2,1 ± 0,2 <sup>*a</sup>	1,6 ± 0,3 <sup>*b</sup>	1,9 ± 0,4 <sup>*a, b</sup>
Piruvato	0,7 ± 0,01	0,6 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,5 ± 0,1 <sup>*</sup>	0,5 ± 0,02 <sup>*</sup>
Lactato	51,5 ± 9,5	45,1 ± 7,6 <sup>a</sup>	27,7 ± 7 <sup>*b</sup>	37,2 ± 3,7 <sup>*a, b</sup>
Proteína	40,2 ± 6,2	55,2 ± 1,8 <sup>*</sup>	52,2 ± 2,8 <sup>*</sup>	55,2 ± 1,3 <sup>*</sup>
AAL	10,8 ± 0,2	12,0 ± 0,3 <sup>*</sup>	11,6 ± 0,15 <sup>*</sup>	12,3 ± 0,7 <sup>*</sup>
Amônia	25,6 ± 1,9	26,4 ± 1,6	27,0 ± 2,1	30,1 ± 3,2 <sup>*</sup>
TG	30,8 ± 6,9	12,2 ± 2,01 <sup>*</sup>	13,2 ± 2,6 <sup>*</sup>	10,1 ± 1,7 <sup>*</sup>
AGL	1,1 ± 0,05	1,2 ± 0,2 <sup>a</sup>	1,1 ± 0,06 <sup>a, b</sup>	0,9 ± 0,06 <sup>*b</sup>

Juvenis de pacu submetidos a exercício por 50 dias nas velocidades 1CC/seg., 2CC/seg. e 3CC/seg. (Comprimento Corporal/segundo). N = 24, sendo seis peixes por tratamento. Os dados apresentados são: Média ± DP admitido p<0,05. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tuckey. O controle não foi submetido ao exercício. Asteriscos indicam diferenças entre o controle e os grupos exercitados na linha; letras indicam diferenças entre os grupos exercitados na linha. AAL – aminoácidos livres, TG – triglicerídeos, AGL – ácidos graxos livres. Glicogênio (μmol de glicosil glicose/mg de tecido); proteína, glicose e TG (mg/g de tecido ou mg/ml de plasma); demais metabólitos (μmol/g de tecido ou μmol/ml de plasma).

*Músculo branco:* comparado ao controle, no grupo 1CC observou-se aumento de glicogênio e AGL, e diminuição de glicose, piruvato, lactato e TG. No grupo 2CC observou-se aumento de glicogênio, AAL e AGL, e diminuição de piruvato, lactato e TG. No grupo 3CC houve diminuição de glicose, piruvato, lactato e TG, e aumento de AAL (Tabela

6). Entre os grupos exercitados, se observou diminuição de glicogênio e AGL no grupo 3CC, aumento de lactato no grupo 3CC e de AAL nos grupos 2CC e 3CC.

*Músculo vermelho:* comparado ao grupo controle, o grupo 1CC apresentou diminuição de glicogênio, glicose e TG, e aumento de AAL e proteína. O grupo 2CC exibiu diminuição de glicogênio, glicose, piruvato, lactato e TG, e aumento de AAL e proteína. No grupo 3CC houve redução de glicogênio, glicose, piruvato, lactato, TG e AGL, e aumento de AAL, proteína e amônia (Tabela 6). Comparados os grupos exercitados, se observou diminuição gradativa de glicogênio, diminuição de glicose e lactato no grupo 2CC, e redução de AGL no grupo 3CC.

#### *Enzimas*

*Fígado:* não foram encontradas diferenças significativas nas atividades enzimáticas de tecido hepático de pacus submetidos a diferentes velocidades de nado (Tabela 7).

*Músculo branco:* comparado ao grupo controle, a atividade de MDH aumentou em todos os grupos exercitados. A atividade de GDH aumentou nos peixes do grupo 2CC enquanto a de ALAT diminuiu. Comparados os grupos exercitados, observou-se aumento das atividades de GDH, ALAT e ASAT no grupo 2CC (Tabela 7).

*Músculo vermelho:* Comparado ao controle, verificou-se diminuição da atividade da LDH nos três grupos exercitados, da MDH no grupo 1CC e da GDH nos grupos 1CC e 2CC. Entre os grupos exercitados, a atividade da ALAT aumentou à medida que o exercício se tornou mais intenso e as atividades da ASAT e MDH foram maiores no grupo 2CC. Houve diminuição da atividade da GDH no grupo 2CC (Tabela 7).

Tabela 7. Respostas enzimáticas de *P. mesopotamicus* submetido a exercício.

<i>Fígado</i>		Velocidade		
	Controle	1CC	2CC	3CC
LDH	1,2 ± 0,2	1,5 ± 0,5	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1
MDH	8,3 ± 1,5	7,3 ± 0,6	8,3 ± 1,1	8,6 ± 0,5
GDH	4,1 ± 0,6	5,3 ± 1,4	4,2 ± 0,8	4,5 ± 0,7
ALAT	14,0 ± 2,2	13,0 ± 2,4	12,4 ± 3,4	15,3 ± 1,4
ASAT	10,5 ± 0,5	11,2 ± 0,6	10,0 ± 2,1	12,4 ± 1,5
<i>Músculo branco</i>		Velocidade		
	Controle	1CC	2CC	3CC
LDH	120,6 ± 18,4	121,0 ± 11,0	110,5 ± 32,1	98,3 ± 13,1
MDH	21,8 ± 1,2	31,0 ± 2,0 <sup>*</sup>	32,5 ± 5,3 <sup>*</sup>	33,4 ± 1,2 <sup>*</sup>
GDH	0,2 ± 0,06	0,1 ± 0,05 <sup>b</sup>	0,3 ± 0,04 <sup>*a</sup>	0,1 ± 0,02 <sup>b</sup>
ALAT	0,9 ± 0,1	1,1 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,6 ± 0,1 <sup>*b</sup>	0,8 ± 0,2 <sup>b</sup>
ASAT	3,4 ± 0,2	3,5 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,8 ± 0,4 <sup>b</sup>	3,6 ± 0,5 <sup>a</sup>
<i>Músculo vermelho</i>		Velocidade		
	Controle	1CC	2CC	3CC
LDH	44,8 ± 4,2	28,8 ± 5,6 <sup>*</sup>	29,9 ± 8,1 <sup>*</sup>	32,8 ± 4,9 <sup>*</sup>
MDH	72,8 ± 5,2	61,0 ± 5,8 <sup>*b</sup>	71,9 ± 5,2 <sup>a</sup>	60,7 ± 1,5 <sup>*b</sup>
GDH	0,33 ± 0,03	0,27 ± 0,01 <sup>*a</sup>	0,22 ± 0,02 <sup>*b</sup>	0,31 ± 0,03 <sup>a</sup>
ALAT	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,1 <sup>b</sup>	1,0 ± 0,1 <sup>b</sup>	1,7 ± 0,2 <sup>*a</sup>
ASAT	9,0 ± 1,0	5,9 ± 0,4 <sup>*</sup>	7,3 ± 1,6 <sup>*</sup>	6,8 ± 0,3 <sup>*</sup>

Juvenis de pacu submetidos a exercício por 50 dias nas velocidades 1CC/seg., 2CC/seg. e 3CC/seg. (Comprimento Corporal/segundo). N = 24, sendo seis peixes por tratamento. Os dados apresentados são: Média ± DP admitido p<0,05. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tuckey. O controle não foi submetido ao exercício. Asteriscos indicam diferenças entre o controle e os grupos exercitados na linha; letras indicam diferenças entre os grupos exercitados na linha. LDH = lactato desidrogenase, MDH = malato desidrogenase, GDH = glutamato desidrogenase, ALAT = alanina aminotransferase, ASAT = aspartato aminotransferase. As atividades enzimáticas estão expressas em µmol/min/mg proteína (LDH, MDH e GDH) e nmol/min/mg proteína (ALAT e ASAT).

## 5.2 Segundo experimento

Não houve mortalidade em nenhum dos grupos estudados neste experimento.

A análise dos dados de pacus exercitados a 2CC/seg. e alimentados com dietas contendo diferentes teores de carboidrato e lipídeo mostrou as seguintes respostas:

*Variáveis de desempenho:* comparados os grupos exercitados *versus* controle observou-se que exercitados, alimentados com dietas 27/15 e 36/10, cresceram mais que seus respectivos controles. A variável GP do grupo E45/5 não foi significativamente maior, apesar de expressiva. O CC e o CA foram crescentes paralelamente aos teores de carboidrato, nos três grupos exercitados. A TCE foi maior no grupo E27/15 e a TEP aumentou nos grupos E27/15 e E45/5. A CAA foi menor no grupo E45/5 (Tabela 8).

Comparados os controles (efeito das dietas) houve diferença no CC e CA, com valores crescentes paralelamente aos teores de carboidrato. Valores maiores da TEP foram observados nos grupos C36/10 e C45/5. Entre os peixes exercitados, também houve maior CC nos grupos E27/15 e E36/10, ao passo que o CA foi maior nos grupos E36/10 e E45/5. Os valores de TEP foram maiores no grupo E45/5 (Tabela 8).

*Variáveis hematimétricas:* nos grupos exercitados comparados ao seu controle, houve aumento do Ht e Hb no grupo E27/15 (Tabela 9). Comparados os grupos exercitados, foram observados Ht e Hb mais elevados no grupo E27/15. O grupo E36/10 também apresentou aumento de Hb.

Tabela 8. Desempenho de *P. mesopotamicus* não-exercitados e exercitados alimentados com diferentes dietas.

Variável	Condição					
	C27/15	E27/15	C36/10	E 36/10	C45/5	E45/5
GP	34,9 ± 8,5	66,9 ± 14,4*	33,8 ± 10,2	65,2 ± 11,9*	42,3 ± 12,8	60,1 ± 12,5
CC	2,3 ± 0,7 <sup>c</sup>	4,3 ± 0,9 <sup>* a</sup>	2,8 ± 1,3 <sup>b</sup>	4,3 ± 1,2 <sup>* a</sup>	3,3 ± 0,9 <sup>a</sup>	3,8 ± 0,9 <sup>* b</sup>
CA	1,6 ± 0,4 <sup>b</sup>	2,0 ± 0,6 <sup>* b</sup>	2,0 ± 0,6 <sup>a</sup>	2,5 ± 0,5 <sup>* a</sup>	2,2 ± 0,7 <sup>a</sup>	2,5 ± 0,5 <sup>* a</sup>
TCE	1,6 ± 0,4	2,4 ± 0,5 <sup>*</sup>	1,7 ± 0,4	2,3 ± 0,6	1,9 ± 0,5	2,3 ± 0,4
TEP	3,1 ± 0,8 <sup>b</sup>	3,5 ± 0,8 <sup>* b</sup>	3,4 ± 1,0 <sup>a</sup>	3,7 ± 0,7 <sup>b</sup>	3,4 ± 1,0 <sup>a</sup>	4,4 ± 0,9 <sup>* a</sup>
CAA	1,1 ± 0,2	1,0 ± 0,3	1,2 ± 0,4	1,0 ± 0,2	1,1 ± 0,3 <sup>*</sup>	0,8 ± 0,2

Juvenis de pacu submetidos a exercício por 50 dias a velocidade de 2CC/seg. (Comprimento Corporal/seg.) e seus respectivos controles, alimentados com uma das três seguintes dietas: 27/15, 36/10 e 45/5 (27, 36 e 45 = ENN; 15, 10 e 5 = EE). N = 48, sendo oito peixes por tratamento. Os dados apresentados são: Média ± DP admitido p<0,05. Asteriscos indicam diferenças na linha entre o controle e o grupo exercitado alimentado com a mesma dieta; letras indicam diferenças entre os três grupos exercitados na linha. GP = ganho em peso (g); CC = crescimento em comprimento (cm); CA = crescimento em altura (cm); TCE = taxa de crescimento específico; TEP = taxa de eficiência protéica; CAA = conversão alimentar aparente.

Tabela 9. Variáveis hematológicas de *P. mesopotamicus* não-exercitados e exercitados alimentados com diferentes dietas.

Variável	Condição					
	C27/15	E27/15	C36/10	E 36/10	C45/5	E45/5
Ht	24,4 ± 0,7	29,5 ± 2,1 <sup>*a</sup>	26,0 ± 1,3	27,0 ± 1,3 <sup>b</sup>	25,0 ± 0,5	26,6 ± 1,7 <sup>b</sup>
Hb	6,4 ± 0,9	7,5 ± 0,5 <sup>*a</sup>	6,7 ± 0,2	7,5 ± 0,4 <sup>a</sup>	6,8 ± 0,4	6,8 ± 0,4 <sup>b</sup>
CE	1,7 ± 0,1	2,0 ± 0,4	1,6 ± 0,3	1,6 ± 0,1	1,8 ± 0,2	1,6 ± 0,4
VCM	144,0 ± 6,6	148,5 ± 19,9	166,9 ± 39,4	170,0 ± 16,3	145,3 ± 19,6	180,1 ± 39,8
HCM	39,7 ± 2,0	40,2 ± 7,4	41,7 ± 10,2	47,1 ± 5,3	39,8 ± 7,3	41,5 ± 7,6
VHCM	26,5 ± 2,7	25,4 ± 1,5	25,6 ± 1,2	27,8 ± 2,6	27,4 ± 1,6	24,8 ± 1,9

Juvenis de pacu submetidos a exercício por 50 dias a velocidade de 2CC/seg. (Comprimento Corporal/seg.) e seus respectivos controles, alimentados com uma das três seguintes dietas: 27/15, 36/10 e 45/5 (27, 36 e 45 = ENN; 15, 10 e 5 = EE). N = 48, sendo oito peixes por tratamento. Os dados apresentados são: Média ± DP admitido p<0,05. Asteriscos indicam diferenças entre o controle e os grupos exercitados na linha; letras indicam diferenças entre os grupos exercitados na linha. Ht = hematócrito; Hb = hemoglobina; CE = contagem de eritrócitos; VCM = volume corpuscular médio; HCM = hemoglobina corpuscular média; VHCM = volume de hemoglobina corpuscular média.

### *Metabólitos*

*Plasma:* comparados os grupos exercitado *versus* controle, o E27/15 apresentou aumento de piruvato, AAL e AGL, e diminuição do nível de TG (Tabela 10); no E36/10 observou-se aumento de proteína, AAL, amônia e AGL e diminuição de TG; no E45/5 houve diminuição de glicose e TG.

Observou-se, em pacu não exercitado, que com o aumento de carboidrato e a redução conseqüente de lipídeo na dieta houve aumento do teor de glicose plasmática; as concentrações de proteína e de amônia foram maiores no grupo C45/5; e os teores de AAL foram menores em C36/10, seguido por valores aumentados em E27/15 e E45/5, respectivamente. As concentrações de TG foram maiores no grupo C36/10, seguidas por C27/15 e por C45/5; o teor de AGL diminuiu nos grupos C36/10 e C45/5. Entre os peixes exercitados, a concentração de glicose foi maior nos grupos E36/10 e E45/5 enquanto a de piruvato menor; a concentração de lactato aumentou no grupo E45/5; a concentração de proteína foi diferente entre os grupos E27/15 e E36/10; o teor de TG diminuiu no grupo E45/5 e o de AGL nos grupos E36/10 e E45/5.

*Fígado:* comparados os grupos exercitados e seus controles, notou-se que no grupo E27/15 ocorreu diminuição de glicogênio e aumento de glicose, proteína e amônia; no grupo E36/10 houve diminuição de glicogênio, TG e AGL, e aumento de glicose, proteína e amônia; no grupo E45/5 houve diminuição de glicogênio, glicose, lactato e TG, e aumento de piruvato e proteína.

Comparados os peixes não exercitados e alimentados com as diferentes dietas, pôde-se observar que a concentração de glicose foi maior nos grupos C36/10 e C45/10; os teores de AAL foram diferentes nos grupos C27/15 e C45/5; o teor de TG aumentou no grupo C45/5 e, a concentração de AGL também aumentou nos grupos C36/10 e C45/5. Entre os grupos exercitados o quadro metabólico apresentou-se da seguinte forma: o teor de glicose aumentou no grupo E36/10, seguido por valores mais baixos nos grupos E27/10 e E45/5, respectivamente; o teor de piruvato foi diferente entre os grupos E27/15 e E45/5; a concentração de AAL foi maior nos grupos E36/10 e E45/5, enquanto que a concentração de proteína foi maior apenas no grupo E45/5; a concentração de amônia diminuiu no grupo E45/5; o teor de AGL aumentou com o teor de carboidratos e a conseqüente redução de lipídeos das dietas.

*Músculo branco:* quando comparados os grupos exercitados com seus controles, notou-se que no E27/15 houve diminuição dos teores de TG e amônia, enquanto que as concentrações de AGL, AAL e proteína aumentaram (Tabela 11); o grupo E36/10

apresentou diminuição dos teores de glicose, lactato e TG, e aumento das concentrações de AGL e AAL; o grupo E45/5 apresentou redução nos teores de glicogênio e TG, e aumento da concentração de AGL.

Na comparação entre os controles (efeito das dietas), os peixes apresentaram aumento do teor de lactato nos grupos C36/10 e C45/5, aumento gradativo da concentração de AAL e a maior concentração de proteína foram observados no grupo C36/10. Os pacus exercitados, no entanto, mostraram diminuição do teor de proteína e aumento da concentração de amônia nos grupos E36/10 e E45/5.

*Músculo vermelho:* quando os grupos exercitados e seus controles foram comparados, constatou-se no grupo E27/15 diminuição dos teores de glicogênio e lactato e, aumento da concentração de piruvato e TG (Tabela 11); o grupo E36/10 exibiu queda nos teores de glicogênio, glicose, TG e AAL; o último grupo apresentou diminuição de glicogênio e AAL, e aumento da concentração de proteína e AGL.

Entre os peixes controle (efeito da dieta), observou-se aumento do teor de glicogênio no grupo C45/5; piruvato foi maior no grupo C36/10; AAL aumentou nos grupos C36/10 e C45/5; as concentrações de proteína e AGL diminuíram no grupo C45/5; e a concentração de amônia aumentou neste último grupo. Todavia, entre os peixes exercitados observou-se aumento de glicogênio na medida em que a dieta ofertada continha mais carboidrato; as concentrações de glicose e TG diminuíram e a de amônia aumentou nos grupos E36/10 e E45/5. A concentração de AGL no grupo E45/5 foi maior que no E36/10.

Tabela 10. Metabólitos plasmáticos e hepáticos de *P. mesopotamicus* não-exercitados e exercitados alimentados com diferentes dietas.

Plasma	Condição					
	C27/15	E27/15	C36/10	E 36/10	C45/5	E45/5
Glicose	1,3 ± 0,1 <sup>c</sup>	1,4 ± 0,2 <sup>b</sup>	1,7 ± 0,2 <sup>b</sup>	1,7 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,0 ± 0,2 <sup>*a</sup>	1,8 ± 0,2 <sup>a</sup>
Piruvato	0,14 ± 0,03	0,19 ± 0,03 <sup>*a</sup>	0,14 ± 0,03	0,14 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,16 ± 0,03	0,14 ± 0,02 <sup>b</sup>
Lactato	1,1 ± 0,3	0,6 ± 0,2 <sup>b</sup>	0,9 ± 0,2	0,9 ± 0,3 <sup>b</sup>	1,4 ± 0,7	1,8 ± 0,2 <sup>a</sup>
Proteína	6,8 ± 0,4 <sup>a, c</sup>	6,8 ± 0,1 <sup>b</sup>	5,4 ± 2,1 <sup>b, c</sup>	7,3 ± 0,3 <sup>a</sup>	7,0 ± 0,3 <sup>a</sup>	7,0 ± 0,5 <sup>a, b</sup>
AAL	8,2 ± 0,4 <sup>b</sup>	10,9 ± 0,6 <sup>*</sup>	7,8 ± 0,4 <sup>c</sup>	9,5 ± 0,9 <sup>*</sup>	9,5 ± 0,3 <sup>a</sup>	9,6 ± 0,7 <sup>a, b</sup>
Amônia	5,4 ± 0,7 <sup>b</sup>	5,9 ± 0,8	4,4 ± 0,5 <sup>b</sup>	6,7 ± 0,5 <sup>*</sup>	5,9 ± 1,1 <sup>a</sup>	5,7 ± 0,7
TG	4,4 ± 1,6 <sup>*b</sup>	3,6 ± 1,1 <sup>a</sup>	5,8 ± 1,6 <sup>*a</sup>	3,4 ± 0,6 <sup>a</sup>	3,3 ± 0,6 <sup>*c</sup>	2,2 ± 0,7 <sup>b</sup>
AGL	0,18 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,23 ± 0,02 <sup>*a</sup>	0,15 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,21 ± 0,02 <sup>*b</sup>	0,17 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,17 ± 0,02 <sup>b</sup>
Fígado	Condição					
	C27/15	E27/15	C36/10	E 36/10	C45/5	E45/5
Glicogênio	566,3 ± 58,5 <sup>*</sup>	347,9 ± 69,6	515,6 ± 43,4 <sup>*</sup>	431,4 ± 89,0	437,1 ± 32,1 <sup>*</sup>	392,6 ± 23,7
Glicose	18,4 ± 1,6 <sup>b</sup>	23,7 ± 1,1 <sup>*b</sup>	22,2 ± 3,5 <sup>a</sup>	27,5 ± 2,1 <sup>*a</sup>	22,3 ± 1,5 <sup>*a</sup>	18,3 ± 2,7 <sup>c</sup>
Piruvato	0,7 ± 0,1	0,6 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,7 ± 0,1	0,8 ± 0,1 <sup>*a, b</sup>	0,7 ± 0,1	0,9 ± 0,2 <sup>*a</sup>
Lactato	85,0 ± 8,9	72,2 ± 9,3	84,9 ± 7,7	74,3 ± 10,9	94,7 ± 9,1 <sup>*</sup>	74,9 ± 6,2
Proteína	71,3 ± 3,7	81,8 ± 4,3 <sup>*b</sup>	72,5 ± 3,1	79,1 ± 5,1 <sup>*b</sup>	69,2 ± 5,4	87,1 ± 7,8 <sup>*a</sup>
AAL	37,9 ± 2,1 <sup>b</sup>	36,6 ± 2,5 <sup>b</sup>	41,8 ± 1,9 <sup>a, b</sup>	46,5 ± 1,9 <sup>b</sup>	48,9 ± 2,9 <sup>a</sup>	47,2 ± 1,8 <sup>a</sup>
Amônia	50,3 ± 7,6	63,6 ± 3,4 <sup>*a</sup>	57,2 ± 4,6	67,3 ± 9,7 <sup>*a</sup>	53,6 ± 3,3	51,5 ± 7,8 <sup>b</sup>
TG	3,2 ± 1,2 <sup>b</sup>	1,5 ± 0,7	4,3 ± 1,8 <sup>*b</sup>	2,4 ± 1,0	6,6 ± 2,5 <sup>*a</sup>	2,6 ± 1,2
AGL	1,5 ± 0,2 <sup>b</sup>	1,6 ± 0,2 <sup>c</sup>	2,0 ± 0,1 <sup>*a</sup>	1,8 ± 0,2 <sup>b</sup>	2,0 ± 0,1 <sup>a</sup>	2,1 ± 0,2 <sup>a</sup>

Juvenis de pacu submetidos a exercício por 50 dias a velocidade de 2CC/seg. (Comprimento Corporal/seg.) e seus respectivos controles, alimentados com uma das três seguintes dietas: 27/15, 36/10 e 45/5 (27, 36 e 45 = ENN; 15, 10 e 5 = EE). N = 48, sendo oito peixes por tratamento. Os dados apresentados são: Média ± DP admitido  $p < 0,05$ . Asteriscos indicam diferenças entre o controle e os grupos exercitados na linha; letras indicam diferenças entre os grupos exercitados na linha. AAL = aminoácidos livres, AGL = ácidos graxos livres, TG = triglicerídeos. Glicogênio está expresso em  $\mu\text{mol/g}$  de tecido; glicose, proteína e TG em mg/g de tecido ou mg/ml de plasma; demais metabólitos em  $\mu\text{mol/g}$  de tecido ou  $\mu\text{mol/ml}$  de plasma.

Tabela 11. Metabólitos de músculo branco e vermelho *P. mesopotamicus* não-exercitados e exercitados alimentados com diferentes dietas.

<i>Músculo branco</i>						
	Condição					
	C27/15	E27/15	C36/10	E 36/10	C45/5	E45/5
Glicogênio	12,7 ± 1,1	11,8 ± 1,4	14,0 ± 1,8	13,6 ± 3,1	19,2 ± 5,8*	11,4 ± 1,5
Glicose	0,6 ± 0,1	0,4 ± 0,01	1,5 ± 0,3*	0,4 ± 0,1	1,2 ± 0,3	0,5 ± 0,1
Piruvato	0,4 ± 0,1	0,3 ± 0,0	0,4 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,4 ± 0,1
Lactato	29,7 ± 7,8 <sup>b</sup>	27,3 ± 5,2	47,8 ± 7,9* <sup>a</sup>	34,9 ± 10,8	42,6 ± 5,9 <sup>a</sup>	33,6 ± 7,2
Proteína	23,6 ± 1,9 <sup>b</sup>	25,7 ± 0,7* <sup>a</sup>	27,1 ± 1,2 <sup>a</sup>	23,1 ± 2,6 <sup>b</sup>	22,7 ± 1,7 <sup>b</sup>	22,4 ± 2,1 <sup>b</sup>
AAL	35,9 ± 7,7 <sup>c</sup>	60,3 ± 19,6*	50,9 ± 9,1 <sup>b</sup>	70,6 ± 17,2*	67,1 ± 20,1 <sup>a</sup>	59,4 ± 5,9
Amônia	53,6 ± 4,5*	41,3 ± 1,8 <sup>b</sup>	60,7 ± 11,5	44,5 ± 6,0 <sup>a</sup>	64,1 ± 2,8	49,7 ± 4,5 <sup>a</sup>
TG	2,4 ± 0,9*	1,4 ± 0,1	2,1 ± 0,1*	1,8 ± 0,2	2,0 ± 0,4*	1,6 ± 0,2
AGL	0,1 ± 0,01	0,1 ± 0,02*	0,1 ± 0,03	0,1 ± 0,02*	0,1 ± 0,02	0,1 ± 0,03*
<i>Músculo vermelho</i>						
	Condição					
	C27/15	E27/15	C36/10	E 36/10	C45/5	E45/5
Glicogênio	41,7 ± 4,3* <sup>b</sup>	19,9 ± 3,3 <sup>c</sup>	50,1 ± 2,8* <sup>b</sup>	20,3 ± 3,7 <sup>b</sup>	61,7 ± 7,7* <sup>a</sup>	27,9 ± 5,9 <sup>a</sup>
Glicose	5,2 ± 1,0	4,6 ± 0,2 <sup>a</sup>	5,1 ± 0,5*	3,7 ± 0,1 <sup>b</sup>	4,2 ± 0,3	3,9 ± 0,08 <sup>b</sup>
Piruvato	0,5 ± 0,1 <sup>b</sup>	0,8 ± 0,2*	0,8 ± 0,1 <sup>a</sup>	0,8 ± 0,2	0,6 ± 0,1 <sup>b</sup>	0,8 ± 0,1
Lactato	24,7 ± 8,8*	20,3 ± 1,7	24,7 ± 1,6	21,8 ± 1,4	26,9 ± 3,3	26,5 ± 4,6
Proteína	26,0 ± 1,6 <sup>a</sup>	26,6 ± 2,2	26,4 ± 0,9 <sup>a</sup>	26,5 ± 1,5	23,8 ± 1,1 <sup>b</sup>	26,6 ± 0,8*
AAL	23,5 ± 2,7 <sup>b</sup>	22,8 ± 1,2	25,9 ± 2,1* <sup>a</sup>	22,6 ± 1,0	26,2 ± 3,2* <sup>a</sup>	23,4 ± 1,6
Amônia	30,9 ± 3,6 <sup>b</sup>	31,8 ± 2,9 <sup>b</sup>	35,5 ± 2,9 <sup>b</sup>	37,8 ± 3,9 <sup>a</sup>	43,5 ± 3,9 <sup>a</sup>	38,0 ± 6,7 <sup>a</sup>
TG	9,0 ± 2,4	17,1 ± 2* <sup>a</sup>	13,9 ± 3,5*	10,4 ± 1,7 <sup>b</sup>	9,1 ± 0,8	11,0 ± 1,7 <sup>b</sup>
AGL	1,7 ± 0,8 <sup>a</sup>	1,8 ± 0,2 <sup>a, b</sup>	1,9 ± 0,3 <sup>a</sup>	1,7 ± 0,2 <sup>b</sup>	1,4 ± 0,06 <sup>b</sup>	2,1 ± 0,4* <sup>a</sup>

Juvenis de pacu submetidos a exercício por 50 dias a velocidade de 2CC/seg. (Comprimento Corporal/seg.) e seus respectivos controles, alimentados com uma das três seguintes dietas: 27/15, 36/10 e 45/5 (27, 36 e 45 = ENN; 15, 10 e 5 = EE). N = 48, sendo oito peixes por tratamento. Os dados apresentados são: Média ± DP admitido p<0,05. Asteriscos indicam diferenças entre o controle e os grupos exercitados na linha; letras indicam diferenças entre os grupos exercitados na linha. AAL = aminoácidos livres, AGL = ácidos graxos livres, TG = triglicerídeos. Glicogênio é expresso em μmolglicosil/mg de tecido; glicose, proteína e TG em mg/g de tecido ou mg/ml de plasma; demais metabólitos μmol/g de tecido ou μmol/ml de plasma.

*Enzimas*

*Fígado:* observou-se diminuição nas atividades de LDH e MDH entre o grupo E27/15 e o seu controle. Comparados os três grupos controle percebeu-se diminuição gradativa na atividade da LDH, menor valor na atividade de MDH no grupo C36/10 comparado ao grupo C27/15, e valores mais baixos na atividade de GDH dos grupos C36/10 e C45/5. Nos grupos exercitados observou-se redução na atividade de LDH nos grupos E36/10 e E45/5, aumento na atividade da MDH no grupo E45/5, e diminuição na atividade da GDH entre os grupos E27/15 e E45/5 (Tabela 12).

*Músculo branco:* comparados os grupos exercitados e seus controles, o E27/15 apresentou diminuição na atividade de LDH e GDH. No grupo E36/10 observou-se aumento na atividade de LDH e diminuição nas atividades de MDH e GDH; no grupo E45/5, diminuição das atividades de LDH, GDH e ASAT. Comparados os três grupos controle, notou-se diminuição na atividade da LDH no grupo C36/10, aumento da atividade da MDH no grupo C36/10 comparado ao grupo C27/15, e diminuição na atividade de GDH nos grupos C36/10 e C45/5. Entre os três grupos exercitados a atividade de LDH foi maior no grupo E36/10 comparada ao grupo E45/5; a atividade de MDH diminuiu nos grupos E36/10 e E45/5, e as atividades de GDH, ALAT e ASAT foram menores no grupo E45/5 (Tabela 12).

*Músculo vermelho:* comparados os grupos exercitado e controle, observou-se diminuição na atividade de LDH no grupo E27/15; o grupo E45/5 apresentou diminuição na atividade de GDH e MDH e, aumento na de ALAT e ASAT. Comparados os grupos que não realizaram exercício, notou-se menor atividade de LDH no grupo C36/10, seguida por maior atividade nos grupos C27/15 e C45/5, bem como atividade aumentada da GDH no grupo C45/5. A atividade da MDH foi menor no grupo C36/10. Entre os exercitados, observou-se a menor atividade da LDH no grupo E36/10, seguida por um aumento de atividade nos grupos E27/15 e E45/5, respectivamente; diminuição na atividade de MDH e aumento na atividade de GDH nos grupos E36/10 e E45/5; e aumento na atividade de ALAT e ASAT no grupo E45/5 (Tabela 12).

Tabela 12. Atividades enzimáticas tissulares de *P. mesopotamicus* não-exercitados e exercitados alimentados com diferentes dietas.

		Condição											
		C27/15		E27/15		C36/10		E 36/10		C45/5		E45/5	
<i>Fígado</i>													
LDH		1,4 ± 1,1 <sup>*a</sup>	0,9 ± 0,5 <sup>a</sup>	0,7 ± 0,2 <sup>b</sup>	0,4 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,4 ± 0,04 <sup>c</sup>	0,3 ± 0,1 <sup>b</sup>						
MDH		23,5 ± 4,8 <sup>*a</sup>	18,3 ± 5,3 <sup>b</sup>	19,1 ± 2,9 <sup>b</sup>	17,2 ± 2,5 <sup>b</sup>	20,3 ± 3,4 <sup>a,b</sup>	22,8 ± 5,0 <sup>a</sup>						
GDH		3,4 ± 1,0 <sup>a</sup>	1,9 ± 0,5 <sup>a</sup>	1,5 ± 0,4 <sup>b</sup>	1,6 ± 0,5 <sup>a,b</sup>	1,4 ± 0,5 <sup>b</sup>	1,4 ± 0,3 <sup>b</sup>						
ALAT		0,41 ± 0,09	0,27 ± 0,12	0,37 ± 0,07	0,31 ± 0,15	0,34 ± 0,13	0,31 ± 0,09						
ASAT		4,1 ± 0,7	4,5 ± 0,5	3,9 ± 0,5	4,6 ± 0,7	4,9 ± 1,2	4,4 ± 0,9						
<i>Músculo branco</i>													
		C27/15		E27/15		C36/10		E36/10		C45/5		E45/5	
LDH		62,0 ± 27,1 <sup>*a</sup>	43,4 ± 13,8 <sup>a,b</sup>	33,5 ± 16,7 <sup>b</sup>	51,3 ± 22,1 <sup>*a</sup>	55,9 ± 13,5 <sup>*a</sup>	38,3 ± 9,4 <sup>b</sup>						
MDH		12,7 ± 3,6 <sup>b</sup>	15,6 ± 4,7 <sup>a</sup>	17,0 ± 2,3 <sup>*a</sup>	6,9 ± 2,9 <sup>b</sup>	12,8 ± 2,3 <sup>a,b</sup>	11,0 ± 4,4 <sup>b</sup>						
GDH		0,07 ± 0,04 <sup>*a</sup>	0,03 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,04 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,03 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,05 ± 0,04 <sup>*b</sup>	0,02 ± 0,002 <sup>b</sup>						
ALAT		0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,03 ± 0,01	0,01 ± 0,01 <sup>b</sup>						
ASAT		1,6 ± 0,4	1,7 ± 0,3 <sup>a</sup>	1,8 ± 0,2	1,6 ± 0,3 <sup>a</sup>	1,9 ± 0,2 <sup>*</sup>	1,1 ± 0,3 <sup>b</sup>						
<i>Músculo vermelho</i>													
		C27/15		E27/15		C36/10		E36/10		C45/5		E45/5	
LDH		34,0 ± 11,01 <sup>*b</sup>	29,7 ± 8,7 <sup>b</sup>	23,2 ± 6,5 <sup>c</sup>	22,2 ± 3,9 <sup>c</sup>	37,3 ± 5,8 <sup>a</sup>	39,7 ± 7,5 <sup>a</sup>						
MDH		41,6 ± 15,9 <sup>a</sup>	49,5 ± 8,2 <sup>a</sup>	15,6 ± 4,02 <sup>b</sup>	16,8 ± 4,2 <sup>b</sup>	47,8 ± 9,8 <sup>*a</sup>	23,3 ± 10,3 <sup>b</sup>						
GDH		0,24 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,23 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,24 ± 0,04 <sup>b</sup>	0,25 ± 0,06 <sup>a</sup>	0,27 ± 0,06 <sup>*a</sup>	0,26 ± 0,04 <sup>a</sup>						
ALAT		0,87 ± 0,19	0,81 ± 0,3 <sup>b</sup>	0,70 ± 0,08	0,59 ± 0,2 <sup>b</sup>	0,63 ± 0,12	1,53 ± 0,3 <sup>*a</sup>						
ASAT		29,2 ± 3,7	27,2 ± 6,0 <sup>b</sup>	24,6 ± 5,5	22,3 ± 6,0 <sup>b</sup>	20,2 ± 5,8	47,8 ± 13,3 <sup>*a</sup>						

Juvenis de pacu submetidos a exercício por 50 dias a velocidade de 2CC/seg. (Comprimento Corporal/seg.) e seus respectivos controles, alimentados com uma das três seguintes dietas: 27/15, 36/10 e 45/5 (27, 36 e 45 = ENN; 15, 10 e 5 = EE). N = 48, sendo oito peixes por tratamento. Os dados apresentados são: Média ± DP admitido p<0,05. Asteriscos indicam diferenças entre o controle e os grupos exercitados na linha; letras indicam diferenças entre os grupos exercitados na linha. LDH = lactato desidrogenase; MDH = malato desidrogenase; GDH = glutamato desidrogenase; ALAT = alanina aminotransferase; ASAT = aspartato aminotransferase. As atividades enzimáticas estão expressas em µmol/min/mg proteína.

## 6 DISCUSSÃO

### 6.1 Primeiro experimento

#### *Crescimento*

As respostas de crescimento encontradas no primeiro experimento sugerem que a melhor velocidade de natação foi 2CC/seg. Os peixes expostos a esta condição apresentaram o melhor desempenho para todos os parâmetros avaliados, quer comparados ao controle quer às demais condições de exercício. Apesar de o grupo 1CC também apresentar melhor desempenho que o controle, esses foram menos expressivos. Deve-se salientar que as elevações de 36% em GP e em CA e, de 17% no CC refletem o benefício decorrente da prática do exercício. Comparados somente os grupos exercitados, os maiores valores de GP e TEP no grupo 2CC e os maiores valores de CC e CA em 1CC e 2CC reforçam a proposição de que a prática de exercício a 1CC/seg. também traz benefícios à espécie, mesmo sendo suas respostas menos expressivas do que as observadas no grupo 2CC.

Sabe-se que peixes exercitados apresentam melhor desempenho produtivo que não-exercitados desde que nadem na faixa de velocidade ideal para a espécie (YOUNG & CECH Jr., 1994a; JOBLING, 1994; FORSTER & OGATA, 1996; OGATA & OKU, 2000; AZUMA et al., 2002; BUGEON et al., 2003). A maioria das espécies estudadas apresenta esta faixa entre 1 e 2CC/seg. (DAVISON, 1997; AZUMA et al., 2002; RICHARDS et al., 2002). "Striped bass" (*Morone saxatilis*) quando exercitado a 1,5 – 2,4 CC/seg. apresenta taxas de crescimento superiores a exemplares não-exercitados (YOUNG & CECH Jr., 1994a). Até mesmo espécies sedentárias, como o "Japanese flounder" (*Paralichthys olivaceus*), apresentam maiores ganhos de peso e comprimento corporais quando submetidas ao nado em velocidade moderada de 0,9CC/seg. e crescimento insatisfatório a velocidades superiores a esta (OGATA & OKU, 2000). Em matrinxã (*Brycon amazonicus*), espécie reofílica neotropical de água doce, esses valores de velocidade se encontram entre 1,0 e 1,5CC/seg. (MORAES et al., 2009). Outros dados com matrinxãs exercitados a 1CC/seg. também mostram melhor rendimento de crescimento comparado aos não exercitados (HACKBARTH & MORAES, 2006).

A TCE, que leva em conta os pesos inicial e final e o tempo de exposição ao experimento, mostra que o grupo 2CC apresentou o maior crescimento, com taxa superior a 37%. Este dado coincide com os apresentados anteriormente, que já indicavam maior ganho em peso, comprimento e altura para este grupo. Este índice, ao mostrar as variações nas taxas

de crescimento, reflete se o exercício foi prejudicial à espécie ou não. Ao apresentar-se aumentado sugere benefícios advindos do exercício em relação ao crescimento, diferentemente do que foi observado em truta arco-íris que, exercitada a velocidades elevadas, apresenta distúrbios fisiológicos que comprometem essa taxa (KIEFFER et al., 2001). A TEP é um índice que permite avaliar se as proteínas estão sendo direcionadas para o crescimento ou para atender a demanda metabólica. Em face de seus valores aumentados no grupo 2CC, admitimos que as proteínas da dieta foram direcionadas preferencialmente ao crescimento e não à manutenção energética.

A menor taxa de CAA observada no grupo 2CC indica que o pacu precisaria ingerir 1,1kg de ração para atingir 1kg de peso. No mesmo período, o consumo diário de ração por peixe diminuiu à medida que a velocidade de exercício era maior. Os valores encontrados foram: 1,01, 1,03, 0,87 e 0,81 gramas para os grupos controle, 1CC, 2CC e 3CC, respectivamente. Isto poderia fazer supor que o exercício não aumentou o consumo de alimento apesar de um possível aumento da demanda metabólica em vista do nado a velocidades mais altas. Além do mais, os peixes exercitados a 2CC/seg. apresentaram consumo menor do que o controle e o grupo 1CC, e conversão alimentar mais favorável, indicando melhor aproveitamento dos nutrientes não-nitrogenados da dieta e permitindo o maior crescimento observado. Ao se correlacionar a menor taxa de CAA e da maior TEP no grupo 2CC, pode-se dizer que houve melhor aproveitamento da ração ofertada o que levou a maior taxa de eficiência protéica, em vista da maior capacidade dos peixes em redirecionar as proteínas para o crescimento. Como consequência, o GP, CA e CC também foram maiores, refletindo o efeito benéfico da prática do exercício nesta velocidade. O mesmo fato é relatado em matrinxãs exercitados a 1CC/seg., os quais apresentam melhores taxas de CAA evidenciando o papel do exercício na utilização dos nutrientes da dieta e permitindo maior crescimento no mesmo período (HACKBARTH & MORAES, 2006).

Contrariamente ao que se discutiu acima, peixes expostos a condições extenuantes podem sofrer uma série de alterações metabólicas que comprometem seu crescimento (MILLIGAN, 1996; DAVISON, 1997; YOGATA & OKU, 2000; KIEFFER, et al., 2001; AZUMA et al., 2002; HERNÁNDEZ, et al, 2002). Várias espécies quando exercitadas em velocidades exaustivas apresentam custo energético muito alto, o que limita a disponibilidade protéica para o crescimento levando os animais ao uso de aminoácidos para suprir sua demanda energética (YOUNG & CECH Jr., 1994a; MOYES & WEST, 1995; FORSTER & OGATA, 1996; WEBER & HAMAN, 1996; DAVISON, 1997; WOOD, 2001; OGATA & OKU, 2000; RICHARDS et al., 2002). Os dados de desempenho encontrados no

grupo 3CC foram similares ao grupo não-exercitado e poderiam ser reflexos de velocidade de nado excessiva para o pacu. Os parâmetros de crescimento deste grupo, em comparação com os demais grupos exercitados, também não mostraram ganhos no desempenho zootécnico, o que reforça a hipótese de velocidade excessiva. O consumo diário por peixe neste grupo foi o menor apresentado (0,81 gramas), entretanto sua taxa de CAA foi mais alta, próxima ao do controle, o que poderia indicar inibição do consumo e ineficiência na conversão do alimento ingerido, refletindo diretamente em pouco crescimento. Provavelmente, a alta velocidade de nado pode ter prejudicado o crescimento devido ao estresse ocasionado pela atividade excessiva, fato esse já relatado para outras espécies (DAVISON, 1997; OGATA & OKU, 2000; KIEFFER, et al., 2001; HERNÁNDEZ, et al., 2002).

### *Comportamento*

Outro fator modificado com a prática do exercício é o comportamento. Dentre as principais mudanças comportamentais ocasionadas pela prática de atividade moderada estão a melhor orientação na corrente, melhora do convívio social, diminuição do nível de dominância, da frequência de ataques agressivos e do nível de estresse (TOTLAND et al., 1987; CHRISTIANSEN & JOBLING, 1990; JOBLING, 1994; DAVISON, 1997). Os salmonídeos são bem estudados quanto às respostas de comportamento em decorrência de diferentes protocolos de natação, e segundo Blake (2004), quando submetidos a velocidades moderadas ocorrem tanto mudanças comportamentais como modificações no modo de natação: geralmente eles se orientam e começam a nadar contra a correnteza, formando cardumes.

Apesar de o comportamento não ter sido explicitamente estudado neste trabalho, observações subjetivas sobre os peixes durante o período experimental, mostraram mudanças de comportamento nos grupos exercitados, principalmente daqueles que nadaram a 1 e 2CC/seg. Foi possível observar que todos os grupos exercitados nadavam sempre em cardume, sinal este de diminuição da agressividade (TOTLAND et al., 1987; JOBLING, 1994; CHRISTIANSEN & JOBLING, 1990; DAVISON, 1997; GRÜNBAUM et al., 2008). Os mesmos também se mostravam vorazes em consumir o alimento, sendo que todos os peixes tinham acesso ao mesmo, não se restringindo aos peixes dominantes. Até mesmo o grupo que não conseguiu atingir taxas de crescimento maiores que o controle (3CC), mostrou-se mais ativo durante a alimentação. Contrariamente, os peixes em água parada não vinham buscar o alimento na mesma hora em que a ração era ofertada.

Brännäs (2009), ao estudar a relação entre comportamento e exercício em “Arctic charr” (*Salvelinus alpinus L.*), afirma que a ração dentro de tanque com correnteza é distribuída mais uniformemente, o que diminui a frequência de ataques. Grümbaum et al. (2008) perceberam que esta mesma espécie, ao se exercitar em velocidade moderada, exibe efeito cardume, o que diminui a frequência de ataques e a agressividade. Além disso, os dados de crescimento em pacu, no grupo 2CC, bem como a taxa de CAA diminuída, podem ser indicativos de mudança comportamental, visto que os melhores valores de crescimento foram obtidos neste grupo. A mesma mudança de comportamento foi relatada em matrinxãs (HACKBARTH & MORAES, 2006), ao se constatar que a prática de exercício a 1CC/seg. diminui o estresse dentro das caixas e permite o maior crescimento de todos os peixes. Desta forma, podemos concordar com a literatura atual ao afirmar que quanto menor a interação agressiva menor os custos energéticos, permitindo assim maior crescimento (CHRISTIANSEN & JOBLING, 1990; HALLER, 1991a; JORGENSEN & JOBLING, 1993; BRÄNNÄS, 2009).

### *Hematologia*

Através dos parâmetros hematológicos pode-se inferir a condição de saúde do animal submetido ao exercício, visto que, mesmo moderado, essa prática acarreta uma série de modificações no fluxo sanguíneo, no diâmetro das veias e nas funções de oxigenação e respiração (SATCHELL, 1991, SÄNGER & PÖTSCHER, 2000). Os valores aumentados de Ht e Hb<sub>total</sub> no grupo exercitado a 2CC/seg. podem estar relacionados a uma quantidade maior de Hb necessária ao carregamento de oxigênio e atendimento da demanda energética imposta pelo exercício. Em relação aos grupos exercitados, os maiores valores de Ht apresentados pelo grupo 2CC têm diversas explicações possíveis: 1) maior concentração de Hb, 2) maior recrutamento de eritrócitos armazenados no baço e liberados por contração esplênica, 3) intumescimento dos eritrócitos, ou ainda 4) hemoconcentração ou hemodiluição (FRANKLIN et al., 1993). Como não houve aumento na quantidade de células vermelhas (CE) e houve aumento de Hb, é de se esperar que o valor aumentado de Ht esteja diretamente relacionado com o aumento do VCM.

O VCM é usado para indicar o estado osmorregulatório do animal e está diretamente envolvido com a dinâmica cardíaca e com o fluxo sanguíneo (HOUSTON, 1990). Seu valor aumentado no grupo 2CC pode ser indicativo de aumento das funções cardíacas e do fluxo sanguíneo para lidar com a demanda energética imposta pela atividade. O HCM é a média de hemoglobina de cada eritrócito e demonstra como está a função respiratória

(HOUSTON, 1990). O aumento do HCM nos peixes do grupo 2CC pode indicar adaptação respiratória também para lidar com o aumento da demanda imposta pela atividade. Maior consumo de carboidrato e lipídeo para manutenção energética exige maiores quantidades de oxigênio, o que também explicaria o aumento de hemoglobina e das funções cardíacas e respiratórias no grupo 2CC. SÄNGER & PÖTSCHER (2000) afirmam que o exercício aeróbico aumenta a capilarização do tecido muscular trazendo conseqüências diretas ao organismo, aumentando a capacidade de transporte de oxigênio, lipídeos e açúcares, bem como promovendo remoção mais rápida de resíduos metabólicos nos peixes. Talvez por conta destas melhoras fisiológicas, os peixes exercitados a 2CC/seg. apresentaram as alterações hematológicas descritas como adaptação à atividade, e isto refletiu diretamente no melhor crescimento.

### *Íons*

Experimentos anteriores têm mostrado que os distúrbios hidroeletrólíticos geralmente apresentam-se em peixes submetidos a exercícios do tipo explosão e submáximos, onde o animal é obrigado a nadar contra grande correnteza (WOOD, 1991; POSTLETHWAITE & MCDONALD, 1995; HOLK & LYKKEBOE, 1998). Tais alterações são diretamente proporcionais à intensidade do exercício e têm como objetivo promover o ajuste cardiovascular, sobretudo a vasodilatação nas brânquias a qual está relacionada ao aumento da demanda de oxigênio devido à atividade imposta (BUTLER et al., 1986). Por isso, é de se esperar que o exercício aeróbico não promova alterações iônicas prejudiciais ao organismo. Matrinxãs submetidos ao exercício mostram que a atividade aeróbica não causa mudanças iônicas significativas que causem prejuízos homeostáticos aos animais (HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007).

A diminuição dos teores de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  nos três grupos exercitados pode ser um indicativo de que independentemente da velocidade de exercício houve aumento na entrada de água através das brânquias, levando à maior excreção renal e conseqüentemente, maior mobilização dos íons (HOCHACHKA, 1985; WOOD, 1991). Todavia, essa possibilidade é incompatível com o aumento dos teores de proteína plasmática. Outro fator a ser considerado é que a maior aumentada de oxigênio causada por maior atividade aumenta a superfície funcional das brânquias permitindo assim maior saída dos íons (WOOD, 1991; POSTLETHWAITE & MCDONALD, 1995; HOLK & LYKKEBOE, 1998; KNUDSEN & JENSEN, 1998). Essa saída de íons poderia ser acompanhada da perda de água e explicaria o aumento da concentração de proteínas plasmáticas. Essa perda é plausível em condições de

níveis de cortisol acima do basal, como esperado em situações de exercício extenuante, e não aeróbico. Segundo CECH Jr. et al. (2004), o exercício exaustivo aumenta os níveis circulantes de cortisol e adrenalina plasmático, da osmolalidade e dos íons plasmáticos em “coho salmo”, como forma de lidar com o excesso de prótons excretados, compensando assim uma possível acidose. Por outro lado, matrinxã exercitado aerobicamente por dois meses consecutivos apresenta valores de cortisol semelhantes a indivíduos não-exercitados (MORAES et al., 2009). Este fato é altamente sugestível de que a prática de exercício aeróbico não eleva o nível de cortisol, particularmente nesta espécie, favorecendo a ideia de que este tipo de atividade não seja um evento estressor. Outra possibilidade ainda seria a retirada de íons, principalmente  $\text{Na}^+$ , para interior dos eritrócitos, acompanhada da entrada de água. Isso levaria a um aumento do VCM e uma aumento da concentração de proteína plasmática, dados observados no presente experimento.

#### *Metabolismo intermediário e enzimas do metabolismo*

As respostas metabólicas podem indicar os caminhos bioquímicos e fisiológicos empregados pelos peixes ao se exercitarem em diferentes velocidades de natação. Avaliações do metabolismo intermediário permitiram entender como o metabolismo dos pacus exercitados se adaptou frente a este cenário de atividade física. Sabe-se que quando realizada sem interrupções, a atividade aeróbica reorganiza o metabolismo poupando gastos extras provenientes do exercício, permitindo maior síntese protéica e aumentando o catabolismo lipídico e glicídico, o que favorece o crescimento (MOYES & WEST, 1995; DAVISON, 1997; WOOD, 2001; RICHARDS et al., 2002; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007; MORAES et al., 2009).

Matrinxãs exercitados a 1CC/seg. apresentam maior capacidade de oxidar lipídeos e carboidratos, com taxa catabólica superior a 40 e 15 %, respectivamente, o que mostra que esta espécie, ao se exercitar, apresenta preferência por lipólise seguida por glicólise (HACKBARTH & MORAES, 2006). Outro trabalho com esta espécie mostra aumento de 30 % de síntese de proteína muscular quando os peixes são exercitados entre 1 e 1,5CC/seg. (ARBELÁEZ-ROJAS, 2007). Acima destas velocidades, os matrinxãs mostram maior mobilização de aminoácidos como fonte de combustível para atender as demandas energéticas, sugerindo que velocidades de natação muito altas provocam efeitos danosos no metabolismo e conseqüentemente no crescimento de matrinxã (ARBELÁEZ-ROJAS, 2007).

Ao analisar primeiramente cada situação de exercício e controle, notou-se de uma maneira geral, preferência metabólica similar: todos os peixes exercitados aumentaram a

oxidação de açúcares e lipídeos para manutenção energética, com queda de vários intermediários glicolíticos e lipolíticos nos diferentes tecidos avaliados. Todavia, no grupo que se exercitou a velocidade mais alta, também houve oxidação protéica suprindo assim, a necessidade de combustível energético. Quando se comparou apenas os grupos exercitados (1CC, 2CC e 3CC), ficou evidente que à medida que a velocidade de nado aumentou as reservas de glicogênio diminuíram, a glicólise e a lipólise se acentuaram, ocorreu neoglicogênese e algum grau de proteólise. A atividade da GDH no MB foi mais alta no grupo 2CC, tanto em comparação ao controle como aos demais grupos exercitados, refletindo algum grau de desaminação como tentativa de manter os níveis glicêmicos sem, no entanto, prejudicar o anabolismo protéico.

Apesar de alguns estudos 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), neste trabalho ficou clara a participação do metabolismo glicolítico durante a prática da atividade, independente da velocidade de natação. O mesmo é visto em trabalhos com matrinxã exercitado à velocidade ideal, onde a glicólise mostra-se maior do que nos demais grupos (HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007).

As mobilizações de açúcares e lipídeos decorrentes da atividade aeróbica vêm sendo discutidas como um dos grandes benefícios desta prática para diversas espécies de peixes, pois é possível que durante o exercício de longa duração a contribuição destes metabólitos se torne maior (YOUNG & CECH Jr., 1994a; MOYES & WEST, 1995; FORSTER & OGATA, 1996; WEBER & HAMAN, 1996; DAVISON, 1997; OGATA & OKU, 2000; RICHARDS et al., 2002; WOOD, 2001, HACKBARTH & MORAES, 2006, ARBELÁEZ-ROJAS, 2007). Este aumento na utilização de fontes não-protéicas pode estar ligado ao maior crescimento e ao efeito poupador de proteína, pois o organismo se reorganiza evitando gastos energéticos desnecessários, redirecionando as proteínas em favor do crescimento (MOYES & WEST, 1995; DAVISON, 1997; WOOD, 2001; RICHARDS et al., 2002; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007). Sabe-se que carboidratos e lipídeos podem ser utilizados durante o exercício, mas sua intensidade, a disponibilidade de oxigênio e a capacidade da espécie em mobilizar os ácidos graxos estão relacionadas diretamente com a possibilidade do peixe em utilizar mais ou menos estas fontes energéticas (van den THILLART & van RAAJI, 1995; WEBER & HAMAN, 1996; FORSTER & OGATA, 1996; BERNARD et al., 1999; YOGATA & OKU, 2000; OGATA & OKU, 2000). Da mesma forma, a oxidação dos lipídeos contribui para o metabolismo

energético de muitos tecidos, inclusive para os músculos, entretanto, algumas espécies podem mobilizar lipídeos mais que outras (van den THILLART & van RAAJI, 1995; WEBER & HAMAN, 1996; FORSTER & OGATA, 1996; BERNARD et al., 1999; YOGATA & OKU, 2000; OGATA & OKU, 2000).

*Velocidade de ICC/seg.*

Os quadros metabólicos apresentados pelo grupo exercitado a 1CC/seg. comparado com o grupo controle, sugere que essa atividade estimulou a glicólise, evidenciada pela queda de glicose, piruvato e lactato em todos os tecidos avaliados. O MV, além de glicólise, também realizou glicogenólise, sugerindo que as fontes de carboidratos são importantes para a manutenção energética deste tecido durante a prática de exercício. A queda de TG no MV também mostrou a importância da oxidação dos ácidos graxos em decorrência da atividade imposta. Ocorreu neoglicogênese a partir de lactato e aminoácidos no fígado, evidenciada pela menor concentração destes metabólitos, e aumento da concentração de amônia. Em contrapartida, o MB realizou glicogênese, o que pôde ser evidenciado através do aumento do teor de glicogênio. Tal fato poderia indicar um papel menos relevante dos açúcares como suprimento energético neste tecido, já que os mesmos estão sendo armazenados. Neste caso, a manutenção energética deve ter acontecido por outra fonte, como por exemplo, lipídeos ou proteínas. Como o MB realizou lipólise, mostrada pela queda acentuada de TG e aumento de AGL, possivelmente ele utilizou os lipídeos como combustível. A queda de AGL no fígado poderia indicar também maior exportação de ácidos graxos para os tecidos musculares, visto sua importância em atender a demanda energética.

Apesar de se acreditar que o papel dos carboidratos aumenta apenas quando os peixes se exercitam a velocidades submáximas e máximas, onde há grande consumo de glicogênio (JOBILING, 1994; van den THILLART & van RAAJI, 1995; WEBER & HAMAN, 1996; SUGITA et al., 2000; SUGITA et al., 2001; RICHARDS et al., 2002), ficou claro que em baixa velocidade também ocorreu aumento da participação do catabolismo glicídico para sustentação energética, pelo menos em MV. Maior oxidação de carboidratos para atender a demanda energética também é relatada em matrinxã sob exercício a 1CC/seg. onde há diminuição da concentração de açúcares totais e do glicogênio dos músculos branco e vermelho, e do glicogênio hepático (HACKBARTH & MORAES, 2006). Truta arco-íris e matrinxã também mostram maior atividade glicolítica durante o exercício moderado para poupar proteínas (DAVISON, 1997; KIEFFER et al., 1998; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007). Carpa e truta arco-íris também mobilizam suas reservas de glicogênio ao nadar a 30 e 60% da

$U_{crit}$ , respectivamente (MOYES & WEST, 1995; RICHARDS et al., 2002), mostrando maior atividade glicolítica ao nadar aerobicamente. MOON & FOSTER (1995), por sua vez, acreditam que truta exercitada aumenta a utilização da glicose exógena ao mesmo tempo em que conserva as reservas endógenas de açúcar, modificando a densidade capilar muscular e aumentando a atividade das enzimas envolvidas no metabolismo de açúcares. Isto levaria a maior eficiência na utilização dos diferentes substratos energéticos durante a prática de exercício, e não simplesmente uma preferência metabólica.

O pacu também utilizou os lipídeos com eficiência ao realizar o exercício imposto neste trabalho. Sabe-se que algumas espécies, ao realizar exercício aeróbico, utilizam os lipídeos de forma continuada, o que pode favorecer o anabolismo protéico (DAVISON, 1997; YOGATA & OKU, 2000). Matrinxãs exercitados a 1CC/seg. apresentaram mobilização dos lipídeos totais, diminuição de TG e aumento de AGL no músculo branco, sinais evidentes de utilização de ácidos graxos para manutenção energética (HACKBARTH & MORAES, 2006). “Red sea bream” e “japanese flounder” após se exercitarem por um mês e dois meses, respectivamente, a 80% da  $U_{crit}$ , também diminuem seus estoques lipídicos (FORSTER & OGATA, 1996; OGATA & OKU, 2000). Todavia, truta arco-íris exercitada a 1CC/seg. não mobiliza TG e AGL além dos valores de repouso (BERNARD et al, 1999) e “striped bass” apresenta aumento dos estoques lipídicos após se exercitar a 1,5 – 2,4CC/seg. e 2,4 – 3,6CC/seg., o que poderia ser explicado pela capacidade desta espécie em acumular gordura (YOUNG & CECH Jr., 1994a).

O aumento de proteínas e aminoácidos no plasma e no MV de pacu pode ser um indicativo de anabolismo protéico, pois houve mobilização destes metabólitos para os tecidos musculares. Mesmo que este grupo (1CC) não tenha apresentado índices de crescimento maiores que o controle, os valores encontrados esboçam ganhos efetivos no crescimento, o que pode ser traduzido como melhor aproveitamento de fontes não-protéicas para uso energético ao realizar exercício aeróbico moderado, poupando as proteínas para o crescimento. Uma vez que essa espécie possui habilidade para utilizar carboidratos e lipídeos como combustível energético, as proteínas podem ser direcionadas para o crescimento, e isto é o que favorece taxas de crescimento maiores (DAVISON, 1997; WOOD, 2001). Além da organização do metabolismo durante o exercício, o pacu, por ser uma espécie onívora, metaboliza melhor carboidratos e lipídeos, utilizando-os de maneira efetiva (ABIMORAD et al., 2007). Possivelmente, estes dois fatores em conjunto contribuem para o melhor aproveitamento e utilização de fontes não-protéicas.

Truta arco-íris exercitada aerobicamente também apresenta maior consumo de carboidratos e lipídeos, diminuindo o uso de proteínas (ALSOP & WOOD, 1997; KIEFFER et al., 1998). Wood (2001) afirma que, em peixes que se exercitam 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. Entretanto, o exercício aeróbico parece favorecer taxas de crescimento maiores desde que a velocidade de natação seja adequada para a espécie (OGATA & OKU, 2000, ARBELÁEZ-ROJAS, 2007), caso contrário o animal pode sofrer prejuízos.

Os dados deste trabalho também mostraram que, ao nadar a 1CC/seg., o pacu realizou exercício sem preferência metabólica fermentativa, visto as diminuições na concentração de lactato no MB, plasma e fígado. A atividade da LDH diminuída no MV reforça o menor quadro fermentativo neste tecido, sabidamente conhecido como mais aeróbico que o MB (MOYES & WEST, 1995). O exercício aeróbico parece aumentar o fluxo sanguíneo do MV, o que aumenta sua capacidade aeróbica (MOON & FOSTER, 1995) e, por conseguinte, diminui sua dependência da fermentação láctica. A utilização dos carboidratos via oxidação aeróbica ao invés da fermentação láctica, também é observada em matrinxã exercitada a 1CC/seg., quando ocorre diminuição na concentração de lactato e da atividade da LDH no MB (HACKBARTH & MORAES, 2006). Como o papel do lactato é mais evidente em exercícios submáximos e explosivos, e durante a transição do repouso para o exercício (WEBER & HAMAN, 1996), podemos dizer que o exercício de 1CC/seg. não foi extenuante para pacu. Além do mais, é provável que as fibras do músculo branco do tipo IIA, que são oxidativas (LUTHER et al., 1995) tenham trabalhado utilizando preferencialmente a energia aeróbica.

As demais atividades enzimáticas avaliadas reforçam os caminhos metabólicos descritos anteriormente. A MDH ensaiada neste trabalho pode ser tanto oriunda do citosol como da mitocôndria, visto que durante o processo de obtenção da amostra pode ocorrer ruptura mitocondrial (BERGMEYER, 1983 apud AGUIAR et al., 2004). Entretanto, tanto a atividade citosólica quanto a mitocondrial está diretamente envolvida como o metabolismo oxidativo. Sendo assim, a atividade da MDH aumentada no MB indicaria maior atividade do ciclo de Krebs, tanto em decorrência do aumento da atividade glicolítica como da atividade lipolítica neste tecido.

A atividade de MDH está ainda ligada diretamente à atividade neoglicogênica, quer em seu papel mitocondrial quer citoplasmático. A diminuição da atividade de MDH no MV poderia ser atribuída mais a redução da função neoglicogênica do que das atividades

oxidativas. É sabido que o MV apresenta um conteúdo de glicogênio menor que o MB assim como de enzimas da via glicolítica, atividade ATPásica e reciclagem de  $\text{Ca}^{2+}$ . Além disso, a vascularização e o teor de mitocôndrias são muito maiores que no MB, o que faz dele um tecido adaptado à atividade de longa duração, ou ao exercício sustentado, apresentando grande resistência à fadiga. Assim, o aumento da demanda catabólica do MV reduziria sua atividade gliconeogênica e conseqüentemente a atividade de MDH, principalmente citosólica.

As atividades da GDH e da ASAT apresentaram-se diminuídas no MV, reforçando a menor participação dos substratos nitrogenados como combustíveis energéticos neste tecido. Desta forma, há conservação das proteínas e aminoácidos neste tecido permitindo-os serem incorporados ao invés de oxidados. Considerando-se o papel oxidativo da GDH seria de esperar que o aumento da demanda catabólica do MV levasse a um aumento da GDH. Entretanto, tal qual a GDH essa resposta não foi verificada, o que fala em favor de uma preponderância do papel dessas enzimas na neoglicogênese em MV. Truta arco-íris ao nadar entre 55-85% da  $U_{\text{crit}}$ , apresenta resultados similares, com o principal combustível energético oriundo da oxidação lipídica, seguida por carboidratos e só então proteínas (RICHARDS et al., 2002). A atividade da GDH de MB de matrinxã exercitado é 55% menor, o que sugere redução do catabolismo de aminoácidos neste tecido sob exercício aeróbico (HACKBARTH & MORAES, 2006).

#### *Velocidade de 2CC/seg.*

A redução dos teores de glicose, piruvato e lactato no grupo 2CC pode ser atribuída à atividade glicolítica aumentada em todos os tecidos. A não alteração na concentração de glicose no plasma seria esperada visto seu papel de transportador deste intermediário entre os tecidos. O perfil metabólico do plasma diz respeito ao seu papel de transporte dos diversos intermediários metabólicos entre os tecidos, refletindo os ajustes bioquímicos frente às condições impostas. O MV de pacu aumentou a atividade glicogenolítica, mostrando mais uma vez o papel de fontes não-protéicas como mantenedoras de energia neste tecido (DAVISON, 1997). Entretanto, MOON & FOSTER (1995) admitem que o MV oxida preferencialmente os ácidos graxos enquanto que o MB, o glicogênio, o que contraria os dados deste trabalho, pois a participação dos açúcares como combustíveis energéticos para o MV foi pronunciada, assim como dos lipídeos no MB. Este mesmo tecido aumentou a atividade glicogênica, mostrando que este tecido, nas condições desse trabalho, também deve usar outra fonte energética primária como combustível energético, poupando assim glicogênio. A síntese de glicogênio muscular é praticamente regulada pelos níveis de

glicose 6-P e  $P_i$  (SHULMAN et al., 1995; SHULMAN & ROTHMAN, 1996; HOWLETT et al., 1998). Admitindo-se que os lipídeos estejam sendo usados como fonte primária de energia, é de se esperar que a glicose possa ser convertida em G-6P e ativar assim a glicogênio sintase sendo então desviada para a síntese de glicogênio. Observou-se neoglicogênese a partir de lactato e de aminoácidos no tecido hepático, mostrada pela diminuição dos teores destes intermediários e aumento da concentração de amônia neste tecido. A síntese de glicogênio hepático pode ser estimulada pelos níveis de cortisol. Admitindo-se que esses níveis estejam acima dos valores basais em função do exercício, pode-se entender não só a neoglicogênese hepática, mas também a redução de íons  $Na^+$  e  $K^+$  discutido anteriormente.

Similarmente ao que aconteceu no grupo 1CC, glicogenólise, glicólise e neoglicogênese também ocorreram no grupo 2CC, mostrando a plena utilização destas vias como mantenedoras da glicemia e das exigências oxidativas energéticas, favorecendo o efeito poupador de proteínas. Como no presente trabalho, Moyes & West (1995) e Richards et al. (2002) também mostram mobilização das reservas de glicogênio de músculo vermelho em carpa e truta arco-íris ao nadar a 30 e 60% da  $U_{crit}$ , respectivamente.

No MB houve lipólise evidenciada pela redução dos teores de TG e aumento de AGL. Além disso, o MV e o fígado apresentaram papel oxidativo dos lipídeos tendo em vista a redução de TG e AGL, respectivamente. Alguns trabalhos afirmam que, em peixes exercitados, os lipídeos que estão estocados em sua maioria como TG 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). 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). Em matrinxãs, que também apresentam aumento da oxidação lipídica, admite-se que haja adaptação para oxidar lipídeos por ser espécie reofílica e necessitar manter altas taxas de crescimento (HACKBARTH & MORAES, 2006). Na natureza, parece que o exercício também estimula esta capacidade durante a migração (FORSTER & OGATA, 1996; OGATA & OKU, 2000). Em “sockeye salmon”, por exemplo, durante a migração, os lipídeos são os maiores contribuintes energéticos, sendo que os músculos locomotores consomem cerca de 75-95% da oxidação lipídica (MAGNONI et al., 2006).

Além de maior crescimento em relação ao grupo 1CC, o grupo 2CC também apresentou aumento dos teores de proteínas e AAL no MV, e aumento da concentração de aminoácidos no MB, provavelmente oriundos do plasma onde também se observou aumento

de proteína. Matrinxã exercitado a 1CC/seg. também mostra aumento dos teores de AAL e de proteína no MB, o que leva a maior taxa de crescimento em comparação ao grupo não-exercitado, pois há menor utilização de proteínas como combustível energético (HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007). As atividades diminuídas de ALAT de MB e ASAT de MV indicariam menor necessidade destes tecidos em mobilizar compostos nitrogenados para manutenção dos níveis glicêmicos.

Os dados encontrados para pacu e matrinxã contrariam as ideias clássicas de maior preferência pelo catabolismo protéico em situações de exercício, ao invés de maior utilização de carboidratos e lipídeos (JÜRS & BASTROP, 1995; WEBER & HAMAN, 1996). Considerando o fato de que matrinxã e pacu utilizam carboidratos e lipídeos de maneira mais eficaz do que a descrita na literatura, pode-se começar admitir que peixes de água doce de regiões tropicais não apresentariam as mesmas respostas metabólicas que os de clima temperado frente ao exercício aeróbico, quer seja pelo ambiente em que vivem (temperatura, concentração de íons, densidade etc.), quer pelo hábito alimentar que lhes confere maior capacidade natural em metabolizar fontes não-protéicas.

Ao nadar a 2CC/seg. os pacus também apresentaram preferência metabólica aeróbica, não fazendo uso significativo de anaerobiose para obtenção de energia. As concentrações de lactato diminuídas em todos os tecidos reforçam essa suposição. A atividade da LDH diminuída no MV refletiu igualmente a preferência desse tecido pelo metabolismo aeróbico; um tecido muito mais oxidativo que o MB (MOYES & WEST, 1995). Da mesma forma, o aumento da atividade da MDH no MB sugere uma preferência oxidativa, tal como discutido anteriormente. Esta proposição é reforçada pela disponibilização de TG, que apresentam queda de 75% no seu conteúdo, e pelo aumento de AGL em 31%. Sendo assim, a atividade de ambas as enzimas sustentam um quadro preferencialmente oxidativo. Em matrinxã, o lactato também não exerce papel tão importante como gerador de energia (HACKBARTH & MORAES, 2006) e os autores argumentam que a maior atividade aeróbica pode ter conferido à espécie a capacidade de usar o lactato como fonte mantenedora dos níveis adequados de glicemia sem, entretanto, promover aumento da atividade anaeróbica.

#### *Velocidade de 3CC/seg.*

Tal como descrito e discutido anteriormente, em resposta ao exercício, os peixes deste grupo aumentaram a atividade glicolítica em todos os tecidos. Isso fica evidente pela diminuição da concentração dos intermediários glicolíticos (exceto piruvato e glicose no fígado). Entretanto, nesta velocidade de nado, além do MV, o fígado também realizou

glicogenólise. O MB não fez glicogênese como se observou nas outras velocidades, o que faz admitir que o exercício nesta velocidade despendeu muito mais energia, sendo necessário utilizar todas as fontes energéticas disponíveis. Diferentemente dos peixes exercitados a 1CC/seg. e 2CC/seg. este grupo apresentou aumento do teor de glicose plasmática, o que pode sugerir alta demanda energética, com grande mobilização de glicose para manter tanto os níveis glicêmicos plasmáticos, como para atender à demanda imposta pela atividade nos demais tecidos. Além disso, essa velocidade pode ter sido suficientemente alta para elevar os níveis de corticosteróides, aumentando a glicemia. A diminuição de lactato e de AAL hepático sugere gliconeogênese. O aumento na concentração de amônia neste tecido sugere algum grau de proteólise, certamente como consequência de gliconeogênese.

Se o papel dos carboidratos aumenta quando os peixes se exercitam a velocidades submáximas e máximas, onde há grande consumo de glicogênio (JOBBLING, 1994; van den THILLART & van RAAJI, 1995; WEBER & HAMAN, 1996), isto explicaria o teor aumentado de glicose plasmática durante a atividade à 3CC/seg., já que os açúcares são importantes para manutenção energética em altas velocidades. Carpa exercitada até a exaustão mostra preferência metabólica por carboidratos através do aumento da glicólise; mesmo após três horas de repouso, elas continuam a fazer gliconeogênese para suprir a glicose e restaurar os estoques de glicogênio e ATP (SUGITA et al., 2001). Em outro trabalho, carpa exercitada por 20 segundos também apresenta queda do teor de glicogênio muscular, o qual permanece baixo mesmo após 45 minutos de interrupção da atividade (SUGITA et al., 2000). Dourado (*Salminus maxillosus*) exercitado exaustivamente por 15 minutos apresenta sinais de fermentação no tecido muscular, com aumento da concentração plasmática de lactato e glicose, aumento de lactato e diminuição de glicose e de glicogênio no MB (MORAES et al., 2004). Truta arco-íris submetida a cinco minutos de exercício exaustivo oxida carboidratos com o objetivo de manter a produção de ATP (RICHARDS et al., 2002). Contudo, “zebrafish” (*Danio rerio*) exercitado por quatro semanas a uma velocidade de 2 a 5CC/seg. não demonstra maior utilização da via glicolítica, talvez pelo fato de ser esta velocidade apenas 25-30% da velocidade máxima que a espécie pode atingir (McCLELLAND et al., 2006).

Este trabalho mostrou, entretanto, que pacu, independente da velocidade de natação, utiliza amplamente os açúcares, o que mostra a participação deste metabólito independentemente do tipo de exercício, contrariando a opinião de maior participação dos carboidratos somente em velocidades mais elevadas. O mesmo é mostrado em matrinxã exercitado a velocidades moderadas, onde há maior participação dos carboidratos como

combustível energético (HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007). Além do mais, a glicogenólise do MV em todas as velocidades no presente trabalho, sustenta a afirmação de que o exercício aeróbico também foi mantido pela oxidação de açúcares neste tecido.

Os lipídeos foram oxidados em larga escala em pacu exercitado a 3CC/seg., sendo que seu papel parece estar aumentado no MV, com queda do teor de TG e AGL. Os valores de TG e AGL diminuídos no plasma também indicam lipólise, assim como a diminuição de TG no MB. “Red sea bream” e “japanese flounder” após exercitados por um e dois meses, respectivamente, a 80% da Ucrit, também apresentam estoques lipídicos diminuídos (FORSTER & OGATA, 1996; OGATA & OKU, 2000), permitindo-nos inferir que a participação dos lipídeos se dá tanto na realização de atividade moderada como de maior intensidade de longa duração. O mesmo padrão observado neste trabalho com pacu exercitado é relatado em matrinxã (MORAES et al., 2009).

Apesar do aumento de AAL e de proteína no MV, e de AAL no MV, a síntese protéica mostrou-se similar ao dos peixes do grupo controle, refletindo em GP e TEP similares ao grupo não exercitado. Os aumentos de amônia no MV e no plasma são indicativos de desaminação. Ou seja, o efeito poupador de proteína observado anteriormente não ficou evidente nos peixes exercitados a esta velocidade, sendo que a oxidação protéica também foi necessária para atender à demanda energética. Sabe-se que quando o exercício ocorre em velocidades máximas e sub-máximas, o uso das proteínas para atender a demanda metabólica é maior (JÜRS & BASTROP, 1995; van den THILLART & van RAAJI, 1995). Entretanto, o catabolismo protéico observado não foi superior ao apresentado pelo grupo não-exercitado, o que sugere que a utilização das proteínas e aminoácidos tenha se dado para atender a neoglicogênese. Em outras palavras, poder-se-ia dizer que a velocidade 3CC/seg. embora não tenha favorecido o crescimento, também não ocasionou prejuízos à espécie.

Apesar de a atividade de 3CC/seg. parecer excessiva à espécie, o metabolismo aeróbico continuou predominando. A diminuição da atividade da LDH no MV mais uma vez destaca a menor relevância da fermentação neste tecido, e a atividade da MDH aumentada no MB destaca a participação do ciclo de Krebs na produção de energia neste tecido e nesta condição. Como já foi discutido anteriormente, é provável que o papel do lactato seja maior na neoglicogênese do que na fermentação. É provável ainda que pacus exercitados tenham maior capacidade de usar o lactato como precursor de glicose ainda que em condições de aerobiose, o que explicaria as reduções de lactato tissular. A menor atividade da MDH neste

grupo poderia estar relacionada ao menor quadro neoglicogênico deste tecido, conforme já discutido.

O aumento da atividade da ALAT e a diminuição da ASAT no MV parecem ser eventos contraditórios, visto que ambas estão envolvidas no metabolismo protéico, basicamente na transaminação de aminoácidos. Seria aparentemente lógico esperar um padrão de resposta semelhante dessas transaminases. Entretanto, o aumento da atividade da ALAT, duas vezes mais que no grupo não exercitado, deve ter uma relação maior com o metabolismo da alanina e da excreção da amônia, ao passo que a redução da atividade da ASAT, apenas 0,25 vezes, relaciona-se particularmente ao metabolismo oxidativo. Assim a ALAT estaria envolvida com um número maior de aminoácidos transaminados, talvez em decorrência do exercício. Levando-se em conta que a transaminação nos tecidos visa transferir grupamentos amino de vários aminoácidos para preferencialmente piruvato ou oxaloacetato, pode ser que o aumento da atividade da ALAT não reflita diretamente em oxidação de aminoácidos. A desaminação em si, só ocorre no fígado, onde o grupamento amino é transformado em amônia. É provável que o aumento de ALAT observado em MV de pacu exercitado a 3CC/seg. esteja relacionado basicamente à neoglicogênese, visto que o ciclo piruvato-alanina, presente em tecidos musculares, disponibilizaria piruvato no fígado, posteriormente convertido em glicose para ser utilizada como combustível pelo músculo, atendendo assim a demanda imposta pelo exercício.

#### *Comparação entre os grupos exercitados*

De forma similar ao que já havia sido discutido para os grupos individualmente, à medida que a velocidade se tornou mais intensa houve exacerbação do quadro neoglicogênico no tecido hepático: MB e MV utilizaram as reservas de glicogênio, e o teor de lactato aumentou no MB, o que indicaria início de quadro fermentação láctica. Mesmo assim, notou-se que a preferência ainda foi oxidativa, pois os demais tecidos avaliados não apresentaram aumento do teor de lactato nem atividade da LDH diferenciada. Inclusive, os valores mais baixos de glicose e o lactato no MV do grupo 2CC reforçariam maior oxidação de açúcares a velocidades mais altas, sem necessariamente participação da fermentação láctica. A lipólise foi mais evidente no grupo que foi submetido à maior velocidade, com redução dos teores de TG e AGL no plasma, de AGL nos MB e MV, e aumento dos níveis de AGL no fígado. É provável que a síntese de proteína nos músculos só tenha ocorrido nas velocidades mais baixas, visto que o exercício mais intenso aumentou o catabolismo, inclusive com energia advinda da oxidação de proteínas.

A diminuição de proteínas no plasma observadas no grupo 2CC, poderia estar relacionada à possível perda de água, conforme discutido acima. A hiperamonemia justificaria o aumento da amônia hepática, em consequência do redirecionamento dos aminoácidos para processos catabólicos. Contudo, a diminuição das atividades enzimáticas ALAT e ASAT no MB sugere menor participação dos aminoácidos com papel calórico, estando mais direcionados ao processo neoglicogênico sem prejuízos do crescimento. Isto justificaria o maior crescimento observado no grupo 2CC. Contrariamente, a atividade da GDH no MB aumentou neste mesmo grupo, o que sugere preferência oxidativa neste tecido. A atividade da MDH aumentada no MV, apenas no grupo 2CC, sugere maior oxidação via ciclo de Krebs, dos intermediários glicolíticos e lipolíticos. A alta atividade da ALAT e GDH neste tecido, no grupo exercitado em maior velocidade, sugere neoglicogênese via ciclo alanina-piruvato, com formação de glicose como combustível energético.

## 6.2 Segundo experimento

No primeiro experimento pôde-se observar que ao ser submetido ao exercício, o pacu utilizou mais carboidratos e lipídeos, tanto para a manutenção do metabolismo como para crescimento, diminuindo a participação de proteínas e aminoácidos como combustíveis energéticos. De maneira geral, os pacus que se exercitaram a 2CC/seg. foram os que apresentaram melhores respostas de crescimento, e provavelmente maior mobilização de açúcares e lipídeos. Por isto, neste segundo experimento foram comparadas dietas com níveis variados de carboidratos e de lipídeos, procurando-se entender os caminhos metabólicos empregados pela espécie em exercício aeróbico à 2CC/seg. Como esta espécie pode metabolizar bem lipídeos e carboidratos, fato já demonstrado em estudos de nutrição anteriores (FERNANDES et al., 2001, ABIMORAD et al., 2007) esperava-se que sob a condição de exercício ocorresse tanto um melhor aproveitamento dos nutrientes como uma maximização das respostas de crescimento.

As dietas utilizadas, contendo três níveis de carboidratos (27, 36 e 45%) e três níveis de lipídeos (15, 10 e 5%) variaram com base em outras dietas para espécie, próximo aos valores considerados ideais para a espécie – 4% de lipídeos, 46% de carboidratos (ABIMORAD et al., 2007) e 26% de proteína bruta (FERNANDES et al., 2001; MUÑOZ-RAMIREZ & CARNEIRO, 2002).

### *Crescimento*

Pôde-se observar que os peixes exercitados apresentaram taxas de crescimento superiores aos peixes que não se exercitaram. O GP de 100% e 93% nos grupos E27/15 e E36/10, comparados com seus respectivos controles, sugeriu que o exercício associado à dieta contendo mais lipídeos e menos carboidratos, traz respostas de crescimento satisfatórias para esta espécie. O GP de 45% no grupo E45/5, em comparação ao seu controle, apesar de não significativo, não deixa de ser expressivo. O CC de 100%, 60% e 22% maior nos três grupos exercitados respectivamente, assim como o CA de 25%, 20% e 13% nestes três grupos, respectivamente, indicam que o pacu em exercício apresentou boas respostas de crescimento independentemente da dieta ofertada, apesar dos resultados serem mais significativos nos dois primeiros grupos (E27/15 e E36/10). A TCE maior no grupo E27/15 reforçou a importância de dietas conterem valores mais elevados de lipídeos na promoção do crescimento. A TEP, por outro lado, apresentou valores maiores nos grupos E27/15 e E45/5, sugerindo que ao se exercitar, o redirecionamento das proteínas em favor do crescimento acontece nos grupos alimentados ou com alto teor de lipídeo ou alto teor de carboidrato.

Segundo ABIMORAD et al., (2007), o pacu tolera bem fontes de carboidratos e lipídeos, o que leva ao efeito poupador de proteína; entretanto, é necessário que haja um balanço entre os nutrientes da dieta. HEMRE et al., (2002) afirmam também que peixes de hábito onívoro de águas tropicais toleram melhor níveis mais altos de carboidratos, e espécies carnívoras preferem fontes de lipídeos mais altas. Entretanto, este efeito também pode ser espécie-dependente. “Grouper” (*Epinephelus malabaricus*) e “silver barb” (*Puntius gonionotus*) apresentam efeito poupador de proteína quando alimentados com dietas contendo valores mais baixos de proteínas e mais altos de carboidratos (SHIAU & LIN, 2001; MOHANTA et al., 2007). Em contrapartida, juvenis de “rockfish” (*Sebastes schlegeli*) e de “yellowfin seabream” (*Spaurus latus*) parecem utilizar melhor os lipídeos advindos da dieta (LEE et al., 2002; HU et al., 2007), obtendo efeito poupador de proteínas pelos lipídeos. Hu et al., (2007) acreditam que ou os peixes são mais capazes em oxidar lipídeos ou são menos tolerantes a altos níveis de carboidratos, o que justificaria as melhores respostas obtidas em dietas com altos teores de lipídeos. Todavia, dietas com grandes quantidades de gordura geram depósitos de gordura visceral e muscular, por isso sua inclusão na dieta deve ser cuidadosa e devidamente balanceada (HU et al., 2007). Entretanto, pouco se sabe sobre as respostas de efeito poupador de proteínas por carboidratos e lipídeos em peixes que se exercitam.

É sabido que durante o exercício de longa duração, inclusive migração, os lipídeos são oxidados em maior quantidade (FORSTER & OGATA, 1996; OGATA & OKU, 2000; HACKBARTH & MORAES, 2006; MAGNONI et al., 2006; MAGNONI & WEBER, 2007), mas em situações de confinamento e de alimentação artificial estas respostas são desconhecidas. As respostas apresentadas por pacu submetido ao exercício são de um possível redirecionamento de proteínas para o crescimento, tanto devido a uma dieta rica em carboidratos ou lipídeos, como pela prática de exercício; ou então pela associação dos diferentes fatores avaliados. Quando pacus submetidos ao exercício foram comparados ao grupo que não se exercitou, apresentaram melhores resultados de crescimento nas dietas com maior concentração de lipídeos (15 e 10%), mostrando que em situações de exercício, possivelmente seu maior desempenho se deva ao uso preferencial desta fonte energética.

Diferentes formas de aproveitamento de carboidratos e lipídeos também podem ser visualizadas em espécies Neotropicais. Tucunaré (*Cichla sp.*), uma espécie carnívora, apresenta redução nos parâmetros de crescimento em dietas com nível elevado de carboidrato (SAMPAIO et al., 2000); piracanjuba (*Brycon orbignianus*), que é uma espécie onívora, também se beneficia em termos de crescimento de dietas com maiores teores de lipídeos do que carboidratos (BORBA et al., 2006); o pacu, espécie onívora, tolera bem ambas as fontes não nitrogenadas (ABIMORAD et al., 2007).

Em relação ao exercício associado a diferentes dietas, salmão do atlântico (*Salmo salar*) quando suplementado com 25% de lipídeos na dieta, apresenta respostas de performance superior, atingindo maior velocidade máxima que o grupo não-suplementado com lipídeos (McKENZIE et al., 1998). Truta arco-íris aumenta a oxidação de lipídeos após o exercício na tentativa de recuperar os estoques de ATP (RICHARDS et al., 2002), o que justificaria a maior mobilização desta fonte. Tilápia do Nilo (*Oreochromis nilotica*), aclimatada em três temperaturas diferentes e alimentada com dieta enriquecida com gordura poli-insaturada  $\omega$ -3, apresenta menor excreção de amônia após exercício exaustivo do que tilápia alimentada com ácidos graxos saturados (McKENZIE et al., 1996).

Menor taxa de CAA foi encontrada apenas no grupo E45/5, indicando que o consumo de dietas com altos níveis de carboidratos poderia levar ao maior GP por unidade de alimento consumido. Entretanto, este grupo foi aquele que apresentou GP semelhante ao grupo não-exercitado, indicando que esta dieta, associada ao exercício a 2CC/seg., não proporcionou melhor valor de GP. Os outros dois grupos apresentaram taxas de CAA próximas ao controle, muito baixas, em torno de 1,1, indicando que a associação de exercício e dieta levou a bons valores de CAA. Ao correlacionar esta taxa com a TEP, observou-se que as dietas com mais

lipídeos ou mais carboidratos (E27/15 e E45/5) foram aquelas que trouxeram as melhores respostas de aproveitamento de proteína em favor do crescimento. Como a TCE foi mais alta no grupo E27/15, pode-se então admitir que esta dieta associada ao exercício promoveu melhor aproveitamento dos nutrientes.

Apesar de não existirem trabalhos que avaliem os resultados da associação de exercício e dieta em qualquer espécie de peixe, sabe-se que matrinxã e diversas espécies de salmonídeos submetidos ao exercício apresentam melhores taxas de CAA e de crescimento ao se exercitarem (DAVISON, 1997; SHANGAVI & WEBER, 1999; YOGATA & OKU, 2000; AZUMA et al., 2002; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS & MORAES, 2009; MORAES et al., 2009), da mesma forma que peixes alimentados com dietas ótimas para sua espécie também apresentam boas respostas de crescimento (SHIAU & LIN, 2001; LEE et al., 2002; ABIMORAD et al., 2007; MOHANTA et al., 2007; HU et al., 2007). O consumo diário por peixe dos diferentes grupos mostrou que em exercício havia muito mais consumo de ração do que sem exercício. No entanto, as taxas de CAA foram eficientes em todos os grupos, girando em um valor próximo a 1,0, fazendo crer que apesar do maior consumo, o aproveitamento das dietas ofertadas foi marcante pela prática da atividade.

Apesar de Abimorad et al. (2007) afirmarem que pacu utiliza lipídeos e carboidratos com a mesma eficiência, os dados do presente experimento mostraram que sob a condição de exercício, as dietas com mais lipídeo e menos carboidratos (27/15 e 36/10) trouxeram as melhores respostas de GP, CC e CA, além da TCE e TEP maiores no grupo E27/15. Isto faz supor que a preferência pela utilização de lipídeos frente à prática de exercício seja superior à de açúcares. Todavia, quando os resultados estatísticos são observados com mais profundidade, percebe-se que nem sempre há interação entre o exercício e a dieta ofertada, como no caso do CA e CAA. Nestes casos, é a prática da atividade que promove as respostas diferenciadas, independente da ração ofertada. Em outras palavras, podemos dizer que o exercício estimula mais estas respostas do que o alimento ofertado, colocando a atividade como o principal fator promotor de crescimento.

Comparados somente os pacus não-exercitados, observa-se que, à medida que se aumentou o teor de carboidrato da dieta (C36/10 e C45/5), os valores de CC, CA e TEP também aumentaram, o que nos leva a admitir que pacus não exercitados crescem mais com dietas contendo mais carboidratos e menos lipídeos. Este fato concorda com a discussão anterior: a maioria dos onívoros utiliza bem dietas com alto nível de carboidratos apresentando maior efeito poupador de proteína (HEMRE et al., 2002). Realizada a comparação entre os grupos alimentados e exercitados, observa-se maior CC nos grupos

E27/15 e E36/10, e CA nos grupos E36/10 e E45/5, enquanto a TEP foi maior valor apenas no grupo E45/5. De maneira geral, pode-se dizer que esta variabilidade de respostas reforça a proposta de Abimorad et al., (2007) de que pacus utilizam bem a energia oriunda de carboidratos e lipídeos.

### *Comportamento*

O objetivo deste trabalho não foi o de análise comportamental, mas como este experimento também foi prolongado foram realizadas algumas observações de campo. Como discutido anteriormente, a prática de exercício modifica o comportamento, levando à melhor orientação na corrente, melhora do convívio social, diminuição do nível de dominância, da frequência dos ataques, do nível de estresse e da mortalidade (TOTLAND et al., 1987; CHRISTIANSEN & JOBLING, 1990; JOBLING, 1994; DAVISON, 1997; BLAKE, 2004; HACKBARTH & MORAES, 2006; GRÜMBAUM et al., 2008; ARBELÁEZ-ROJAS & MORAES, 2009).

Em pacus exercitados, foi observado aumento na voracidade durante a alimentação, em todos os grupos. Estes grupos ingeriam muito mais ração que os não-exercitados, o que podia ser visto facilmente a cada arraçamento. Em contrapartida, os grupos que não se exercitaram, especialmente o alimentado com a ração 27/15, demoravam em pegar o alimento mostrando pouco interesse pelo mesmo. Esta informação poderia se relacionar com o GP, CA, CC, TCE e TEP destes grupos, pois os peixes sem exercício cresceram menos. Por sua vez, os grupos E27/15 e E36/10 buscavam o alimento com mais avidez do que o grupo E45/5. Mas se o exercício aumenta a avidez pelo alimento e a correnteza ajuda a melhor distribuir a ração fazendo com que todos os peixes se alimentem, esperar-se-ia que todos os grupos exercitados buscassem pelo alimento da mesma maneira. Sendo assim, cabe-nos pensar que diferenças na palatabilidade, com preferência pelas dietas com mais lipídeos, possam ser outro fator que tenha aumentado a voracidade pelo alimento dos grupos E27/15 e E36/10. Outra observação interessante diz respeito à maior dificuldade de se retirar os peixes exercitados das caixas. Sua capacidade de fuga era maior do que os não exercitados. Sabe-se que peixes submetidos a exercício atingem velocidades maiores de nado após o treino (DAVISON, 1997; HOLK & LYKKEBOE, 1998), além de serem metabolicamente menos sujeitos à exaustão (LACKNER et al., 1988; DAVISON, 1997).

Os dados de crescimento dos grupos E27/15 e E36/10 podem ser indicativos de mudança positiva de comportamento, tendo em vista os melhores resultados de desempenho, pois uma menor interação agressiva diminui os custos energéticos, permitindo

maior crescimento (CHRISTIANSEN & JOBLING, 1990; HALLER, 1991a; JORGENSEN & JOBLING, 1993; GRÜMBAUM et al., 2008; BRÄNNÄS, 2009). Matrinxãs, trutas e salmonídeos também exibem mudança de comportamento e de crescimento quando submetidos ao exercício em velocidade ideal para a espécie (DAVISON, 1997; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS & MORAES, 2009). Com relação ao crescimento, algumas mudanças, principalmente as relacionadas ao tamanho e coloração podem ser visualizadas nos registros fotográficos obtidos logo após a última biometria, mostrando diferenças visuais entre pacu não-exercitado e exercitado (Figuras 7 e 8).



Figura 7: exemplar de *P. mesopotamicus* não exercitado, no momento da biometria final.



Figura 8: exemplar de *P. mesopotamicus* exercitado, no momento da biometria final.

### *Hematologia*

A prática de exercício acarreta modificações hematológicas importantes que visam atender à demanda imposta pela atividade (SATCHELL, 1991, SÄNGER & PÖTSCHER, 2000); daí a importância de se inferir sobre as variáveis hematológicas. O aumento de Ht e Hb no grupo E27/15 comparado ao seu controle refletiriam a demanda energética aumentada do grupo, onde haveria necessidade de carrear mais oxigênio para atender às necessidades do exercício. Como já discutido anteriormente, o aumento do Ht tem algumas razões (FRANKLIN et al, 1993) e, neste caso, provavelmente se deu pelo aumento da CE, apesar de não significativo, o que poderia ter levado a um aumento do teor de Hb.

Comparando apenas os grupos que realizaram exercício e foram alimentados com as diferentes dietas, foi observada elevação de hematócrito e hemoglobina no grupo E27/15, também reflexos da tentativa do peixe em lidar com a situação metabólica e energética aumentadas do exercício, especificamente quando alimentado com a dieta contendo mais lipídeo. Como este foi o grupo que mais cresceu, é provável que o pacu disponibilize mais lipídeos para fins energéticos, necessitando assim, maior aporte de oxigênio, o que justificaria o aumento de hematócrito e hemoglobina neste grupo.

Com relação aos demais grupos que não apresentaram alterações hematológicas, poderíamos concordar com a afirmação de que é possível que o exercício aeróbico promova maior equilíbrio entre o suprimento e a demanda de oxigênio despendida pelo organismo durante a atividade. O aumento da transferência gasosa e da capacidade de difusão e extração de oxigênio dos tecidos, não precisa necessariamente promover alterações nos parâmetros hematológicos (RANDAL, 1982; JENSEN et al., 1983).

### *Íons*

O experimento anterior não apontou alterações iônicas que levassem a distúrbios fisiológicos para pacu exercitado a 2CC/seg. Sendo assim, repetir esta análise tornou-se irrelevante. Matrinxã submetido ao exercício aeróbico também não apresentou mudanças iônicas significativas que causam prejuízos homeostáticos (HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007), pois tais alterações são encontradas em peixes expostos a exercícios do tipo explosão e submáximos, onde o animal é obrigado a nadar contra grande correnteza, fazendo grande esforço metabólico (WOOD, 1991; POSTLETHWAITE & MCDONALD, 1995; HOLK & LYKKEBOE, 1998).

### *Respostas metabólicas e enzimas metabólicas*

Sabe-se que os dados de performance são insuficientes para prever quais os caminhos metabólicos empregados pelos peixes sob exercício e consumindo dietas diferenciadas. Dados metabólicos podem, portanto, trazer as respostas necessárias para se delinear um quadro bioquímico e fisiológico para pacu exercitado e traçar a dieta ideal para a prática da atividade, maximizando a utilização dos nutrientes e favorecendo o crescimento.

Quando pacu é alimentado com dietas adequadas, há maior eficiência na utilização de carboidratos e lipídeos, poupando as proteínas para o crescimento (FERNANDES et al., 2001; ABIMORAD et al., 2007). O mesmo acontece com a espécie quando é submetida ao exercício em velocidade adequada, com altas taxas de glicólise e lipólise, ao mesmo tempo em que as proteínas são redirecionadas para processos anabólicos. Trabalhos que relacionam exercício apontam para o uso preferencial de lipídeos para manter a atividade e a taxa de crescimento (FORSTER & OGATA, 1996; DAVISON, 1997; YOGATA & OKU, 2000; OGATA & OKU, 2000; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007), sendo que os músculos locomotores consomem cerca de 75-95% da oxidação lipídica (MAGNONI et al., 2006). Apesar de saber que o pacu pode lidar igualmente com carboidratos e lipídeos, pode ser que durante o exercício ele empregue melhor um destes nutrientes como forma de atender à demanda energética sem prejudicar o crescimento.

### *Quadro metabólico de E27/15 em relação ao controle*

As respostas metabólicas encontradas neste grupo indicaram melhor utilização de fontes não-protéicas como combustíveis energéticos. A queda de glicogênio e aumento da concentração de glicose no fígado, ao mesmo tempo em que houve aumento de piruvato plasmático, indicariam glicogenólise e glicólise hepática, provavelmente com o objetivo de atender a demanda energética de outros tecidos, especialmente o MV. Este tecido, por sua vez, também apresentou queda de glicogênio e aumento de piruvato, o que o coloca como um tecido dependente da oxidação de carboidratos para manutenção energética nas condições ensaiadas. Estes dados evidenciaram mais uma vez o papel relevante dos carboidratos em exercícios aeróbicos (DAVISON, 1997; KIEFFER et al., 1998; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007) não somente nos explosivos e de alta intensidade (JOBILING, 1994; van den THILLART & van RAAJ, 1995; WEBER & HAMAN, 1996; SUGITA et al., 2000; SUGITA et al., 2001; RICHARDS et al., 2002), principalmente no MV, onde houve maior atividade glicolítica.

É provável que tenha ocorrido neoglicogênese hepática, em face do aumento de proteína e amônia neste tecido. O mesmo fato pode ser inferido em MV devido à diminuição da concentração de lactato neste tecido; além disso, apesar de não significativo, houve diminuição de AAL e aumento de amônia neste tecido, o que sugere processo catabólico. No MB, houve aumento da concentração de AAL no plasma, o que pode ser indicativo de transporte de aminoácidos. Como este grupo foi o que apresentou os melhores valores de crescimento, é mais provável que os AAL plasmáticos aumentados estejam sendo direcionados ao MB, também com a finalidade de incorporação de massa muscular. De forma geral, o perfil do metabolismo de proteínas observado no MB (diminuição de amônia e da atividade da GDH, e aumento de AAL e proteína) sugere redução do catabolismo protéico. Isso talvez se deva ao melhor aproveitamento da energia oriunda de substratos energéticos não-protéicos (ALSOP & WOOD, 1997; KIEFFER et al., 1998; WOOD 2001).

O MB não mostrou sinais claros de utilização de açúcares, exibindo preferência pela oxidação lipídica. A hipótese de lipólise pode ser corroborada pela redução de TG e aumento de AGL no plasma. Em contrapartida, o MV dos peixes deste grupo apresentou aumento no teor de TG, o que pode indicar que nesta condição, além de não utilizar os lipídeos ofertados na dieta este tecido tenha acumulado este metabólito. Magnoni et al. (2006) afirmam que durante o exercício de longa duração, lipídeos, carboidratos e proteínas são combustíveis energéticos importantes, e em “sockeye salmon” o MV se torna o maior consumidor de fontes lipídicas, visto sua importância em manter atividades aeróbicas e de resistência; contrariamente ao que foi observado para pacu. Entretanto, o MB apresentou maior preferência pela oxidação lipolítica.

Assim como observado no primeiro experimento e descrito por outros autores (WEBER & HAMAN, 1996; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007), os dados desta etapa também foram sugestivos de uma preferência aeróbica. O teor reduzido de lactato no MV, bem como a menor atividade da LDH nos dois tecidos musculares e no tecido hepático, são evidências de menor preferência fermentativa. O MV é mais aeróbico que o MB (MOYES & WEST, 1995), e o exercício tem influência direta sobre o fluxo sanguíneo, o que aumenta sua capacidade aeróbica (MOON & FOSTER, 1995) diminuindo por sua vez a dependência de fermentação láctica.

Com exceção do MV dos pacus submetidos ao exercício de 2CC/seg. e alimentados com 27% de carboidrato e 15% de lipídeo observou-se efeito poupador de proteína, evidenciado pela alta taxa de crescimento e grande utilização das fontes não protéicas ofertadas; direcionando assim a fração protéica da dieta para o crescimento. O MB é

o tecido responsável pelas maiores mudanças de performance em peixes, pois constitui 60% do peso vivo do peixe (KIESSLING et al., 2005). Assim, mudanças no seu perfil metabólico indicam alterações importantes no organismo como um todo (JOBILING, 1994; JÜRS & BASTROP, 1995; MOYES & WEST, 1995). Por isso, é provável que a utilização dos lipídeos tenha sido superior ao dos açúcares, nesta condição.

#### *Quadro metabólico de E36/10 em relação ao controle*

Neste grupo, onde a dieta continha 36% de carboidrato e 10% de lipídeo, o MV apresentou glicólise e glicogenólise, sugeridas pelas reduções de glicogênio e glicose. O fígado também exibiu diminuição de glicogênio e aumento de glicose, sugerindo que esta, oriunda da glicogenólise hepática, pode não ser necessariamente oxidada no próprio tecido, mas sim transportada para outros, dependentes da energia oriunda dos carboidratos. A diminuição de glicose no MB também sugere preferência pelos açúcares como substrato energético, fato que não foi observado no grupo alimentado com dieta de baixo nível de carboidratos (E27/15). É provável que quando pacus tenham pouco carboidrato na dieta conservem-no para melhor uso, tal como manter a glicemia e atender as exigências de outros tecidos, como o cérebro e células sanguíneas (PERAGÓN et al., 1999; HU et al., 2007). Neste grupo também foi observada neoglicogênese, comprovada pela diminuição do teor de AAL no MV e aumento da concentração de amônia no fígado e no plasma. No entanto, os valores de proteína inalterados ou até mesmo aumentados nos diferentes tecidos, associado ao fato do maior crescimento deste grupo em relação ao seu controle, indicariam que não só neoglicogênese ocorreu, mas também que as taxas de anabolismo foram superiores as de catabolismo.

Com relação ao perfil lipídico, notou-se aumento da oxidação das gorduras, pois fígado, MV e MB realizaram lipólise, evidenciada pela dinâmica das concentrações de TG e AGL nos três tecidos. A diminuição do teor de TG e o aumento da concentração de AGL no plasma é sinal do catabolismo destes substratos, que estão sendo transportados provavelmente do fígado e do tecido adiposo para serem oxidados nos diferentes tecidos. Sendo assim, além do papel relevante dos açúcares, neste grupo, o papel dos lipídeos foi ainda mais exacerbado. Perfis distintos destes substratos foram observados em outros peixes: “yellowfin seabream” alimentados com dietas contendo quantidades crescentes de lipídeo, apresenta transporte ativo de lipídeos (HU et al., 2007); “sockeye salmon” após migração também exhibe diminuição do teor de TG, sendo que 94% são oxidados para locomoção (MAGNONI et al., 2006). Segundo alguns autores, peixes submetidos ao exercício aeróbico

oxidam preferencialmente lipídeos (FORSTER & OGATA, 1996; DAVISON, 1997; YOGATA & OKU, 2000; OGATA & OKU, 2000; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007).

A diminuição de lactato no MB, paralelamente a concentrações constantes de piruvato, é difícil de ser compreendida quando associada ao aumento da atividade de LDH. A LDH de MB não realiza conversão lactato-piruvato de maneira significativa. Além disso, todos os outros grupos, de ambos os experimentos, apresentaram menor atividade desta enzima quando submetidos ao exercício. Desta forma, permanece uma incógnita o presente quadro metabólico devendo ser melhor avaliado em outras situações experimentais. Todavia, os peixes respondem a mudanças internas e/ou externas alterando a concentração de catecolaminas circulantes. Eventos ambientais como, hipóxia, exercício, pH etc., ou internos como, acidose e alcalose metabólica, hipotensão, hipoglicemia agem como estressores e, a liberação de catecolaminas é uma resposta compensatória para otimizar as funções cardiovasculares e respiratórias e, mobilizar reservas energéticas para atender a demanda metabólica aumentada (FABRI et al., 1998). Segundo estas informações, é possível que haja influência das catecolaminas sobre a atividade da LDH, papel este desconhecido em peixes. Em células tumorais de rato, foi detectado papel indutor da atividade da LDH por catecolaminas mediado pelo aumento de AMP cíclico. O aumento da atividade de LDH pode ocorrer quer pela síntese de novas moléculas da proteína, como pela regulação da expressão da enzima nas células (KUMAR et al., 1980). O mesmo papel do AMP cíclico sobre a atividade da LDH foi proposto por Jungmann et al., (1983).

Levando em consideração uma possível ação das catecolaminas é possível interrelacionar estes dados às respostas de aminoácidos e proteínas nos diferentes tecidos. O aumento de AAL no MB e de amônia no tecido hepático podem ser indicativos de formação e exportação de alanina do tecido muscular, de forma que o fígado biossintetize glicose que posteriormente, é enviada ao músculo para atender sua demanda energética aumentada. Se o MB não está fazendo glicogenólise, seu aporte glicídico deve ser oriundo de outra fonte, neste caso o fígado (ciclo da alanina). Além do mais, a diminuição do lactato do MB sugere sua rápida mobilização do tecido muscular, direcionado para o fígado onde, via ciclo de Cori, é convertido em glicose para posterior utilização por outros tecidos. A rápida remoção do lactato também justificaria o aumento da LDH.

O aumento plasmático de AAL e proteína, e de proteína hepática, associados à redução na concentração de proteínas nos tecidos musculares dos peixes exercitados seria indicativo de direcionamento dos compostos nitrogenados para processos neoglicogênicos,

fato este que também pode ser influenciado pelas catecolaminas (FABRI et al., 1998). A diminuição da atividade da GDH no MB indicariam menor oxidação das proteínas e aminoácidos neste tecido, justificando o maior crescimento deste grupo.

A diminuição da atividade da MDH no MB também é um evento metabólico de difícil entendimento. Admite-se que o tecido muscular não faça neoglicogênese. Desta feita, a hipótese que explicaria a mudança da atividade da enzima recairia sobre os processos oxidativos. No entanto, se houve diminuição da concentração da glicose e do lactato, aumento de AAL, queda de TG e aumento de AGL, não seria coerente um quadro oxidativo reduzido do MB. Leonard et al. (2002), ao estudarem as respostas fisiológicas de “masu salmon” (*Oncorhynchus masou*) e “sockeye salmon” durante a migração, encontraram diminuição da atividade das enzimas piruvato quinase (PK), LDH e MDH, alegando que estas mudanças ocorrem devido aos aspectos migratórios das espécies, aos gastos energéticos, a falta de alimentação ou pela fase de maturação reprodutiva. De acordo com o exposto acima, é possível observar que tanto os dados metabólicos como o maior desempenho do grupo, são indicativos de aproveitamento das fontes energéticas não-protéicas como combustíveis energéticos quando o pacu realiza exercício aeróbico.

#### *Quadro metabólico de E45/5 em relação ao controle*

Ao observar o perfil glicídico do grupo E45/5, também se observa glicogenólise no MB, MV e fígado. A redução de lactato e aumento de piruvato no fígado podem indicar interconversão de lactato a piruvato para manutenção dos níveis glicêmicos, já que a concentração de glicose neste tecido também diminuiu. O aumento do consumo das reservas seria devido à dieta, já que os peixes não foram submetidos a exercício extenuante. A ração continha muito carboidrato, mesmo assim os peixes utilizaram as reservas de glicogênio, mostrando que carboidrato em excesso pode inibir seu próprio consumo. Sabe-se que o balanço entre carboidrato e lipídeo afeta o efeito poupador de proteínas, sendo que o melhor crescimento acontece quando essa relação entre os nutrientes é ótima para a espécie (HEMRE et al., 2002), o que não deve ter ocorrido nesta dieta. Provavelmente os peixes cresceram menos e não utilizaram a fonte mais abundante da dieta (carboidrato) como esperado devido a um desbalanceamento nesta relação.

Mais uma vez os lipídeos foram mobilizados nesta condição, ou seja, independentemente da dieta ofertada, o pacu sob exercício aumenta preferencialmente oxidação de gordura. Essa lipólise foi evidenciada pela queda dos teores de TG no MB, fígado e plasma e aumento do teor de AGL no MB e MV. No MV houve somente aumento da

concentração de AGL, o que pode ser sugestivo de catabolismo também de carboidrato para manutenção energética. Como o MB é o maior tecido do organismo e, qualquer resposta deste tecido afeta o animal como um todo, é provável que o pacu lide melhor com a energia oriunda da oxidação de lipídeos do que a de carboidratos. O exercício por si só estimula a oxidação lipídica, sendo os músculos locomotores os principais consumidores desta fonte (MAGNONI et al., 2006). Este aumento do catabolismo lipídico em peixes que se exercitam parece ser independente do habitat ou do hábito alimentar, visto os resultados mostrados em diversas espécies (van den THILLART & Van RAAJI, 1995; FORSTER & OGATA, 1996; BERNARD et al., 1999; OGATA & OKU, 2000; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007).

A diminuição da atividade de LDH no MB sugere uma atividade fermentativa reduzida, tal como observado nas situações anteriores. Matrinxãs também mostram menor dependência fermentativa ao realizar exercício aeróbico (HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007), e sabe-se que peixes treinados aumentam o nível das enzimas associadas ao metabolismo aeróbico, bem como das capacidades aeróbicas (KIEFFER, 2000; DAVISON, 1997). A diminuição da atividade da MDH no MV talvez possa ser explicada conforme proposto por Leonard et al. (2002), pois as observações das atividades enzimáticas de “masu salmon” e “sockeye salmon” durante a migração revelam padrão similar.

O metabolismo protéico não exibiu mudanças significativas, exceto no MV, onde houve aumento de proteínas e diminuição de AAL, bem como atividades aumentadas de ALAT e ASAT. Mas como a atividade da GDH diminuiu, provavelmente o catabolismo protéico neste tecido apenas atendeu a gliconeogênese exportando aminoácidos para o fígado. Apesar de não terem sido encontradas alterações nos teores de AAL e proteína no MB, as atividades de GDH e ASAT diminuídas neste tecido sugerem redução de atividade oxidativa, com menor direcionamento das proteínas para os processos catabólicos. Como este grupo não apresentou bons valores de crescimento poderíamos inferir que parte das proteínas e aminoácidos não foram direcionados ao crescimento, como aconteceu nos outros dois grupos. Entretanto, os dados de desempenho não são inferiores ao controle, sugerindo maior gliconeogênese, o que redirecionou parte das proteínas e aminoácidos para este fim, sem ocasionar grandes prejuízos ao crescimento. Isto reafirma a ideia apresentada acima, de que dietas contendo grandes quantidades de carboidratos inibem seu próprio consumo, fazendo com que o animal precise aumentar o aporte glicídico através de gliconeogênese.

*Comparação dos quadros metabólicos de pacus não-exercitados*

Pacus não-exercitados dos grupos C27/15 e C45/5 apresentaram aumento da atividade glicolítica no MV, evidenciada pela diminuição da concentração de piruvato. No grupo C36/10, o teor aumentado de piruvato poderia indicar menor participação da glicólise, talvez por um aumento da lipólise nos diferentes tecidos dos pacus alimentados com esta dieta. O quadro neoglicogênico neste tecido ficou evidente no grupo C45/5, onde a concentração de proteína diminuiu e a de amônia e AAL aumentaram. A atividade aumentada da GDH e o aumento da amônia plasmática neste grupo reforçam a hipótese de oxidação protéica para fins energéticos (neoglicogênese). Este tecido também apresentou acúmulo de glicogênio, indicando que a grande quantidade de carboidrato dietário inibiu a utilização desta fonte calórica, sendo necessária a obtenção de energia através de outros intermediários. O aumento da glicose plasmática e hepática seguida pelos níveis de carboidrato na dieta faz admitir que o excesso de carboidrato acumula-se nos tecidos, justificando a glicogênese do MV.

Nos outros dois grupos (C27/15 e C36/10), a falta de exercício estimulou a utilização dos carboidratos e mostrou um quadro lipolítico menos acentuado. No MV os carboidratos ganharam um papel menos relevante nesta situação de sedentarismo, visto ser um tecido cuja atividade é maior durante o exercício. Nota-se, portanto, um padrão no consumo de carboidratos por pacus não-exercitados. À medida que se aumentou a concentração de carboidrato na dieta, seu consumo aumentou; mas também houve aumento da reserva no MV (glicogênese), devido seu excesso. Como a atividade da GDH do fígado e do MB diminuiu nos grupos C36/10 e C45/5, parece-nos que o processo neoglicogênico foi mais efetivo no MV. Abimorad et al. (2007) afirmam que os carboidratos são utilizados de forma efetiva, desde que haja balanço entre os componentes da dieta. Para estes autores, a proporção entre os nutrientes considerada ideal para pacu seria em torno de 46% de carboidratos e 4% de lipídeos. Realmente, entre os peixes não-exercitados, os melhores valores de crescimento foram atingidos pelo grupo alimentado com a ração 45/5, apesar dos dados não serem significativos, mostrando que esta dieta atendeu as necessidades nutricionais e de crescimento de pacu nesta condição.

No MB houve aumento da concentração de lactato nos grupos C36/10 e C45/5, entretanto a atividade da LDH não se mostrou aumentada, pelo contrário, sua atividade foi menor no grupo C36/10, tanto no MB como no MV. É provável que a modificação na concentração de lactato esteja ligada a maior interconversão pirúvico-lático. Nestes dois grupos a MDH hepática exibiu menor atividade, talvez pelo excesso de energia ofertado. A atividade da LDH hepática também diminuiu nos grupos C36/10 e C45/5, sugerindo que o

lactato não foi utilizado como substrato energético. No grupo C36/10 a atividade da MDH do MB aumentou, fazendo admitir que os processos oxidativos para obtenção de energia foram maiores neste tecido deste grupo.

Pacus não exercitados não exibiram oxidação marcante de lipídeos no MB. Todavia, no MV houve diminuição do teor de AGL no grupo C45/5, indicando sua utilização. No fígado, o aumento dos teores de TG e AGL no grupo C45/5 sugere que, na medida em que a dieta possui menos lipídeos e mais carboidratos, o fígado aumenta seus estoques lipídicos, talvez pelo excesso de açúcar ofertado. A menor quantidade de AGL plasmático nos grupos C36/10 e C45/5 e maior de TG no grupo C36/10, talvez sejam indícios de menor transporte de lipídeos do plasma para os outros tecidos, tendo em vista a menor participação das gorduras nos processos oxidativos nestes grupos.

A participação de lipídeos e carboidratos como fonte energética é dependente da espécie, e até mesmo das condições experimentais (HEMRE et al., 2002). “Grouper” e “silver barb” não apresentam redução no crescimento quando alimentados com menor teor de proteínas e maior de carboidratos (SHIAU & LIN, 2001; MOHANTA et al., 2007). “Black catfish” alimentado com dietas contendo altos teores de lipídeos passam a depositar gordura ao invés de utilizá-las como fonte energética (SALHI et al., 2004). Contrariamente, juvenis de “rockfish” e de “yellowfin seabream” utilizam melhor os lipídeos da dieta (LEE et al., 2002; HU et al., 2007). Tucunaré e piracanjuba também se beneficiam em termos de crescimento quando alimentados com dietas contendo maiores teores de lipídeos do que carboidratos (SAMPAIO et al., 2000; BORBA et al., 2006).

#### *Comparação dos quadros metabólicos de pacus exercitados*

Apesar da menor quantidade de lipídeo na dieta do grupo E45/5 houve maior quadro de oxidação lipídica, fato evidenciado pelos dados de TG e AGL dos diferentes tecidos avaliados. Como este quadro não foi tão pronunciado nos peixes não-exercitados, esse aumento da lipólise se deve ao fato da realização de exercício aeróbico, já que esse tipo de atividade parece estimular a oxidação lipídica (FORSTER & OGATA, 1996; OGATA & OKU, 2000; HACKBARTH & MORAES, 2006; MAGNONI et al., 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007; MORAES et al., 2009).

O plasma mostrou aumento das concentrações de glicose e lactato e, diminuição do teor de piruvato no grupo E45/5, sugerindo que altas quantidades de carboidrato inibem seu próprio consumo. O MV fez glicogênese, indicando que grandes quantidades de carboidratos não são necessárias, pois o lipídeo tem um papel de maior relevância. Quando truta arco-íris é

submetida ao exercício aeróbico, carboidratos e lipídeos suportam o dispêndio energético, mas quando não submetida à atividade, são os carboidratos que contribuem primariamente como combustível oxidativo (RICHARDS et al., 2002). Isto é semelhante ao que foi observado neste trabalho, pois em pacus não-exercitados houve menor participação da oxidação lipídica, ao passo que naqueles que se exercitaram os lipídeos atenderam a demanda energética primariamente, seguida da participação dos carboidratos. DAVISON (1997) afirma que o exercício estimula o metabolismo aeróbico, particularmente o que está envolvido com a oxidação de lipídeos. Matrinxãs submetidos ao exercício à velocidade moderada, também demonstram maior capacidade em metabolizar lipídeos e, em menor grau, carboidratos (HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007).

O MB participou da neoglicogênese na situação E45/5, com valores de proteína diminuídos e amônia aumentada, sugerindo que, neste caso, o animal tenha lançado mão de aminoácidos para gerar energia, direcionando-os para o fígado, onde efetivamente ocorreu neoglicogênese. Mas, a diminuição das atividades da GDH, ALAT e ASAT neste tecido indicariam menor utilização de proteínas para obtenção de energia, poupando-as para o crescimento. No MV, o aumento da concentração de amônia junto com uma maior atividade dessas enzimas seriam indicativos de proteólise neste grupo (E45/5), talvez para atender a neoglicogênese, entretanto, sem causar prejuízos ao crescimento. Faz sentido se pensarmos que ao se exercitar o pacu exiba maior preferência pela energia advinda dos lipídeos, assim como outras espécies também o demonstram (FORSTER & OGATA, 1996; OGATA & OKU, 2000; HACKBARTH & MORAES, 2006; MAGNONI et al., 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007).

O perfil metabólico do plasma, na medida em que o conteúdo da dieta se modificou (aumento de carboidratos e diminuição de lipídeo) refletiu o papel de transporte de metabólitos de um tecido para o outro, que é função própria do plasma. Entretanto, o fígado não apresentou sinais de proteólise visto que suas concentrações de proteína e aminoácidos aumentaram e de amônia diminuiu, além da queda na atividade da GDH. Isto sugere que, na medida em que se aumentou o teor de carboidratos na dieta, este tecido utilizou as fontes de carboidrato como combustível energético, poupando proteínas. Uma das principais características do exercício é reorganizar o organismo evitando gastos energéticos desnecessários, redirecionando as proteínas em favor do crescimento (MOYES & WEST, 1995; DAVISON, 1997; WOOD, 2001; RICHARDS et al., 2002; HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007).

O metabolismo aeróbico também foi mantido, independentemente da dieta ofertada ao pacu exercitado aerobicamente. As mudanças na concentração de lactato e na atividade da LDH poderiam estar relacionadas apenas à mobilização de lactato como precursor energético, já que a via anaeróbica não é amplamente utilizada neste tipo de exercício (HACKBARTH & MORAES, 2006; ARBELÁEZ-ROJAS, 2007). A atividade da MDH foi menor no MB e MV do grupo E45/5, podendo ser indicativo de excesso de energia ofertada, reduzindo os processos oxidativos. O fígado apresentou atividade de MDH aumentada no grupo E45/5, sugerindo neoglicogênese, já que ele é responsável pela manutenção da glicemia corporal.

Com o quadro metabólico exposto podemos inferir que o grupo exercitado e alimentado com a ração 45/5 apresentou maior oxidação protéica, visto que a dieta continha pouco lipídeo disponível e muito carboidrato, o qual foi utilizado em menor escala, pois parece que houve preferência pela oxidação lipídica. Ficou claro que para pacu, sob condição de exercício aeróbico, os lipídeos são responsáveis pela maior geração de energia. Como o grupo E36/10 apresentou maiores respostas de oxidação lipídica do que o grupo E27/15 parece ser aquela a dieta que melhor se ajusta a pacus submetidos ao exercício de 2CC/seg.

O GP dos grupos exercitados foi muito superior ao encontrado para os peixes que não se exercitaram, tendo ficado entre 23% para os sedentários e, próximo de 120% para os exercitados. Uma das explicações que pode contribuir para este maior crescimento é de que o exercício estimulou muito mais a utilização de fontes energéticas não-nitrogenadas para obtenção de energia, diminuindo a necessidade de utilização de fonte protéica para este fim, permitindo assim maior crescimento. Ou seja, o exercício foi o principal fator na economia de proteína neste experimento. A ração 36/10 foi a que permitiu maior utilização de fontes não-nitrogenadas para os processos oxidativos, sob a condição de exercício. Além do mais, esta dieta não continha nível de lipídeos tão grande quanto o grupo 27/15. Isto significa que pacu em exercício prefere dietas que contenham mais lipídeos, desde que uma proporção balanceada entre os outros nutrientes seja mantida. Talvez experimentos com maior tempo de duração, com outras concentrações de nutrientes e outras abordagens analíticas, incluindo outras enzimas do metabolismo lipídico e oxidativo, permitam compreender melhor o papel dos lipídeos e carboidratos durante o exercício, permitindo exacerbar ainda mais as diferenças causadas pela oferta de diferentes dietas na condição de exercício.

Este segundo experimento mostrou de maneira geral que, talvez seja possível diminuir ainda mais o teor de proteínas nas dietas de pacu que se exercitam a velocidade ideal, desde que isto não implique em desbalanceamento nutricional. Tal fato, somado a todos

os apresentados ao longo desta discussão, poderia estabelecer o exercício como coadjuvante no crescimento de peixes, pois a atividade aeróbica parece trazer ganhos mais expressivos tanto no que tange ao crescimento, como na melhor utilização de fontes não-protéicas para fins energéticos.

## 7 CONCLUSÕES

Pacus submetidos ao exercício aeróbico, à velocidade de dois comprimentos corporais por segundo e alimentados com 36% de carboidratos e 10% de lipídeos, apresentam excelente performance de crescimento e redirecionam melhor suas fontes não-nitrogenadas para fins energéticos.

### *Primeiro experimento*

- As respostas hematológicas e iônicas sugerem adaptação metabólica do grupo 2CC para atender a demanda exigida pelo exercício;
- Nas condições 1CC e 2CC, percebe-se efeito poupador de proteína através da utilização de fontes de energia não-protéicas;
- A 3CC/seg. pacu realiza oxidação protéica para manter os níveis energéticos e a glicemia adequados;
- A velocidade de natação ideal para pacus, nas condições ensaiadas, é de 2CC/seg.; evidenciada pelas melhores respostas de crescimento e quadro metabólico sugestivo de maior utilização de fontes não-protéicas para geração de energia.

### **Segundo experimento**

- Pacus sob exercício a 2CC/seg. apresentaram os melhores valores de crescimento quando alimentados com dietas contendo 36% de carboidratos e 10% de lipídeos;
- A participação dos lipídeos como mantenedores da atividade física é exacerbada durante a prática de exercício;
- A dieta 36/10 se mostrou ideal para pacu em exercício aeróbico à 2CC/seg., ao maximizar a utilização dos substratos energéticos.

## 8 REFERÊNCIAS

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

AGUIAR, L. H. et al. Metabolical effects of Folidol 600 on the neotropical freshwater fish matrinxã, *Brycon cephalus*. **Environmental Research**, v.95, p. 224–230, 2004.

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

ALSOP, D. H.; WOOD, C. M. The interactive effects of feeding and exercise on oxygen consumption, swimming performance and proteina usage in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **J. Exp. Biol.**, v.200, 2337-2346, 1997.

APHA. **Standard methods for determinations of water and wastes**. Washington: Join editorial board, DC, 12. ed., 1980.

ARBELÁEZ-ROJAS, G. **Efeitos da natação sustentada no crescimento, na densidade de estocagem e na composição corporal em juvenis de matrinxã *Brycon amazonicus***. Aspectos adaptativos e respostas metabólicas. 2007. 149 f. Tese (Doutorado em Genética e Evolução) – Departamento de Genética e Evolução, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2008.

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

AZUMA, T. et al. Profiles in growth, smoltification, immune function and swimming performance of 1-year-old masu salmon *Onchorhynchus masou masou* reared in water flow. **Fish.Sci.**, v.68 (C), p. 1282-1294, 2002.

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

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

BERNARD, S. F. et al. Glycerol and fatty acid kinetics in rainbow trout: effects of endurance swimming. **J. Exp. Biol.**, v.202(C), p. 279-288, 1999.

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

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

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

BRÄNNÄS, E. The effect of moderate exercise on growth and aggression depending on social rank in groups of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). **Appl. Anim. Behav. Sci.**, v.119, p. 115–119, 2009.

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

BUREAU, B. P.; AZEVEDO, P. A.; TAPIA-SALAZAR, M. Pattern and cost of growth and nutrient deposition in fish and shrimp: potential implications and applications. In: Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, Mérida, Yucatán, México. **Memorias**. Mérida: [s.n.]. 2000.

BURGETZ, I. J. et al. Initial recruitment of anaerobic metabolism during sub-maximal swimming in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **J. Exp. Biol.**, v.201, p. 2711-2721, 1998.

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

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

CECH JR., J. J.; McENROE, M.; RANDALL, D. J. Coho salmon haematological, metabolic and acid-base changes during exercise and recovery in sea water. **J. Fish Biol.**, v.65, p. 1223–1232, 2004.

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

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

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

DAVISON, W. The effects of exercise training on teleost fish, a review of recent literature. **Comp. Biochem. Physiol.**, v.117, p. 67-75, 1997.

DIAS-KOBERSTEIN, T.; CARNEIRO, D. J.; URBINATI, E. C. Comportamento alimentar de alevinos de pacu (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887) por meio das observações do tempo de retorno do apetite e do tempo de saciação dos peixes em duas temperaturas de cultivo. **Acta Scientiarum**, v.26 (3), p. 339-344, 2004.

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

DRABKIN, D. The standardization of hemoglobin measurement. **Am. J. Med. Sci.**, v.215 (C), p. 110-111, 1948.

DRIEDZIC, W. R.; HOCHACHKA, P. W. Metabolism in fish during exercise. In: HOAR, W., RANDALL, D. J. (Ed.). **Fish physiology.** New York: Academic Press, v.7, p. 503-543, 1978.

DUBOIE, M. G.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Anal. Chem.**, v.28, p. 350-358, 1956.

ESPINÓS, F. J. et al. Growth of dentex fingerlings (*Dentex dentex*) fed diets containing different levels of protein and lipid. **Aquac.**, v.218, p. 479-490, 2003.

EVANS, D. H. **The physiology of fishes.** Florida: CRC press. 592 p., 1993.

FABBRI, E.; CAPUZZO, A.; MOON, T. W. The role of circulating catecholamine in the regulation of fish metabolism: an overview. **Comp. Biochem. Physiol.**, v.120 (C), p. 177-192, 1998.

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

FERNANDES, J. B. K.; CARNEIRO, D. J.; SAKOMURA, N. K. Fontes e níveis de proteína bruta em dietas para alevinos de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Rev. Bras. Zootec.**, v.29 (3), p. 646-653, 2000.

FERREIRA FILHO, C. et al. Benefícios do exercício físico na hipertensão arterial sistêmica. **Arq. Med. ABC.**, v.32 (2), p. 82-87, 2007.

FORSTER, I. P.; OGATA, H. Growth and whole-body lipid content of juvenile red sea bream reared under different conditions of exercise training and dietary lipid. **Fish. Sci.**, v.62, p. 404-409, 1996.

FRANKLIN, C. E.; DAVISON, W.; MCKENZIE, J. C. The role of the spleen during exercise in the antarctic teleost, *Pagothenia borchgrevinki*. **J. Exp. Biol.**, v.174 (C), p. 381-386, 1993.

GENTZKOW, C. J.; MASEN, J. M. An accurate method for the determination of blood urea nitrogen by direct nesslerization. **J. Biol. Chem.**, v.143, p. 531-544, 1942.

GRAÇA, W. J.; PAVANELLI, C. M. Peixes da planície de inundação do alto Rio Paraná e áreas adjacentes. Maringá: EDUEM, pp. 82-83, 2007.

GRÜMBAUM, T.; CLOUTIER, R.; LE FRANÇOIS, N. R. Positive effects of exposure to increased water velocity on growth of newly hatched arctic charr, *Salvelinus alpinus* L. **Aquac. Res.**, v.39, p. 106-110, 2008.

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

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

HALLER, J. Biochemical cost of a fight in fed and fasted, *Betta splendens*. **Physiol. Behav.**, v.49, p. 79-82, 1991a.

HAMMER, C.; SCHWARZ, G. The effect of prolonged swimming activity on the growth, proximate body composition and caloric content of 0-age group Whiting, *Merlangius merlangus* (L. Gadidae). **Arch. Fish. Mar. Res.**, v.44, p. 13-32, 1996.

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

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

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

HOCHACHKA, P. W. Fuels and pathways systems for support of muscle work. **J. Exp. Biol.**, v.115, p. 149-164, 1985.

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

HOLK, K.; LYKKEBOE, G. The impact of endurance training on arterial plasma K<sup>+</sup> levels and swimming performance of rainbow trout. **J. Exp. Biol.**, v.201 (C), p. 1373-1380, 1998.

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

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

HOWLETT, R. A. et al. Regulation of skeletal muscle glycogen phosphorylase and PDH at varying exercise power outputs. **Am. J. Physiol.**, v.275, p. 418-425, 1998.

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

INOUE, L. A. K. A.; SANTOS NETO, C.; MORAES, G. Clove oil as anaesthetic for juveniles of matrinxa *Brycon cephalus* (Günther, 1869). **C. Rur**, v.33 (C), p. 943-947, 2003.

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

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

JENSEN, F. B.; NIKINMAA, M.; WEBBER, R. E. Effects of exercise stress on acid-base balance and respiratory function in blood of the teleost *Tinca tinca*. **Journal of Respiration Physiology**. v.51, p. 291-301, 1983.

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

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

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

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

JUNGMANN, R. A. et al. Cyclic AMP regulation of lactate dehydrogenase. **J. Biol. Chem.**, v.258, p. 5312 – 5318, 1983.

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

KIEFFER, J. D. Limits to exhaustive exercise in fish. **Comp. Biochem. Physiol.**, v.126 (A), p. 161-179, 2000.

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

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

KIESSLING, A. et al. Age, ration level, and exercise affect the fatty acid profile of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) muscle differently. **Aquac.**, v.243, p. 345-356, 2005.

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

KIRSHBAUM, M. N. A review of the benefits of whole exercise during and after treatment for breast cancer. **J. Clin. Nurs.**, vol 16, p. 104-121, 2007.

KNUDSEN, P. K.; JENSEN, F. B. Effects of exhausting exercise and catecholamines on K<sup>+</sup> balance, acid-base status and blood respiratory properties in carp. **Comp. Biochem. Physiol.**, v.119(A), p. 301-307, 1998.

KRUGER, N.J. The Bradford method for protein quantification. In: WALKER, J.M (Ed.), **Methods in Molecular Biology: Basic Protein and Peptide Protocols**. Human Press Inc., Totowa, v.32, 1994.

KUBITZA, F. **Nutrição e alimentação de peixes cultivados**. 3. ed. Jundiaí: Degaspari, 1998.

KUBITZA, F. Questões frequentes dos produtores sobre a qualidade dos alevinos de tilápia. **Panor. Aquic.**, v.16, p. 14-23, 2006.

KUMAR, S.; MCGINNIS, J. F.; de VELLIS, J. Catecholamine regulation of lactate dehydrogenase in rat brain cell culture. **J. Biol. Chem.**, v.255, p. 2315-2321, 1980.

KVIST, A. et al. Carrying large fuel loads during sustained bird flight is cheaper than expected. **Nat.**, v.413, p. 730-732, 2001.

LACKNER, R. et al. Responses of intermediary metabolism to acute handling stress and recovery in untrained and trained *Leuciscus cephalus* (Cyprinidae, Teleostei). **J. Exp. Biol.**, v.140, p. 393:404, 1988.

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

- LEONARD, J. B. K.; IWATA, M.; UEDA, H. Seasonal changes of hormones and muscle enzymes in adult lacustrine masu (*Oncorhynchus masou*) and sockeye salmon (*O. nerka*). **Fish Physiol. Biochem.**, v.25, p. 153-163, 2002.
- LIMA, A. O. et al. Métodos de laboratório aplicados à clínica. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 653 p. 1969.
- LU, G. D. The metabolism of pyruvic acid in normal and vitamin B-deficient state. I. A rapid specific and sensitive method for the estimation of blood pyruvate. **Biochem. J.**, v.33, p. 249-254, 1939.
- LUTHER, P. K.; MUNRO, P. M. G.; SQUIRE, J. M. Muscle ultrastructure in the Teleost fish. **Micron.**, v.26 (5), p. 431-459, 1995.
- MAGNONI, L. J. et al. Effects of long-distance migration on circulating lipids of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). **Can. J. Fish. Aquat. Sci.**, v.63, p. 1822-1829, 2006.
- MAGNONI, L.; WEBER, J-M. Endurance swimming activates trout lipoprotein lipase: plasma lipids as a fuel for muscle. **J. Exp. Biol.**, v.210, p. 4016-4023, 2007.
- MARTÍNEZ, M. et al. Condition, prolonged swimming performance and muscle metabolic capacities of cod *Gadus morhua*. **J. Exp. Biol.**, v.206, p. 503-511, 2003.
- McCLELLAND, G. B. et al. Temperature - and exercise - induced gene expression and metabolic enzyme changes in skeletal muscle of adult zebrafish (*Danio rerio*). **J. Physiol.**, v. 577 (2), p. 739-751, 2006.
- McKENZIE, D. J. et al. Dietary fatty acid composition influences swimming performance in Atlantic salmon (*Salmo salar*) in seawater. **Fish Physiol Biochem.**, v.19, p. 111-122, 1998.
- McKENZIE, D. J. et al. Effects of diet on responses to exhaustive exercise in Nile tilapia (*Oreochromis nilotica*) acclimated to three different temperatures. **Comp. Biochem. Physiol.**, v.114A, (No. 1), p. 43-50, 1996.
- MELO, F. B. et al. Effects of dietary levels of protein on nitrogenous metabolism of *Rhamdia quelen* (Teleostei: PiMELOdidae). **Comp. Biochem. and Physiol.**, v.145 (A), p. 181-187, 2006.
- MILLIGAN, C. L. Metabolic recovery from exhaustive exercise in rainbow trout. **Comp. Biochem. Physiol.**, v.113, p. 51-60, 1996.
- MILLIGAN, C. L.; GIRARD, S. S. Lactate metabolism in rainbow trout. **J. Exp. Biol.**, v.180, p. 175-193, 1993.
- MOHANTA, K. N.; MOHANTY, S. N.; JENA, J. K. Protein-sparing effect of carbohydrate in silver barb, *Puntius gonionotus fry*. **Aquaculture Nutrition**, v.13, p. 311-317, 2007.

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

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

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

MOYES, C. D.; WEST, T. G. Exercise metabolism of fish. In: HOCHACHKA, P. W., MOMMSEN, T. P. (Ed.). **Metabolic Biochemistry. Biochemistry and Molecular Biology of Fishes.** Amsterdam: Elsevier Science, v.4, p. 367-392, 1995.

MUÑOS-RAMIREZ, A. P.; CARNEIRO, D. J. Suplementação de lisina e metionina em dietas com baixo nível protéico para o crescimento inicial do pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg). **Acta Scient.**, v.24 (4), p. 909-916, 2002.

NORVÁK, M. Colorimetric ultramicro method for the determination of free fatty acids. *Journal of lipid research.* v.6, p. 431-433, 1965.

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

PAIGE, J. A. et al. Effect of a high omega-3 fatty acid diet on cardiac contractile performance in *Oncorhynchus mykiss*. **Card. Res.**, v.31, p. 249-262, 1996.

PERAGÓN, J. et al. Carbohydrates affect protein-turnover rates, growth, and nucleic acid content in the white muscle of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquac.**, v.179 (1-4), p. 425-437, 1999.

PERES, H.; OLIVA-TELES, A. Effect of dietary lipid level on growth performance and feed utilization by European sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*). **Aquac.**, v.179, p. 325-334, 1999.

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

RANDALL, D. The control of respiration and circulation in fish during exercise and hypoxia. *Journal of Experimental Biology.* 100: 275-288, 1982.

REIDY, S. P.; KERR, S. R., NELSON, J. A. Aerobic and anaerobic swimming performance of individual atlantic cod. **J. Exp. Biol.**, v.203, p. 347-357, 2000.

REITMAN, S.; FRANKEL, S. A colorimetric method for determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. **Am. J. Clin. Pathol.**, v.28, p. 125-135, 1993.

RICHARDS, J. G.; HEIGENHAUSER, G. J. T.; WOOD, C. M. Lipid oxidation fuels recovery from exhaustive exercise in white muscle of rainbow trout. **Regul. Integr. Comp. Physiol.**, vol 282, p. 89-99, 2002.

RICHARDS, J. G. et al. Substrate utilization during graded aerobic exercise in rainbow trout. **Exp. Biol.**, v.205, p. 2067-2077, 2002.

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

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

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

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

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

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

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

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

SHULMAN, R. G.; ROTHMAN, D. L. Enzymatic phosphorylation of muscle glycogen synthase: a mechanism for maintenance of metabolic homeostasis. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.93, p. 7491 -7495, 1996.

SHULMAN, R. G.; BLOCH, G.; ROTHMAN, D. L. *In vivo* regulation of muscle glycogen synthase and the control of glycogen synthesis. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.92, p. 8535 -8542, 1995.

SILVEIRA, U. S.; LOGATO, P. V. R.; PONTES, E. C. Utilização e metabolismo dos carboidratos em peixes. **Rev. Elet. Nutr.**, v.6 (1), p. 817-836, 2009.

SOUZA, V. L. et al. Composição corporal e índices biométricos do pacu pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes, Characidae) submetido a ciclos alternados de restrição alimentar e realimentação. **Acta Scient**, vol.24 (2), p. 533-540, 2002.

STOIBER, W. et al. Cellularity changes indeveloping red and white fish muscle at different temperatures: simulatin natural environmental conditions for a temperate freshwater cyprinid. **J. Exp. Biol.**, v.205, p. 2349-2364, 2002.

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

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

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

TOTLAND, G. K. et al. Growth and composition of the swimming muscle of adult Atlantic Salmon (*Salmo salar*.) during long-term sustained swimming. **Aquac.**, v.66, p. 299-313, 1987.

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

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

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

VERGARA, J. M. et al. Growth, feed utilization and body lipid content of gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed increasing lipid levels and fish meals of different quality. **Aquac.**, v.179 (1-4), p. 35-44, 1999.

VIEGAS, E. M. M. et al. Farelo de canola em dietas para o pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg 1987): efeitos sobre o crescimento e a composição corporal. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, vol.60 (6), p.1502-1510, 2008.

VUORI, I. M. Health benefits of physical activity with special reference to interaction with diet. **Publ. Health Nutr.**, v.4 (2B), p. 517-528, 2001.

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

WEBER, J-M. The physiology of long-distance migration: extending the limits of endurance metabolism. Commentary. **J. Exp. Biol.**, v.212, p. 593-597, 2009.

WOOD, C. M. Acid-base and ion balance, metabolism, and their interactions, after exhaustive exercise in fish. **J. Exp. Biol.**, v.160, p. 285-308, 1991.

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

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

YOUNG, P. S.; CECH Jr., J. J. Effects of exercise conditioning on stress responses and recovery in cultured and wild young-of-the-year striped bass (*Morone saxatilis*). **Can. J. Fish. Aquat. Sci.**, v.50, p. 2094-2099, 1993.

YOUNG, P. S.; CECH Jr., J. J. Optimum exercise conditioning velocity for growth, muscular development, and swimming performance in young-of-the-year striped bass, (*Morone saxatilis*). **Can. J. Fish. Aqua. Sci.**, v.51, p. 1519-1527, 1994a.