

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIENCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**ESTUDO DO DESENVOLVIMENTO MUSCULAR E
ENZIMÁTICO INICIAL DO JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)
COM ALIMENTOS DE ORIGEM ANIMAL E
VEGETAL**

TESE DE DOUTORADO

Suzete Rossato

**Santa Maria, RS, Brasil
2015**

**ESTUDO DO DESENVOLVIMENTO MUSCULAR E
ENZIMÁTICO INICIAL DO JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) COM
ALIMENTOS DE ORIGEM ANIMAL E VEGETAL**

Suzete Rossato

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de
Pós Graduação em Zootecnia, Área de Concentração em
Produção Animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS),
como requisito parcial para a obtenção do grau de
Doutora em Zootecnia.

Orientador: Prof. João Radünz Neto

**Santa Maria, RS, Brasil
2015**

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Rossato, Suzete
ESTUDO DO DESENVOLVIMENTO MUSCULAR E ENZIMÁTICO
INICIAL DO JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) COM ALIMENTOS DE
ORIGEM ANIMAL E VEGETAL / Suzete Rossato.-2015.
181 p.; 30cm

Orientador: João Radünz Neto
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-
Graduação em Zootecnia, RS, 2015

1. Atividade enzimática 2. Concentrado proteico de
soja 3. Desenvolvimento muscular 4. Farinha de peixe 5.
Taurina I. Radünz Neto, João II. Título.

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós Graduação em Zootecnia**

**A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Tese de Doutorado**

**ESTUDO DO DESENVOLVIMENTO MUSCULAR E ENZIMÁTICO
INICIAL DO JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) COM ALIMENTOS DE
ORIGEM ANIMAL E VEGETAL**

elaborada por
Suzete Rossato

Como requisito para a obtenção do grau de
Doutora em Zootecnia

Comissão Examinadora:

João Radünz Neto, PhD.
(Presidente/Orientador)

Ivanir José Coldebella, Dr. (UFSM)

Jorge Erick Garcia Parra, Dr. (UFFS)

Luciano de Oliveira Garcia, Dr. (FURG)

Rafael Lazzari, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 27 de fevereiro de 2015.

A todos meus familiares;
Pai, mãe, irmãos, sobrinha, vó, tios, primos;
Que me acolheram, apoiaram e incentivaram.
Dedico este trabalho

“Vencer a si próprio é a maior de todas as vitórias”

Platão

AGRADECIMENTOS

À DEUS pela vida.

Aos meus pais, pela educação, carinho e apoio. Aos meus irmãos e família, pela compreensão, amizade, companheirismo. A minha família de Santa Maria (tios e primos) muito obrigada por tudo.

Ao professor João Radünz Neto, pelo exemplo, paciência, ensinamentos e incentivo na busca do conhecimento.

À Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pela vaga de estudos e pela dedicação dos professores.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pelo período de bolsa de estudos, a mim concedida.

Ao Instituto Federal Farroupilha – Campus São Borja, pela concessão do afastamento parcial e total para que eu pudesse me dedicar integralmente ao Doutorado, aos professores e à Direção muito obrigada pela confiança e apoio.

À Maria Alvarina Aguerre, grande amiga, muito obrigada pelo carinho, amizade, cuidados, com certeza você sempre será uma pessoa muito especial para mim.

Aos meus amigos: Isadora Liberalesso de Freitas, Daniel Antônio Rotili, Suziane Ghedini Martinelli, Alexandra Pretto, Eduardo Kelm Battisti, Daniel Prois Flores, não tenho palavras para agradecer, sem vocês com certeza não teria conseguido, muito obrigada. E a todos os demais amigos do Laboratório de Piscicultura que contribuíram para a realização deste sonho, muito obrigada.

Ao Instituto Federal de Santa Catarina, ao professor Eduardo Carginin Ferreira, à funcionária Grazielle e ao bolsista Antônio, pela ajuda nas análises histológicas. À Grazielle (minha irmã do coração) e sua família pela amizade e acolhimento.

A todos, meu reconhecimento e agradecimento.

A todos, meu muito obrigado!

Tudo passa...
Todas as coisas na Terra passam.
Os dias de dificuldade passarão...
Passarão, também, os dias de amargura e solidão.

As dores e as lágrimas passarão.
As frustrações que nos fazem chorar... Um dia passarão...
A saudade do ser querido que está longe, passará.

Os dias de tristeza...
Dias de felicidade...
São lições necessárias que, na Terra, passam, deixando no espírito imortal
as experiências acumuladas.

Se, hoje, para nós, é um desses dias,
repleto de amargura, paremos um instante.
Elevemos o pensamento ao Alto
e busquemos a voz suave da Mãe amorosa,
a nos dizer carinhosamente: 'isto também passará'

E guardemos a certeza pelas próprias dificuldades já superadas que não há mal que
dure para sempre,
semelhante a enorme embarcação que, às vezes, parece que vai soçobrar diante das
turbulências de gigantescas ondas.

Mas isso também passará porque Jesus está no leme dessa Nau
e segue com o olhar sereno de quem guarda a certeza de que a
agitação faz parte do roteiro evolutivo da Humanidade
e que um dia também passará.

Ele sabe que a Terra chegará a porto seguro
porque essa é a sua destinação.

Assim, façamos a nossa parte o melhor que pudermos,
sem esmorecimento e confiemos em Deus,
aproveitando cada segundo, cada minuto que, por certo, também passará.

Tudo passa... exceto Deus.
Deus é o suficiente!

Chico Xavier

RESUMO

Tese de Doutorado
Programa de Pós Graduação em Zootecnia
Universidade Federal de Santa Maria

ESTUDO DO DESENVOLVIMENTO MUSCULAR E ENZIMÁTICO INICIAL DO JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) COM ALIMENTOS DE ORIGEM ANIMAL E VEGETAL

AUTORA: SUZETE ROSSATO
ORIENTADOR: JOÃO RADÚNZ NETO

Data e local da defesa: Santa Maria, 27 de fevereiro de 2015

O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade da utilização de dietas compostas por ingredientes de origem animal e vegetal na alimentação de pós-larvas de jundiás (*Rhamdia quelen*) e sua influência no desenvolvimento dos animais. Foram realizados três experimentos onde testou-se no primeiro (E1) a substituição total (30%) e parcial (15%) do fígado de aves por farinha de peixe (FJ) e/ou concentrado proteico de soja (CPS) na dieta padrão contendo 30% de fígado de aves. No segundo (E2) níveis de substituição (5; 10; 15; 20 e 25%) do fígado por FJ e no terceiro (E3) níveis de substituição do fígado por CPS (15; 20; 25 e 30%) suplementado com taurina (CPST). Foram analisados parâmetros de desempenho (peso, comprimento total, fator de condição, taxa de crescimento específico, ganho em peso diário, sobrevivência e produto peso versus sobrevivência), desenvolvimento muscular (diâmetro da fibra, número de fibras/mm² e número total de fibras) e atividade enzimática (tripsina, quimotripsina, lipase, amilase e maltase). O melhor desempenho das pós-larvas de jundiá foi a partir das dietas 15FJ (E1 e E2) e 15CPST (E3). No desenvolvimento muscular encontrou-se maiores diâmetros e número total de fibras com as dietas citadas acima. O desenvolvimento do sistema digestório não foi prejudicado pelas dietas fornecidas às pós-larvas neste estudo. As enzimas analisadas já estavam presentes e ativas no momento da primeira alimentação. A atividade das enzimas oscilou durante todos os períodos experimentais, apresentando redução da atividade da tripsina e quimotripsina para as dietas com maiores percentuais de CPST em relação aquelas com menor percentual. De acordo com os resultados concluímos que a combinação das fontes de origem animal e vegetal aprimorou a dieta, contribuindo para melhorar o desenvolvimento das pós-larvas de jundiá.

Palavras-chave: Atividade enzimática. Concentrado proteico de soja. Desenvolvimento muscular. Farinha de peixe. Taurina.

ABSTRACT

Thesis of Doctorate
Post Graduate Program in Animal Science
Federal University of Santa Maria

MUSCULAR DEVELOPMENT AND ENZYMATIC STUDY INITIAL OF JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) WITH ORIGIN ANIMAL AND VEGETAL FOOD

AUTHOR: SUZETE ROSSATO

ADVISER: JOÃO RADÜNZ NETO

Date and Defense Place: Santa Maria, February 27, 2015

The aim of this study was to evaluate the viability of using diets composed of ingredients of plant and animal origin in the feeding of post-larvae jundiá (*Rhamdia quelen*) and its influence on the development of animals. Experiments were carried out where it is tested in the first (E1) the total replacement (30%) and partial (15%) of the liver poultry for fish meal (FJ) and / or protein soy concentrate (CPS) on the standard diet containing 30% liver poultry. In the second (E2) substitution levels (5; 10; 15; 20 and 25%) of the liver by FJ and third (E3) of the liver levels for CPS replacement (15, 20, 25 and 30%) supplemented with taurine (CPST). Performance parameters were analyzed (weight, total length, condition factor, specific growth rate, daily weight gain, survival and product weight versus survival), muscle development (fiber diameter, number of fibers / mm² and total number of fibers) and enzymatic activity (trypsin, chymotrypsin, lipase, amylase and maltase). The best performance of jundiá post-larvae was from 15FJ diets (E1 and E2) and 15CPST (E3). In the muscle development is found larger diameter and total number of fibers with the above mentioned diets. The development of the digestive system was not affected by the diets provided to post-larvae in this study. The enzymes assessed were already present and active at the first feeding. The enzyme activity varied during all experimental periods, with reduced activity of trypsin and chymotrypsin for diets with higher percentages of CPST over those with a lower percentage. According to the results we conclude that the combination of the sources of animal and plant improved the diet, helping improve the development of post-larvae of jundiá.

Keywords: Enzymatic activity. Soy protein concentrate. Muscular development. Fish meal. Taurine.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Capítulo I

Figura 1. Esquema demonstrando a formação da fibra muscular (miofibra) durante a miogênese.....	36
---	----

Capítulo II

Figura 1. Desenvolvimento embrionário do jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>).....	64
Figura 2. Exemplares de pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas mistas.....	66

Capítulo III

Figura 1. Curva de crescimento das pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas mistas.....	82
Figura 2. Atividade enzimática de pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas mistas.	84
Figura 3. Cortes histológicos de pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas mistas....	86

Capítulo IV

Figura 1. Exemplares de pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas compostas de farinha de peixe.....	103
--	-----

Capítulo V

Figura 1. Peso das pós-larvas alimentadas com dietas compostas de farinha de peixe.....	121
Figura 2. Atividade enzimática de pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas compostas de farinha de peixe.....	123
Figura 3. Exemplares de pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas compostas de farinha de peixe.....	126

Capítulo VI

Figura 1. Exemplares de pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas compostas de concentrado proteico de soja e suplementadas com taurina.....	143
--	-----

Capítulo VII

Figura 1. Exemplares de pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas compostas de concentrado proteico de soja e suplementadas com taurina..... 165

LISTA DE TABELAS

Capítulo II

Tabela 1. Dietas ofertadas às pós-larvas de jundiá em 28 dias de alimentação.....	59
Tabela 2. Parâmetros zootécnicos de pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas mistas.....	62
Tabela 3. Desenvolvimento muscular de pós-larvas alimentadas com dietas mistas.....	67

Capítulo III

Tabela 1. Perfil lipídico das dietas utilizadas na alimentação das pós-larvas de jundiá....	80
Tabela 2. Atividade enzimática de larvas de jundiá, antes do início da alimentação exógena.....	83

Capítulo IV

Tabela 1. Dietas ofertadas às pós-larvas de jundiá em 28 dias de alimentação.....	98
Tabela 2. Parâmetros zootécnicos de pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas compostas de farinha de peixe.....	100
Tabela 3. Desenvolvimento muscular de pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas compostas de farinha de peixe	105

Capítulo V

Tabela 1. Atividade enzimática de larvas de jundiá, antes do início da alimentação exógena.....	118
Tabela 2. Perfil lipídico das dietas utilizadas na alimentação de pós-larvas de jundiá.....	119

Capítulo VI

Tabela 1. Dietas ofertadas às pós-larvas de jundiá no período de 28 dias de alimentação.....	137
Tabela 2. Parâmetros zootécnicos de pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas compostas de concentrado proteico de soja e suplementadas com taurina	141
Tabela 3. Desenvolvimento muscular de pós-larvas alimentadas com dietas compostas	

de concentrado proteico de soja e suplementadas com taurina	145
---	-----

Capítulo VII

Tabela 1. Proteína corporal total e atividade da protease ácida, tripsina e quimotripsina em pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas compostas de concentrado proteico de soja e suplementado com taurina.....	159
Tabela 2. Atividades da lipase, amilase, maltase em pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas com dietas compostas de concentrado proteico de soja suplementadas com taurina.....	161
Tabela 3. Perfil lipídico das dietas utilizadas na alimentação de pós-larvas de jundiá.....	163

LISTA DE APÊNDICES

Figura 1. Circuito experimental utilizado para larvicultura do jundiá.....	181
Figura 2. Unidade experimental com animais alojados ao iniciar e ao final do período experimental.....	181
Figura 3. Exemplares de pós-larvas de jundiá aos 7 e 28 dias experimentais.....	181

LISTA DE ABREVIATURAS

AA	Aminoácidos
CPS	Concentrado proteico de soja
CPST	Concentrado proteico de soja suplementado com Taurina
CT	Comprimento total
DAE	Dias após eclosão
FAD	Farelo de arroz desengordurado
FC	Fator de condição
FDN	Fibra em detergente neutro
FJ	Farinha de peixe (jundiá)
FS	Farelo de soja
GPD	Ganho em peso diário
Hpf	Horas após fertilização
P x S	Produto peso versus sobrevivência
SD	Sistema digestório
SOB	Sobrevivência
T	Taurina
TCE	Taxa de crescimento específico

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	18
OBJETIVO GERAL.....	20
Objetivos específicos.....	20
CAPÍTULO I – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
1.1 Nutrição de reprodutores.....	21
1.2 Desenvolvimento embrionário.....	22
1.3 Início da alimentação exógena.....	23
1.4 Larvicultura do Jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>).....	24
1.5 Nutrição e desenvolvimento inicial.....	28
1.6 Sistema digestório.....	31
1.7 Enzimas digestivas.....	32
1.8 Desenvolvimento muscular.....	35
1.9 Fontes alimentares.....	38
1.10 Taurina.....	40
1.11 Referências bibliográficas.....	42
CAPÍTULO II - CRESCIMENTO E HISTOLOGIA MUSCULAR DE PÓS-LARVAS DE JUNDIÁ (<i>Rhamdia quelen</i>) ALIMENTADAS COM DIETAS MISTAS.....	55
2.1 Introdução.....	56
2.2 Material e métodos.....	57
2.3 Resultados e discussão.....	61
2.4 Conclusão.....	69
2.5 Agradecimentos.....	69
2.6 Referências bibliográficas.....	69
CAPÍTULO III - ENZIMAS DIGESTIVAS EM LARVICULTURA DO JUNDIÁ (<i>Rhamdia quelen</i>)	74
3.1 Introdução	75
3.2 Material e métodos.....	76

3.3 Resultados e discussão.....	79
3.4 Conclusão.....	87
3.5 Agradecimentos.....	87
3.6 Referências bibliográficas.....	88

CAPÍTULO IV - DESENVOLVIMENTO MUSCULAR DE PÓS-LARVAS DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) ALIMENTADAS COM DIETAS COMPOSTAS DE FARINHA DE PEIXE

94

4.1 Introdução.....	95
4.2 Material e métodos.....	96
4.3 Resultados e discussão.....	99
4.4 Conclusão.....	106
4.5 Agradecimentos.....	106
4.6 Referências bibliográficas.....	107

CAPÍTULO V - ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE PÓS-LARVAS DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) ALIMENTADAS COM DIETAS COMPOSTAS DE FARINHA DE PEIXE.....

112

5.1 Introdução.....	113
5.2 Material e métodos.....	114
5.3 Resultados e discussão.....	117
5.4 Conclusão.....	127
5.5 Agradecimentos	127
5.6 Referências bibliográficas.....	128

CAPÍTULO VI - DESENVOLVIMENTO MUSCULAR DE PÓS-LARVAS DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) ALIMENTADOS COM CONCENTRADO PROTEICO DE SOJA E SUPLEMENTADO COM TAURINA.....

134

6.1 Introdução.....	135
6.2 Material e métodos.....	136
6.3 Resultados e discussão.....	139
6.4 Conclusão	147
6.5 Agradecimentos.....	147

6.6 Referências bibliográficas.....	147
-------------------------------------	-----

CAPÍTULO VII - ATIVIDADE ENZIMÁTICA NA LARVICULTURA DO JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) ALIMENTADOS COM DIETAS COMPOSTAS

SUPLEMENTADAS.....	153
---------------------------	------------

7.1 Introdução	154
----------------------	-----

7.2 Material e métodos.....	155
-----------------------------	-----

7.3 Resultados e discussão.....	157
---------------------------------	-----

7.4 Conclusão.....	166
--------------------	-----

7.5 Agradecimentos.....	167
-------------------------	-----

7.6 Referências bibliográficas.....	167
-------------------------------------	-----

DISCUSSÃO GERAL.....	173
-----------------------------	------------

CONCLUSÕES GERAIS	177
--------------------------------	------------

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	178
--	------------

APÊNDICES.....	181
-----------------------	------------

INTRODUÇÃO GERAL

A larvicultura é uma fase de grande importância na cadeia produtiva dos peixes. Mas para que ocorra o aumento na produtividade e sobrevivência das pós-larvas devemos usar rações adequadas, completas e altamente digestíveis (RADÜNZ NETO et al., 2001). Assim, quando a nutrição das pós-larvas é adequada conseguimos obter animais saudáveis e de qualidade. O aumento da produção do jundiá (*Rhamdia quelen*) especialmente no sul do Brasil, por si só justifica a importância da realização de estudos sobre nutrição inicial de pós-larvas desta espécie. Onde seu rápido crescimento, também chamado desenvolvimento muscular, é influenciado principalmente pela qualidade da dieta ofertada (LEITÃO et al., 2011). E esta será vital para aumentar a sobrevivência e conseqüentemente aumentar o número de alevinos produzidos por desova. A larvicultura das espécies nativas obteve grandes avanços, mas ainda existem muitas lacunas a serem preenchidas, principalmente quando pensamos em desenvolvimento adequado e conseqüentemente sobrevivência da maioria das larvas eclodidas.

O período embrionário e larval são fases de alta exigência nutricional onde ocorrem processos importantes como crescimento e diferenciação de tecidos. O crescimento é um processo altamente dinâmico e complexo, que ocorre a partir do aumento da massa muscular, por hiperplasia ou hipertrofia das fibras musculares acompanhado do crescimento esquelético, que dá a sustentação necessária ao músculo (CARANI et al., 2008). Ele ocorre a partir da utilização do alimento que deve ser de boa qualidade, palatável e digestível (RADÜNZ NETO et al., 2001) para que as enzimas digestivas atuem corretamente. As enzimas digestivas agem de acordo com a composição da dieta e com o hábito alimentar de cada espécie (LAZO et al., 2011).

Ainda há uma carência muito grande de conhecimento sobre a atuação de diversas matérias primas sobre o crescimento inicial dos peixes. Estas, mesmo sendo de qualidade, não são eficientemente utilizadas, devido à atuação de princípios antinutricionais, que dificultam a atividade das enzimas digestivas (DREW et al., 2007). Porém estas matérias primas em pequenas quantidades podem compor dietas nutricionalmente completas.

O concentrado proteico de soja é uma fonte proteica de qualidade que pode ser utilizada em dietas na larvicultura de peixes, mas a quantidade a ser incluída na dieta de pós-larvas de jundiá ainda não está bem esclarecida. A inclusão desta fonte em percentuais elevados pode prejudicar o desenvolvimento das pós-larvas. Esta fonte possui deficiência em

alguns aminoácidos essenciais (lisina e metionina) (KAUSHIK et al., 1995) que são importantes para o crescimento e devem ser suplementados na dieta. Também podem apresentar alguns princípios antinutricionais (inibidores enzimáticos, saponinas) que podem prejudicar o desenvolvimento das pós-larvas de peixes (HOULIHAN et al., 2001).

A farinha de peixe é um ingrediente de alto valor biológico e bom equilíbrio em aminoácidos essenciais, considerada alimento padrão para ensaios biológicos e muito usada em larvicultura de peixes (TACON, 1996; ENKE et al., 2009). Mas o grande problema enfrentado atualmente é o aumento na demanda, devido ao crescimento da aquicultura, causando menor disponibilidade deste produto no mercado mundial. As farinhas de peixe nacionais são confeccionadas com peixes de baixa qualidade e resíduos de frigoríficos, e não tem padrão constante. É utilizada na aquicultura como ingrediente estratégico para fases críticas do ciclo de vida animal, fases iniciais de desenvolvimento, devido a sua exclusiva qualidade nutricional (BOSCOLO et al., 2008).

A taurina é um aminoácido considerado semi-essencial para a maioria das espécies de peixes (EL-SAYED, 2013). Algumas espécies de peixe não precisam da suplementação com taurina, pois possuem a enzima (L-cisteína-sulfinato descarboxilase) que transforma a metionina da dieta em taurina (EL-SAYED, 2013). Mas a capacidade dos peixes de sintetizar a taurina é dependente da espécie e possivelmente afetada pelo estágio de desenvolvimento (WILSON, 2002). O alimento vivo (copépodos) presente no ambiente natural e utilizado para alimentação inicial das larvas de peixes contém níveis elevados de taurina (HELLAND et al., 2003; VAN DER MEEREN et al., 2008). A suplementação com taurina em dietas com altos percentuais de ingredientes de origem vegetal contribui para o aumento do consumo e do desempenho, muitas vezes considerada promotora de crescimento para peixes (CHATZIFOTIS et al., 2008). Ela ajuda a manter o metabolismo, diminuir a atividade catabólica dos aminoácidos e atua na proteção ao estresse oxidativo das células (BAÑUELOS-VARGAS et al., 2014). Neste contexto, diversas fontes proteicas e energéticas já foram testadas para a nutrição inicial de pós-larvas de jundiá, visto que a transição alimentar - nutrição vitelínica/ração granulada - é um dos fatores que mais colabora com a mortalidade nos primeiros dias de vida destes animais.

Desta forma, o estudo da influência das fontes que compõem a dieta sobre o desenvolvimento muscular e enzimático das pós-larvas de jundiá é essencial para estabelecermos uma dieta adequada, reduzir a mortalidade inicial e aumentar a produção de alevinos por desova.

OBJETIVO GERAL

Avaliar a viabilidade da utilização de dietas compostas por ingredientes de origem animal e vegetal na alimentação de pós-larvas de jundiás (*Rhamdia quelen*) e sua influência no desenvolvimento dos animais.

Objetivos Específicos

- Analisar a influência das dietas no desenvolvimento muscular de pós-larvas de jundiás;
- Quantificar a atividade enzimática das larvas e pós-larvas de jundiá desde a eclosão até o 28º dia após início da alimentação com fontes de origem animal e vegetal;
- Observar a influência da inclusão das fontes de origem animal e vegetal no desenvolvimento do sistema digestório;
- Estudar o efeito da suplementação de taurina adicionada em dietas compostas por fontes vegetais sobre o crescimento;
- Avaliar o crescimento e sobrevivência das pós-larvas de jundiás alimentadas com fontes de origem animal e vegetal.

CAPÍTULO I

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Nutrição dos reprodutores

A nutrição adequada dos reprodutores é essencial para a obtenção de ovos e larvas saudáveis. Os processos de desenvolvimento das gônadas e ovoposição são relacionados principalmente às variações de temperatura e fotoperíodo. O fotoperíodo, dentre outros fatores e fenômenos ambientais, é o que apresenta maior influência sobre o biorritmo dos animais, afetando parâmetros fisiológicos de diversos teleósteos, bem como a reprodução (NAVARRO e NAVARRO, 2012). No entanto, o desenvolvimento gonadal e especialmente a qualidade da desova depende da qualidade nutricional das dietas fornecidas aos reprodutores (IZQUIERDO et al., 2001).

Quando as dietas fornecidas aos reprodutores são deficientes, a transferência de alguns nutrientes como os ácidos graxos podem se tornar insuficientes para o desenvolvimento normal dos oócitos, e isto pode reduzir a qualidade dos gametas. Os ácidos graxos transferidos para as gônadas são incorporadas como material nutritivo no citoplasma do ovócito e serve como principal fonte de alimentação endógena para o desenvolvimento do embrião (GOMES et al., 2010). Os ácidos graxos altamente insaturados quando fazem parte da dieta dos reprodutores aumentam a fertilidade, fecundidade e qualidade do ovo (IZQUIERDO et al., 2001). A nutrição é importante para a fecundidade e maturação dos peixes (COLDEBELLA et al., 2011) por isso que na nutrição de fêmeas de jundiá, deverão ser consideradas não somente o tipo, mas sim a qualidade das fontes lipídicas empregadas (PARRA et al., 2008).

A dieta para reprodutores de jundiá foi estudada por Parra et al. (2010). Eles concluíram que a farinha de carne e ossos e farelo de soja como fontes protéicas apresentam-se como boa opção na alimentação de fêmeas reprodutoras de jundiá. Dietas com 28% de proteína bruta, segundo Coldebella et al. (2011) foram suficientes para a manutenção do estoque de reprodutores e os índices reprodutivos de fêmeas de *Rhamdia quelen*.

As vitaminas são muito importantes na nutrição dos reprodutores, uma delas, a vitamina C é transferida para as larvas através do vitelo e desempenha importante papel

fisiológico no desenvolvimento embrionário e larval. A suplementação das dietas com vitamina C aumenta a viabilidade do espermatozoides de machos, melhora a taxa de eclosão e reduz a ocorrência de deformidades nas espécies de peixes tropicais. Da mesma forma a nutrição mineral dos reprodutores é importante, principalmente no que diz respeito a elementos como o fósforo, manganês e zinco, para bom desempenho reprodutivo (OLIVEIRA et al., 2004).

1.2 Desenvolvimento embrionário

Os processos de desenvolvimento embrionário e larvicultura nas diversas espécies de peixes sejam eles de água doce, salgada, fria ou quente é diferenciado, iniciando com a nutrição dos reprodutores que é essencial para a formação dos gametas (PARRA et al., 2008). Observando o fotoperíodo, temperatura, condições ambientais em geral e sua influência nos processos de incubação, desenvolvimento embrionário, eclosão, absorção do vitelo e início da alimentação exógena.

Na embriogênese, a proteína é fonte de aminoácidos essenciais que estão envolvidos nas principais atividades de síntese nos estágios iniciais de desenvolvimento (PARRA et al., 2010). Além disso, as proteínas estão presentes nos ovos de peixes como lipoproteínas, hormônios e enzimas, determinando a qualidade do ovo (BROOKS et al., 1997). A qualidade lipídica e composição em ácidos graxos da dieta influenciam significativamente na desova, qualidade de ovos e sobrevivência das larvas e pós-larvas (IZQUIERDO et al., 2001). Os lipídios incluem alguns dos nutrientes mais importantes que afetam a sobrevivência e o crescimento dos peixes em suas fases iniciais de vida (COLDEBELLA et al., 2013).

O embrião cresce e se mantém usando as reservas vitelínicas, originárias da mãe, presentes no ovo no momento da fertilização. As reservas vitelínicas são diferentes para cada espécie, por exemplo, o embrião de robalo tem inicialmente à sua disposição um joule de reservas, oito vezes menos do que a carpa e 4800 vezes menos do que o salmão. Em trutas o tamanho dos alevinos produzidos é diretamente proporcional ao tamanho do ovo, a eclosão ocorre ao mesmo tempo, independentemente do tamanho (GATESOUBE et al., 2001).

O vitelo consiste principalmente de proteínas e gordura (energia). As reservas vitelínicas de certas espécies de peixes marinhos contém além das proteínas, um glóbulo de lipídio. Este glóbulo é composto de lipídios apolares (triacilglicerol e ceras). Ele não possui proteínas para a síntese de novos tecidos. Ao contrário, ele é a reserva energética para natação

e catabolismo oxidativo das proteínas. Alguns autores sugerem que o glóbulo de lipídio por ser menos denso auxilia no equilíbrio para a natação em larvas quando ainda não possuem a bexiga natatória (GATESOUBE et al., 2001).

O desenvolvimento embrionário é diferenciado nas diversas espécies de peixes. Nas espécies como o peixe-rei (*Odontesthes bonariensis*) de água doce, o desenvolvimento é longo e a eclosão ocorre entre uma ou duas semanas após a fertilização. O período de incubação com temperatura média de 15°C varia de 18 a 21 dias. Não há sincronização do momento de eclosão, pode transcorrer três a quatro dias entre a eclosão da primeira e da última larva do mesmo lote de ovos. As larvas apresentam reserva de vitelo e gota de óleo (SAMPAIO e PIEDRAS, 2013). Em peixes de água fria, como é o caso da truta arco – íris (*Oncorhynchus mykiss*), o período de incubação é de cerca de 30 dias a temperatura média diária de 10°C, sendo que a eclosão total do lote de ovos pode estender-se por até cinco dias (TABATA e PORTZ, 2004). Em peixes de águas quentes, como o pirarucu (*Arapaima gigas*), o período de incubação (eclosão até absorção total do saco vitelínico) é de 8 a 9 dias (PEREIRA-FILHO e ROUBACH, 2013).

1.3 Início da alimentação exógena

Após a absorção do vitelo, ou até antes de sua absorção total, as larvas começam a se alimentar necessitando de alimento exógeno, neste momento são consideradas pós-larvas. As pós-larvas com seu sistema digestório precoce, mas aparentemente bem desenvolvido, ainda possuem capacidade digestiva limitada da proteína (RØNNESTAD et al., 2000), sendo o alimento inicial de extrema importância para a sobrevivência dos animais.

As necessidades nutricionais das pós-larvas das diversas espécies é diferenciada e segundo Dabrowski (1984) pode ser dividida em três grupos de acordo com a morfologia do canal alimentar e do tipo e sequência de enzimas secretadas no intestino. O primeiro grupo inclui os salmonídeos, o “catfish” e crustáceos que possuem estômago funcional e sistema digestório diferenciado. O segundo grupo inclui espécies de peixes marinhos e camarões, nos quais no estágio larval inicial, o trato digestório é muito rudimentar, com estômago não funcional e glândulas gástricas bem diferenciadas. O terceiro grupo larval consiste naqueles peixes que desenvolvem o sistema digestório funcional, mas permanecem sem estômago por toda a vida, como é o caso das carpas.

Espécies que possuem trato alimentar estruturalmente e funcionalmente diferenciado inicialmente, tem menos problemas ao iniciar a alimentação exógena. Por exemplo, a tilápia, os salmonídeos e o “catfish”, que são criados com alimentos iniciais de alta qualidade e com altas taxas de sucesso. Larvas com sistema digestório rudimentar tem mais dificuldade na primeira alimentação e normalmente precisam de alimento vivo ao menos em parte de sua alimentação (NRC, 2011).

As pós-larvas de Characiformes em geral, especialmente o pacu, piauçu, tambaqui, dourado, curimatá, matrinxã, piraputanga e piracanjuba, apresentam trato digestório rudimentar, ou seja, apresentam ausência de algumas enzimas digestivas, e desta forma não conseguem utilizar alimentos artificiais. O zooplâncton é o primeiro alimento externo para a maioria destes peixes, porém após alguns dias alimentando-se com estes microorganismos, as pós-larvas começam a utilizar as rações granuladas de forma mais adequada (OLIVEIRA et al., 2004). O alimento vivo (copépodos) presente no ambiente natural e utilizado para alimentação inicial das larvas de peixes contém níveis elevados de taurina (HELLAND et al., 2003; VAN DER MEEREN et al., 2008), por isso a importância da inclusão deste nutriente na dieta granulada de pós-larvas de peixes.

1.4 Larvicultura do Jundiá (*Rhamdia quelen*)

O período reprodutivo do jundiá inicia em agosto e vai até março, sendo influenciado diretamente pela temperatura da água, a qual interfere na maturação gonadal das fêmeas e preparação para a desova. A temperatura da água pode influenciar o comportamento reprodutivo das fêmeas, resultando em mais baixas taxas de desova (COLDEBELLA et al., 2013), o qual influencia na rapidez de desenvolvimento das larvas após desova. A temperatura adequada para incubação dos ovos de jundiá varia de 24 a 25°C durando em média 27 a 36 horas. A observação da condição corporal dos reprodutores é de suma importância, pois influencia diretamente na qualidade e quantidade dos ovos e conseqüentemente na qualidade das larvas. Para que as larvas tenham um bom desenvolvimento inicial é necessário que o ovo tenha acumulado uma boa reserva de vitelo, para isto é importante uma dieta adequada e de qualidade para os reprodutores, principalmente para as fêmeas (PARRA et al., 2008; COLDEBELLA et al., 2011).

A larvicultura representa uma fase crítica no desenvolvimento dos peixes. Entre os fatores que influenciam neste período, a alimentação é considerada a mais importante, atuando diretamente sobre o crescimento e sobrevivência. Por isso, a dieta com bom balanço de nutrientes é essencial para o desenvolvimento dos animais, minimizando a mortalidade quando fornecido alimento apropriado para cada espécie. Segundo Cardoso et al. (2004), as principais perdas no período larval do jundiá, ocorrem pela falta de alimentação adequada durante a troca da alimentação endógena (reservas vitelinas) para a alimentação exógena (alimento natural ou artificial).

Uma fêmea de jundiá em bom estado nutricional pode produzir aproximadamente 200.000 ovos por kg de peso vivo (RADÜNZ NETO, 1981). O tempo de eclosão dos ovos desta espécie varia conforme a temperatura da água, onde na temperatura de 16°C, a eclosão ocorre em torno de 3 dias e com 24°C a eclosão demora aproximadamente 24h. O crescimento das pós-larvas de jundiá é rápido e atingem aproximadamente 30 mm de comprimento com 21 dias de idade em sistemas artificiais de cultivo (PIAIA e RADÜNZ NETO, 1997a).

A nutrição lipídica em larvicultura é muito importante, além das proteínas que compõem a dieta, os lipídios são de fundamental importância para o bom desenvolvimento das larvas e pós-larvas de peixes. Além de fornecer ácidos graxos, a fonte lipídica contribui com fosfolipídios, que participam na formação de novos componentes celulares (ULIANA et al., 2001). Os peixes de água doce tem maior capacidade de converter o ácido graxo C18:0 em ácidos graxos altamente insaturados (HUFAs) (CORRAZE, 2001). Alguns peixes de água doce possuem enzimas (dessaturases e elongases) responsáveis pela biossíntese de AA, EPA e DHA (GARCIA et al., 2012) a partir de outros ácidos graxos como o ácido esteárico (C18:0) presentes na dieta. Os ácidos graxos são essenciais principalmente nesta fase de vida dos peixes, eles contribuem na formação das membranas e hormônios (IZQUIERDO e KOVEN, 2011), conseqüentemente aumentando o crescimento e reduzindo a mortalidade (GARCIA et al., 2012).

Neste período, a necessidade de fosfolipídios é muito grande e sua biossíntese pode não ser suficiente para suprir as necessidades de crescimento das pós-larvas. Algumas fontes já foram incluídas em dietas para larvicultura do jundiá entre elas o óleo de soja, canola, fígado de bacalhau e lecitina de soja combinada com outros óleos. A lecitina de soja incluída em 2% na dieta de pós-larvas de jundiá foi eficiente (ULIANA et al., 2001) para o crescimento e sobrevivência dos animais. Esta fonte é rica em ácidos graxos, principalmente ácido linoleico e linolênico. Apresenta propriedades estabilizadoras das vitaminas A e E, fonte de colina,

inositol e outros componentes estimulantes do crescimento (MEYERS, 1990; COUTTEAU et al., 1997).

Diversos ingredientes já foram adicionados à dieta das pós-larvas do jundiá, tanto de origem animal como vegetal, esta última com menor sucesso. A soja, ingrediente com alto valor nutricional e com disponibilidade no mercado mundial foi escolhida para realização de testes em substituição às fontes de origem animal. Devido ao alto custo e redução da disponibilidade no mercado, principalmente das farinhas de peixe, que são as mais utilizadas e de melhor qualidade para esta fase do cultivo.

A substituição de ingredientes de origem animal por vegetal (farelo de soja) foi testada por Piaia e Radünz Neto (1997b) ocorrendo baixas taxas de sobrevivência. Como alternativa ao uso deste ingrediente indica a possibilidade de suplementação com aminoácido metionina. Fontinelli e Radünz Neto (2007) testaram a inclusão do concentrado proteico de soja em substituição total à fonte de origem animal, com e sem adição de aminoácidos sintéticos, e não obtiveram resultados satisfatórios de crescimento (peso 5mg e sobrevivência (9%). A baixa palatabilidade do concentrado proteico de soja, a presença mesmo que em baixos níveis de fatores antinutricionais (CHATZIFOTIS et al., 2008) e a deficiência em alguns aminoácidos essenciais, como lisina e metionina (KAUSHIK et al., 1995), reduzem o consumo e conseqüentemente o crescimento quando incluído em quantidades maiores (acima de 30%) em dietas principalmente nas fases iniciais de crescimento dos peixes.

As fontes de origem animal testadas para pós-larvas de jundiá por Cardoso et al. (2004) foram: hidrolisados de peixe e de fígado de aves, farinhas de fígado de aves e bovino, fígados de aves e bovino cru, tendo como ingrediente base a levedura de cana em rações granuladas, onde aquela preparada com fígado de aves cru foi significativamente superior ($\pm 60\%$ peso) às demais.

A quantidade de vitaminas e minerais presentes na dieta de pós-larvas de jundiá deve estar em frações adequadas, principalmente porque os peixes não são capazes de sintetizar ou não sintetizam as vitaminas em quantidades suficientes para suprir sua exigência (PORTELLA et al., 2012). Segundo Trombetta et al. (2006) os principais sintomas de deficiência de vitaminas são o retardo no crescimento e o aumento na mortalidade, os quais tornam-se evidentes na fase larval, onde o metabolismo é acelerado e as exigências nutricionais são altas. Os mesmos autores testaram diferentes misturas e níveis de suplementação entre 0 a 2% durante 21 dias experimentais. Na dieta sem suplementação foi observado deformidades como lordose e escoliose, baixo desempenho (peso 11 mg) e alta mortalidade (60%). Concluíram que dietas para pós-larvas devem ser suplementadas com 2%

da mistura (unidades kg^{-1}) composta por: 120.000 UI de vitamina (vit) A; 20.000 UI de vit D; 2.000 UI vit E; 100 UI vit K; 400 mg de vit B12; 5000 mg de vit C; 400 mg de riboflavina; 600 mg de ácido pantotênico; 1.200 mg de niacina; 12 mg de biotina; 50 mg de ácido fólico; 200 mg de tiamina; 120 mg de piridoxina; 250 mg de inositol e 500 mg de colina.

Em outro estudo, foi testado o efeito da frequência de alimentações (intervalos de 1 em 1 hora ou 2 em 2 horas) e tamanho da partícula alimentar no desempenho de pós-larvas de jundiá, o qual concluiu que não houve diferença no desempenho dos animais aumentando a frequência alimentar e que as granulometrias até então utilizadas (100-200; 200-400; 400-600 e 600-800 micras) na primeira, segunda, terceira e quarta semanas de alimentação são as ideais para o bom desenvolvimento das pós-larvas de jundiá (LAZZARI et al., 2004).

Dietas úmidas foram testadas por Martin et al. (2006) que concluíram que a dieta composta por fígado bovino *in natura*, gema de ovo cozido e sangue bovino coagulado proporcionou melhor desenvolvimento das pós-larvas de jundiá quando comparada com a dieta seca composta por levedura de cana e fígado bovino. Posteriormente, Coldebella et al. (2011) testaram a dieta composta de fígado de aves, gema de ovo cozido e levedura de cana, tendo como controle a dieta testada por Piaia e Radünz Neto (1997b) e concluíram que esta dieta, até o momento, é considerada o melhor alimento artificial para pós-larvas de jundiá.

A criação das pós-larvas é uma das etapas de grande importância para os piscicultores que trabalham com reprodução e venda de alevinos. A dependência do alimento natural produzido em viveiros de terra, associadas ao ataque de diversos predadores ocasiona grande perda de peixes nesta fase. Para reduzir estas perdas, é necessária utilização de alimentos com composição nutricional conhecida que proporcione rápido desenvolvimento aos peixes (FONTINELLI e RADÜNZ NETO, 2007).

Apesar do domínio da reprodução induzida, o fornecimento de alevinos apresenta-se inconstante devido à grande variação na sobrevivência das pós-larvas estocadas em sua grande maioria em tanques externos até a alevinagem. A larvicultura em sistemas fechados é uma alternativa que pode apresentar altos percentuais de sobrevivência, mas a alimentação deve atender todas as exigências da espécie (BEHR et al., 2000). Por isso, é de fundamental importância o conhecimento nutricional na primeira fase de vida, visando melhor desempenho das larvas e conseqüentemente a obtenção de alevinos saudáveis (PIAIA e RADÜNZ NETO, 1997b).

1.5 Nutrição e desenvolvimento inicial

O desenvolvimento embrionário do jundiá é rápido e se dá entre 3 a 5 dias. Até o terceiro ou quarto dia de vida, em função da temperatura da água, as larvas de jundiá alimentam-se de seu próprio vitelo, caracterizado por uma glicolipofosfoproteína denominada vitelogenina, que é formada principalmente pela lipovitina e fosfovítina. Segundo Mommsen e Korsgaard (2008), a vitelogenina fornece proteínas, aminoácidos, vários lipídios e carboidratos para o desenvolvimento dos oócitos, bem como os minerais e fosfatos para alcançar o ótimo desenvolvimento do esqueleto do embrião.

A embriogênese é dependente da degradação dessas proteínas contidas no vitelo para a liberação do suprimento de aminoácidos (HIRAMATSU et al., 2002), os quais provêm da hidrólise da vitelogenina e durante a absorção os níveis de aminoácidos vão sendo reduzidos, chegando a níveis mínimos próximo da primeira alimentação exógena. A partir da absorção do vitelo, os animais começam a procurar alimento, pois já apresentam o trato digestório funcional, onde a partir da alimentação exógena são consideradas pós-larvas (RADÜNZ NETO, 2004).

Quando as pós-larvas consomem todo o vitelo e passam a utilizar alimento exógeno, o intestino ainda é curto e as células da mucosa intestinal são pouco diferenciadas, de modo que a digestão é muito rudimentar. A absorção de nutrientes ocorre por pinocitose (PORTELLA et al., 2012) de macromoléculas e essas são posteriormente digeridas no interior dos enterócitos. Como o intestino é pequeno, o alimento é retido no trato digestório apenas por um curto período de tempo, de modo que à medida que a pós-larva cresce, a mucosa intestinal se desenvolve e maior quantidade de enzimas digestivas são produzidas, facilitando a digestão extracelular (ROTTA, 2003). O mesmo autor considera que a habilidade de um organismo para digerir partículas de alimento depende da presença e da quantidade apropriada das enzimas digestivas. Como as pós-larvas iniciam a ingestão do alimento antes da total absorção do vitelo e do seu total desenvolvimento gástrico, muito pouco se aproveita do alimento inicialmente ingerido. Logo, não são capazes de aproveitar bem as primeiras dietas artificiais. Isto se deve à ausência de algumas enzimas digestivas que podem prejudicar a utilização de rações preparadas para pós-larvas.

O desenvolvimento é a combinação de proliferação, migração e diferenciação de células e órgãos em um organismo funcional, e o crescimento verdadeiro em peixes pode ser caracterizado como um aumento no conteúdo de proteína do corpo (NRC, 2011). Este pode

ser expresso de diversas maneiras, mas em geral considera-se a relação entre a quantidade de proteína ingerida e o ganho em peso obtido em determinado período. Também pode ser expresso através de equações que relacionam o peso metabólico dos peixes (JOBBLING, 1995). Alguns dados já existentes na literatura para a espécie expressam geralmente o ganho em peso, desconsiderando outros fatores como taxa de ingestão, fase e qualidade do alimento consumido pelo peixe. Lazzari (2005) cita que para o jundiá não existem dados suficientes para se determinar uma curva adequada de crescimento.

O crescimento apresenta características alométricas, principalmente no período larval, ou seja, cada tecido possui velocidade diferente de crescimento. À medida que a larva se transforma em juvenil, o crescimento das diferentes partes do corpo (cabeça, cauda e tronco), se torna mais isométrico (PORTELLA et al., 2012). O primeiro tecido a ser depositado e que cessa o seu crescimento é o tecido nervoso, na sequência, o tecido ósseo, o muscular e por último o tecido adiposo. As ondas de crescimento ocorrem em etapas, onde a primeira tem início na cabeça e passa ao longo da coluna vertebral, neste momento a cabeça apresenta um tamanho muito maior em relação ao resto do corpo. Posteriormente ocorre a cobertura da estrutura óssea com a camada muscular.

Muitos autores discutem sobre quais fatores interferem sobre o crescimento dos peixes. Alguns defendem que o crescimento se dá principalmente pela ação das enzimas digestivas sobre o alimento (LAZZARI, 2005). Outros por sua vez compreendem que há uma ação metabólica importante, que associada à ação enzimática, proporciona o aumento tecidual e conseqüentemente, crescimento (BLIER et al., 2002). Os fatores nutricionais, metabólicos e bioenergéticos são destacados como aqueles que influenciam o processo de crescimento de maneira imediata (CYRINO, 1995).

O crescimento animal é resultante do desenvolvimento dos diferentes tecidos do corpo, aumento do peso corporal, através do aumento da celularidade (número e diferenciação) e pelo aumento da secreção dos produtos celulares (proteínas e lipídeos) dos vários tecidos. Os diferentes tecidos estruturais e viscerais do corpo de um animal têm taxas de crescimento diferentes e esta ordem de desenvolvimento é baseada na importância relativa das funções das diferentes partes do corpo na vida animal (BEITZ, 1985; WEATHERLEY e GILL, 1983; CYRINO, 1995). Assim, o tecido nervoso de um organismo é o primeiro a se desenvolver, seguido do tecido estrutural - ossos e músculos - e finalmente do tecido adiposo. Deficiências minerais ou vitamínicas também influenciam no crescimento. Sua ausência pode causar redução da taxa de crescimento, problemas de má formação, anorexia e

despigmentação (CYRINO, 1995; TROMBETTA et al., 2006), por isso é preciso ter um especial cuidado com dietas para crescimento inicial.

A adoção de práticas de manipulação do crescimento em peixes está condicionada à compreensão dos processos que regulam a síntese de proteína e crescimento do músculo. O desenvolvimento muscular inclui uma sucessão de passos e começa na fase pré-natal, sendo influenciado pela composição do alimento, fator que se relaciona diretamente com o crescimento e difere de espécie para espécie. Na composição do alimento, a proteína se destaca por ser um dos principais componentes dos tecidos (PERÁGON et al., 1994).

O fornecimento de aminoácidos, para alguns sistemas como a camada sincicial do vitelo, a circulação vitelínica e o fígado tem papel essencial durante o crescimento inicial dos peixes (DABROWSKI et al., 2010). A deficiência ou desbalanceamento dos AA ou de sua relação na dieta em geral causam diminuição do crescimento e prejudicam o desenvolvimento dos peixes (SAAVEDRA et al., 2009). Um adequado balanceamento dos níveis de AA na dieta melhora a qualidade da larva, com resultado direto na formação de seus tecidos e regulação dos sistemas fisiológicos, por meio da formação de moléculas bioativas, tais como os hormônios (FINN e FYHN, 2010).

A qualidade do embrião é altamente dependente do perfil de AA do vitelo, que é afetado pelo aporte materno de nutrientes durante a oôgenese. O vitelo é a fonte de energia para as larvas se desenvolverem e ao mesmo tempo, substrato para a diferenciação e crescimento de novas estruturas. A principal fonte de AA para os oócitos é a vitelogenina, que é hidrolizada em três subunidades: lipovitelina, fosvitina e b-componente (PORTELLA et al., 2012). A lisina é um aminoácido presente em elevada proporção no tecido muscular, sendo assim, a lisina da dieta é utilizada basicamente para a deposição de tecido muscular (FURUYA et al., 2006).

Outro importante nutriente é o lipídio, o qual exerce importante papel como fonte de energia metabólica e de ácidos graxos essenciais, veículo de micronutrientes lipossolúveis e precursores de moléculas bioativas (PEZZATO et al., 2004). Os ácidos graxos são os principais componentes das membranas celulares e lipoproteínas, que influenciam o crescimento, vitelogênese, reprodução, regulação da resposta imunológica e alterações fisiológicas dos animais (GOMES et al., 2010).

A gordura na dieta tem efeitos profundos na expressão genética, conduzindo a alterações no metabolismo de crescimento e diferenciação celular. Ácidos graxos, especialmente ácidos graxos altamente insaturados, atuam sobre o genoma nuclear específico através de receptores, alguns destes atuam como reguladores dos genes que estão envolvidos

no desenvolvimento do esqueleto durante a ontogênese. Portanto, os ácidos graxos altamente insaturados podem afetar a formação do esqueleto durante o desenvolvimento. A fosfatidilcolina tem efeito de promoção do crescimento e o fosfatidilinositol previne deformidades esqueléticas (CAHU et al., 2003).

Os ácidos graxos poliinsaturados da série n-3, principalmente o ácido eicosapentaenóico (C20:5 n-3) e o docosahexanóico (C22:6 n-3), influenciam a concentração de hormônios esteróides gonadais, a qualidade dos ovos, desova e sobrevivência das larvas (GOMES et al., 2010). Eles apresentam funções bioquímicas, celulares e fisiológicas relacionadas com a manutenção estrutural e funcionamento das membranas celulares (IZQUIERDO e KOVEN, 2011). Em peixes marinhos dependem de uma dieta rica em n-3 HUFAs, principalmente o ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosahexaenóico (DHA), enquanto para peixes de água doce, C18 PUFAs são suficientes, pois os HUFAs são obtidos via desaturases e elongases (GOMES et al., 2010).

1.6 Sistema digestório

No período embrionário, o trato digestório começa a se formar, onde o primeiro estágio é a abertura do esôfago e posteriormente a abertura anal. Neste momento as células absorptivas do intestino nas larvas parecem similares aos enterócitos dos animais adultos. A partir do momento da primeira alimentação, é possível distinguir a parte anterior do intestino onde os enterócitos fazem a absorção dos lipídios, e na parte posterior a absorção de macromoléculas de proteína (GATESOUBE et al., 2001).

O sistema digestório é formado pelo estômago, intestino e órgãos acessórios (fígado e pâncreas). O canal alimentar na fase inicial (primeira alimentação) é simples, indiferenciado, com um esfíncter e uma abertura anal. Posteriormente o intestino sofre várias mudanças como aumento do comprimento e da área de superfície da mucosa, bem como a intensificação da atividade enzimática da borda em escova. O tubo intestinal consiste de um simples epitélio rodeado de tecido conectivo, músculo liso e nervos entéricos. Neste epitélio, há várias células, incluindo os enterócitos que são responsáveis pela absorção dos nutrientes (RØNNESTAD e MORAIS, 2008).

Durante as fases iniciais ocorrem intensas alterações morfológicas, os estudos histológicos fornecem importantes informações para melhorar o entendimento dos processos

digestórios das larvas de peixes (YANG et al., 2010). Muitos estudos tem se concentrado na avaliação das alterações ontogênicas da morfoanatomia e organização histológica dos órgãos digestórios por meio de microscopia, bem como a avaliação da atividade de diferentes enzimas digestivas do pâncreas, do estômago, intestino e sua quantificação bioquímica (LAZO et al., 2011).

A morfologia e algumas vias metabólicas em larvas de peixes são diferentes daquelas de peixe juvenil ou adulto. Estas diferenças diminuem ao longo do período larval com a maturação de alguns tecidos e órgãos, em particular com o início, redução ou aumento na atividade de uma vasta gama de enzimas digestivas (ZAMBONINO INFANTE e CAHU, 2007). A identificação das enzimas digestórias e medição de suas atividades e mudanças dentro da ontogênese proporcionam informações valiosas sobre o estado nutricional das larvas de peixe (SILVEIRA, 2012).

O epitélio intestinal é formado de quatro tipos diferentes de células. Os enterócitos, células enteroendócrinas individuais, células “rodlet” e células caliciformes. Enterócitos são as células mais abundantes no epitélio do intestino, e estão envolvidos na absorção de nutrientes, digestão intracelular, e regulação osmótica. Os enterócitos do intestino anterior são responsáveis pela absorção de lipídios e aminoácidos por difusão, enquanto enterócitos no intestino distal são especializados para a absorção de macromoléculas de proteína por pinocitose (LAZO et al., 2011).

A maior função do sistema digestório é suprir com nutrientes da dieta os tecidos do corpo. A eficiência deste processo é o fator chave para suprir de substratos para o rápido crescimento tecidual das larvas, principalmente durante os períodos críticos quando a larva começa a consumir alimentos exógenos (RØNNESTAD e MORAIS, 2008).

1.7 Enzimas digestivas

Pesquisas iniciais com enzimas digestivas para larvicultura indicavam a necessidade de utilização de alimento vivo para desencadear o processo digestivo. Mas estudos recentes propõem que a atividade enzimática inicial em larvas é alta, e que a contribuição das enzimas digestivas do alimento vivo é insignificante para determinadas espécies. As enzimas para a digestão da proteína luminal (tripsina, quimotripsina), lipídios (lipases) e carboidratos

(amilases e maltases) estão presentes nas larvas antes mesmo da primeira alimentação exógena (LAZO et al., 2011).

A habilidade de um organismo para digerir partículas de alimento depende da presença e da quantidade apropriada de enzimas digestivas. A presença de alimento no trato resulta em estímulos hormonais (colecistoquinina – CCK) para o pâncreas, órgão responsável pela produção de diversas enzimas digestivas (JOBBLING, 1995; LOVELL, 1998). Através da identificação das enzimas digestivas, da quantificação de suas atividades relativas e mudanças durante o crescimento, podem-se obter informações valiosas sobre o estado nutricional das pós-larvas. Os dados obtidos também podem ser relevantes para auxiliar na escolha adequada de ingredientes e no desenvolvimento de estratégias alimentares apropriadas. As enzimas exógenas desencadeiam a hidrólise das proteínas, estimulando a secreção de enzimas endógenas pelo trato digestório das pós-larvas (ROTTA, 2003).

As larvas não possuem deficiências fisiológicas e digestivas, apenas têm sistemas e órgãos imaturos em relação aos juvenis. O sistema digestório das larvas de peixes tem demonstrado ser muito eficiente, o qual provém às larvas todos os nutrientes e energia necessários para a manutenção do metabolismo, natação e crescimento a fim de melhorar a sobrevivência, crescimento e transformação em juvenil (LAZO et al., 2011).

As enzimas hidrolíticas que degradam no intestino os lipídios da dieta são secretadas pelo pâncreas, sendo sua secreção (suco pancreático) controlada por hormônios. As células na mucosa da parte inicial do intestino produzem um pequeno hormônio peptídico, a colecistoquinina (CCK), em resposta à presença de lipídios e proteínas parcialmente digeridas que entram nestas regiões do intestino. Este hormônio atua sobre a vesícula biliar, fazendo com que ela se contraia e libere a bile, e sobre as células exócrinas do pâncreas, fazendo com que elas liberem as pró-enzimas digestivas (zimogênios). Ele também diminui a motilidade gástrica, resultando em uma passagem mais lenta do conteúdo gástrico para o intestino. Outras células intestinais produzem outro pequeno hormônio peptídico, a secretina, em resposta ao baixo pH do quimo presente no início do intestino. A secretina faz o pâncreas liberar uma solução aquosa rica em bicarbonato, a qual auxilia a neutralização do pH do conteúdo intestinal, trazendo-o a um valor adequado para uma melhor atividade das enzimas pancreáticas e intestinais (ROTTA, 2003).

A mucosa intestinal é um tecido muito dinâmico e ativo. É o principal local de digestão e absorção de nutrientes, bem como está diretamente envolvido na ativação nervosa e hormonal de enzimas e da síntese da bile e sua secreção posterior no pâncreas e fígado (LAZO et al., 2011). Estudos comprovam que a adição de 10% de aminoácidos livres na dieta

granulada resulta em perceptível aumento na secreção das enzimas pancreáticas. A incorporação de 12% de proteína hidrolisada limita ou retarda o aparecimento das enzimas na borda em escova do intestino. A forma do lipídio ou carboidrato adicionado na dieta influencia na maturação das funções digestivas (GATESOUBE et al., 2001).

As proteases podem ser divididas em dois grandes grupos: uma protease que atua no meio ácido (protease ácida) e outra que atua em meio básico (protease alcalina – tripsina e quimotripsina). As proteases ácidas e básicas estão, geralmente, presentes em peixes que apresentam estômago bem definido e funcional, enquanto espécies agástricas, geralmente possuem apenas a básica, sendo produzida principalmente pelo pâncreas ou parede da mucosa intestinal (SEIXAS FILHO, 2003). A pepsina é uma protease aspártica de origem animal, produzida pela mucosa do estômago na forma inativa de pepsinogênio. Torna-se ativa por autólise em pH abaixo de 5,0 e apresenta maior atividade na faixa de pH de 1,0 a 4,0, sendo seu pH ótimo de 1,8, inativando-se completamente em pH superior a 6,0 (KOBBLITZ, 2008).

Nas larvas de peixes, o intestino é muito curto em relação ao corpo. A atividade da tripsina é perceptível no pâncreas e no lúmen intestinal, o qual sugere a capacidade de degradação proteica e absorção de produtos e degradação no intestino anterior (GATESOUBE et al., 2001). Em estudo com tambaquis utilizando dietas com diferentes percentuais de amido Corrêa et al. (2007) encontraram amilase principalmente no intestino; protease ácida no estômago; maltase, tripsina e quimotripsina nos cecos pilóricos e secções do intestino proximal e distal. Outra enzima importante é a lipase, enzima de origem pancreática que age no intestino atuando nos lipídios presentes no quimo, liberando ácidos graxos e glicerol, os quais desempenham importantes funções energéticas, estruturais e hormonais no organismo (MOURA et al., 2012).

A satisfação das exigências nutricionais é influenciada pelo tipo e quantidade de enzimas digestivas produzidas nos diferentes estágios do desenvolvimento larval. Mudanças podem ocorrer no tipo e nível da atividade enzimática, estas ocorrem devido a alterações no tipo de alimento consumido (planta, animal ou a combinação dos dois). Diminuição na sobrevivência e baixo crescimento podem ocorrer quando são usadas dietas formuladas com características físicas e químicas incompatíveis com a capacidade enzimática das larvas muito jovens (NRC, 2011).

1.8 Desenvolvimento muscular

O desenvolvimento muscular inclui uma sucessão de passos que inicia na fase pré-natal, onde o tecido muscular estriado esquelético tem origem a partir do mesoderma paraxial, localizado próximo à notocorda e ao tubo neural ambos em formação (GALDINO, 2013). A mesoderme dá lugar aos mioblastos que através de mitoses originam células musculares mononucleadas, sua maturação inclui um aumento da síntese e acúmulo de actina e miosina e contínua formação de miofibrilas (YOUNG, 1985). Estas começam a ocupar a região central das células, ocorre migração dos núcleos para periferia, ocupam uma distribuição mais plana ao longo do citoplasma e a célula muscular assume características de fibra muscular madura (GALDINO, 2013).

A ativação inicial do crescimento é dependente da atuação dos reguladores miogênicos (MRFs): MyoD e miogenina e também da proteína do citoesqueleto, a miosina, onde em conjunto, estas moléculas regulam a formação, o crescimento e a diferenciação das fibras musculares (GALDINO, 2013). Assim na fase pós-embriônica com a ativação das células satélites, a musculatura estriada esquelética inicia seu desenvolvimento. Para manter o rápido crescimento somático, ocorre o recrutamento e manutenção de novas fibras musculares brancas (ALAMI-DURANTE et al., 2006). Este crescimento é mantido através da atuação de três bases, metabolismo, temperatura e alimento. A temperatura é, provavelmente, o mais importante dos fatores a influenciar o crescimento muscular durante as fases embrionária e larval (SILVA et al., 2009). A temperatura é um fator ambiental que influencia a taxa de crescimento dos peixes e está diretamente relacionada com a plasticidade muscular e crescimento (CAMPOS et al., 2013; PAULA et al., 2014).

Nos peixes, o crescimento muscular ocorre por hipertrofia e/ou hiperplasia a partir da proliferação e diferenciação das células satélites, esses processos são regulados por várias moléculas sinalizadoras, entre as quais pela expressão dos fatores reguladores miogênicos e da miostatina (ALMEIDA, 2011). Na hiperplasia, a fusão entre células satélites ativadas resulta na formação de novos miotubos na superfície das fibras existentes, com posterior diferenciação em novas fibras musculares. Na hipertrofia, as células satélites ativadas fundem-se com fibras musculares existentes, aumentando o número de núcleos para maior síntese de miofibrilas, levando ao aumento na área da fibra muscular (KOUMANS e AKSTER, 1995; JOHNSTON, 1999; ROWLERSON e VEGGETTI, 2001). As fibras musculares estão organizadas em miômeros, unidades morfofuncionais, que se repetem ao

longo do corpo e são separadas por bainhas de tecido conjuntivo, os miosseptos, onde as fibras estão inseridas (CARANI et al., 2008).



Figura 1. Esquema demonstrativo da formação da fibra muscular (miofibrila) durante a miogênese

Células precursoras miogênicas, presentes nos somitos, tornam-se mioblastos, que iniciam a proliferação. Esses eventos são controlados pela expressão dos MRFs primários MyoD e Myf-5. A expressão de miogenina e MRF4 controla a diferenciação dos mioblastos em miotubos que, posteriormente, diferenciam-se para formar as miofibras maduras (adaptado de WATABE, 1999; DAL-PAI et al., 2014).

A musculatura estriada esquelética apresenta-se organizada em compartimentos ou camadas, contendo diferentes tipos de fibras musculares. O compartimento vermelho é formado por fibras vermelhas de contração lenta e metabolismo oxidativo. O compartimento branco, que corresponde à maior parte do tecido muscular, é formado por fibras brancas com contração rápida e metabolismo glicolítico. Entre esses compartimentos, encontra-se o compartimento intermediário com fibras que apresentam propriedades morfofisiológicas intermediárias entre fibras brancas e vermelhas (SÄNGER e STOIBER, 2001). O balanço entre os mecanismos hipertrófico e hiperplásico determina a taxa de crescimento e o tamanho final da espécie, sendo dependente de vários fatores como, temperatura, fotoperíodo, regime alimentar e composição da dieta (ASSIS et al., 2004).

Existem diferenças na dinâmica de crescimento muscular nas diversas espécies de peixes, o crescimento muscular é determinado pela genética e influenciado pelas condições ambientais. O recrutamento de novas fibras e a hipertrofia das fibras existentes é independentemente regulado, durante o crescimento, por vários fatores extrínsecos

(temperatura, fotoperíodo, regime de alimentação) e fatores intrínsecos (genótipo, estágio de maturação sexual) (MARECO, 2012). A temperatura da água é o principal determinante do crescimento dos peixes, pois a temperatura ambiental modula o processo de crescimento do músculo branco (ALAMI-DURANTE et al., 2006). Por isso diferentes temperaturas influenciam no crescimento somático de juvenis de “sea bass” (*Dicentrarchus labrax*) (ALAMI-DURANTE et al., 2007). O hormônio do crescimento (GH) e o fator do crescimento do tipo insulina 1 (IGF-1), particularmente, são potentes estimuladores do crescimento muscular, rápidos aumentos dos níveis circulantes de GH e IGF-1 têm sido relacionados com altas temperaturas e dias longos (TAYLOR e MIGAUD, 2009).

O diâmetro das fibras musculares pode variar de 10 a 100 μm e o comprimento pode atingir 10 cm, dependendo da arquitetura do músculo (DAL PAI-SILVA et al., 2005). As fibras musculares crescem por hipertrofia durante todo o período de crescimento pós-larval até atingirem um diâmetro máximo que é em torno de 100 μm (fibras brancas) (MARECO, 2012). A análise do número e tamanho de fibras segundo Stoiber et al. (2002), indicou que o crescimento mioblástico do músculo branco e vermelho ocorre de diferentes formas. No músculo branco, a fase de crescimento inicial é dominada por hipertrofia das fibras, enquanto depois da fase de crescimento larval ocorre significativo crescimento por hiperplasia. A maturação estrutural é mais rápida em fibras vermelhas do que em fibras brancas nos embriões, ainda mais que o crescimento muscular vermelho em grande parte permanece confinado a hipertrofia da monocamada original da fibra inicial em estoque, começa muito tempo após o início da hiperplasia do músculo branco (STOIBER et al., 2002).

O modelo padrão do crescimento do tecido muscular em peixes é descrito por Weatherley e Gill (1981) para o músculo mosaico da truta arco-íris onde na faixa de variação do comprimento total de 2 até 50 cm, o diâmetro das fibras musculares aumenta de menos que 40 μm para cerca de 120 μm . Nesta fase a hiperplasia originada da mitose das células satélite musculares é a maior responsável pelo crescimento do tecido muscular. Na faixa de comprimento total acima de 50 cm, o crescimento hiperplásico termina, dando lugar ao crescimento hipertrófico, e a secção transversal das fibras musculares ultrapassa os 200 μm .

A morfometria das fibras musculares do pacu (*Piaractus mesopotamicus*) no estágio juvenil apresenta maioria das fibras musculares com diâmetro maior que 20 μm o que indica crescimento hiperplásico predominante. Em peixes adultos, a maioria das fibras musculares apresentaram diâmetro maior que 50 μm , indicando crescimento hipertrófico predominante (MICHELIN, 2007). A organização encontrada em peixes elasmobrânquios e teleósteos é a seguinte: os músculos axiais (que flexionam a coluna vertebral e a cauda de um lado para o

outro durante a natação) consistem principalmente de fibras brancas-rápidas, cobertas por uma fina camada de fibras musculares vermelhas-lentas, e de uma camada de fibras rosa, ou intermediárias, entre elas (SANTOS, 2007).

1.9 Fontes alimentares

Entre os fatores que influenciam na larvicultura, a alimentação é um dos mais importantes atuando diretamente sobre o crescimento e a sobrevivência dos animais. Um dos fatores que mais influencia na aceitabilidade do alimento pelos peixes é a palatabilidade. Em relação a esta, alimentos de origem vegetal podem apresentar problemas, gerando a não aceitação/consumo do alimento, principalmente para espécies carnívoras ou onívoras como é o caso da espécie em estudo. Estes alimentos podem conter fatores antinutricionais que podem influenciar na digestão, absorção e metabolismo dos nutrientes (JOBILING et al., 2001) mesmo em pequenas quantidades.

Alguns ingredientes podem ser utilizados para a confecção das dietas em larvicultura do jundiá (levedura de cana, a lecitina de soja, o concentrado proteico de soja, a farinha de peixe (jundiá) e o fígado de aves *in natura*), cada um com suas qualidades nutricionais contribuíram para uma dieta balanceada que pode fornecer todos os componentes para o desenvolvimento da espécie em estudo.

A levedura de cana (*Saccharomyces cerevisiae*) é um ingrediente com bom teor proteico, boas quantidades de vitaminas hidrossolúveis, principalmente do complexo “B”, muito utilizada em rações para diversas espécies de peixes (ENKE et al., 2009). Para o jundiá, alguns trabalhos mostram excelente resposta em ganho de peso para larvas e juvenis, em que a levedura foi um dos constituintes da base proteica (PIAIA e RADÜNZ NETO, 1997; COLDEBELLA e RADÜNZ NETO, 2002). A levedura também pode ser utilizada como estimulante do sistema imunológico dos peixes, aumentando a resistência contra algumas enfermidades causadas principalmente por bactérias (LI e GATLIN, 2003).

A lecitina de soja pode ser usada como fonte de fosfolipídios na alimentação de pós-larvas, sendo sua composição em ácidos graxos de 59% de ácido linoleico e 7% de ácido linolênico (MEYERS, 1990; PORTELLA et al., 2012). A lecitina de soja é uma fonte rica em fosfolipídios, importantíssimos na construção e renovação das membranas biológicas, que são especialmente necessárias nas fases iniciais de desenvolvimento das larvas, quando a

exigência pode exceder a habilidade de síntese endógena destes compostos (GEURDEN et al., 1995). A vantagem da lecitina da soja é que ela pode ser usada como ingrediente alimentar, servindo como estabilizador vitamínico, protegendo as vitaminas A e E contra oxidações, e também servindo como fonte de colina, inositol e outros componentes estimulantes do crescimento (MEYERS, 1990; PORTELLA et al., 2012).

O concentrado proteico de soja (CPS) é obtido através da remoção da casca, óleo e oligossacarídeos do grão da soja. O melhor desempenho animal com CPS em relação ao farelo de soja é devido à eliminação dos fatores antinutricionais e modificações nos oligossacarídeos (rafinose e estaquiose) e alergênicos (glicinina, β -conglucina) (BELLAVIER e SNIZEK JR, 2012). O concentrado proteico de soja (CPS) é uma fonte proteica que contém uma quantidade significativa de proteína (60 a 65% PB), que já foi testada para o jundiá (FONTINELLI e RADÜNZ NETO, 2007). Entretanto, este ingrediente pode apresentar deficiência em alguns aminoácidos essenciais, como a lisina e a metionina (KAUSHIK et al., 1995). Mas ao adicionar maior quantidade de ingredientes proteicos de origem vegetal nas rações, principalmente derivados de soja, deve-se realizar suplementação com aminoácidos, principalmente a lisina, metionina e triptofano, geralmente deficientes em farelos vegetais (PONGMANEERAT et al., 1993).

A farinha de peixe, por apresentar elevado valor biológico e equilíbrio em aminoácidos essenciais, é considerada um alimento padrão para ensaios experimentais, (TACON, 1996; ENKE et al., 2009) principalmente para larvicultura. Contudo, o grande problema enfrentado atualmente é o aumento na demanda por farinha de peixe, devido ao crescimento da aquicultura, causando uma menor disponibilidade deste produto no mercado mundial e conseqüentemente o aumento do seu custo (BOSCOLO et al., 2008). Atualmente esta sendo utilizada na aquicultura como um ingrediente estratégico para fases críticas do ciclo de vida animal, fases iniciais de desenvolvimento, devido a sua exclusiva qualidade nutricional. A farinha de peixe (jundiá) foi testada com resultados satisfatórios para juvenis de jundiá (peso inicial de 5 gramas) (ROSSATO et al., 2014), considerada alternativa a escassez da farinha de peixe comercial.

O fígado de aves é reconhecido como uma valiosa fonte de nutrientes, principalmente em ácidos graxos para a nutrição de pós-larvas de jundiá. Segundo Ciešlik et al. (2011), o fígado de aves possui predominantemente, o ácido graxo saturado palmitato (C16:0), seguindo-se do estearato (C18:0). O principal ácido graxo monoinsaturado é o oleico (C18:1), seguido pelo palmitoleico (C16:1). O ácido poli-insaturado predominante (PUFA) é o

linoleico (C18:2), dos ácidos graxos n-6, o araquidônico (C20:4) foi o segundo mais importante, e o ácido linoleico conjugado (CLA) também foi encontrado nesta fonte.

A combinação de fígado bovino cru e levedura de cana é bem aceita pelas pós-larvas de jundiá, permitindo alta taxa de sobrevivência (85%) (RADÜNZ NETO, 2004). A utilização de fontes de origem animal e vegetal combinadas podem gerar uma dieta com bom balanceamento dos nutrientes necessários para o máximo desenvolvimento dos animais em estudo. A inclusão da proteína da farinha de peixe pode ser utilizada para complementar o padrão de aminoácidos e melhorar a qualidade global da proteína da dieta mista (FAO, 2014).

1.10 Taurina

A taurina é um ácido sulfônico encontrado em altas concentrações nos tecidos animais (SALZE e DAVIS, 2015). Ela é biosintetizada a partir dos aminoácidos sulfurados, metionina, cisteína e cistina (TAKEUCHI, 2014). A concentração padrão de taurina nas larvas após eclosão é semelhante ao do ácido docosahexaenóico (DHA), o qual é extremamente necessário para o crescimento das larvas (TAKEUCHI, 2001). A principal via para a síntese de taurina é a partir de metionina, acredita-se que envolve a transformação de metionina à cistationina por cistationina sintetase, a transformação de cistationina à cisteína por cistationase, a oxidação de cisteína à sulfinato de cisteína, a descarboxilação do sulfinato de cisteína a hypotaurina e ainda a oxidação da hypotaurina a taurina (WORDEN e STIPANUK, 1985). A biossíntese de taurina é um dos mais importantes processos catabólicos de aminoácidos contendo enxofre na maioria das espécies de mamíferos (KUZMINA et al., 2010). A piridoxina (vitamina B6) também é necessária para converter a metionina ou cisteína a taurina (BROSNAN e BROSNAN, 2006).

A taurina é o principal aminoácido livre essencial na manutenção do equilíbrio osmótico em larvas de carpa comum (ZHANG et al., 2006). Também está relacionada com a exigência fisiológica dos peixes, especialmente importantes na fase inicial de desenvolvimento, devido às altas taxas de metabolismo e formação de novas estruturas (PORTELLA et al., 2012). A remoção de ingredientes alimentares ricos em taurina da dieta, tais como farinha de peixe pode criar uma deficiência, onde os sintomas incluem reduzido crescimento e sobrevivência, aumento da susceptibilidade a doenças e desenvolvimento prejudicado das larvas (SALZE e DAVIS, 2015).

A taurina não gera antagonismo entre os outros aminoácidos, pois ela não é incorporada em proteínas (KUZMINA et al., 2010). Ela não forma proteína, ela participa de diversos processos que atuam melhorando o metabolismo e aumentando a eficiência do crescimento e deposição muscular. É um aminoácido condicional conseguido pelos animais via alimentação ou biosintetizado pelo fígado. A taurina está presente em matérias primas de origem animal, como a farinha de peixe, farinha de carne (DIVAKARAN, 2006). Sua suplementação é necessária principalmente para dietas à base de fontes vegetais (AKSNES, 2005) em peixes que não conseguem sintetizá-la através da metionina. A adição de taurina dietética melhora o ganho em peso e eficiência alimentar em linguado (PARK et al., 2002; KIM et al., 2005), bem como na truta arco-íris (GAYLORD et al., 2006).

Estudos realizados mostram que a taurina tem um papel protetor dos efeitos oxidantes de algumas substâncias que regulam a permeabilidade aos íons e água. Seu papel antioxidante e osmoregulador têm sido amplamente estudados (CAÑAS, 2002). Segundo Chatzifotis et al. (2008) a suplementação de taurina na dieta aumentou a taxa de crescimento específico e consumo diário de ração, enquanto reduziu conversão alimentar de “common dentex” (*Dentex dentex*). Devido à sua estrutura de aminoácidos, a taurina possui as características principais de estimulante na alimentação para peixe. Em larvas de robalo, o crescimento foi positivamente correlacionado com a adição de taurina na dieta, o que implica na necessidade de inclusão deste nutriente (e/ou aminoácidos sulfurados) na dieta (CONCEIÇÃO et al., 1997). A taurina pode ter importância fisiológica significativa para o desenvolvimento de embriões de peixes (PINTO et al., 2013). Elemento essencial para o crescimento, bem como para o comportamento de alimentação normal (PARK et al., 2002). Taurina na dieta pode aumentar não apenas o valor nutricional das dietas ricas em proteínas vegetais, mas também a sua palatabilidade (CHATZIFOTIS et al., 2008).

A taurina é um dos aminoácidos mais abundantes livre em tecidos de peixes. Desempenha papel significativo em muitas funções fisiológicas, incluindo a estabilização da membrana, está envolvida em processos antioxidantes, desintoxicação, regulação osmótica, modulação da resposta imune, transporte e regulação do cálcio nas células, o metabolismo e formação dos sais biliares, regulação osmótica e endócrina (liberação de hormônios) (EL-SAYED, 2013). A taurina pode melhorar o metabolismo dos lipídios nos peixes, por meio do aumento da atividade da lipase ativada por sais biliares no fígado (CHATZIFOTIS et al., 2008). Ela não é considerada um aminoácido essencial (WILSON, 2002), no entanto, a capacidade dos peixes de sintetizar a taurina é dependente da espécie e possivelmente afetada pelo estágio de desenvolvimento. Isto pode ser devido à variação da atividade da L-cisteína-

sulfinato descarboxilase, que é uma enzima chave para a conversão de cisteína a taurina. Assim, mesmo que a taurina não seja um nutriente essencial, a inclusão deste na dieta é recomendada se o critério de crescimento máximo é pretendido (EL-SAYED, 2013).

Em estudo com linguado (*Solea senegalensis*), Pinto et al. (2011) encontraram que a taurina dietética é rapidamente absorvida quando a digestão começa e a taurina endógena é utilizada conjugada com sais biliares e podem ser reciclados na extremidade posterior final do aparelho digestório. Neste estudo os mesmos autores sugerem que existe uma via de reciclagem entero-hepática da taurina, este é um processo que pode ser importante para a manutenção dos níveis de taurina no corpo, pelo menos nesta espécie.

Estudos indicam que peixes de água doce podem exigir taurina exógena para obtenção de ótimo desempenho de crescimento, consumo, digestão, absorção e demais funções fisiológicas. A suplementação com taurina melhora as taxas de crescimento, digestibilidade do alimento, eficiência alimentar, protease, lipase e amilase em juvenis de carpas (LIU et al., 2006; CHUNSHENG et al., 2007), carpa capim (LI et al., 2005; LUO et al., 2006) e larvas de tilápia do Nilo (GONÇALVES et al., 2011) alimentados com dietas a base de proteínas vegetais.

1.11 Referências bibliográficas

ALAMI-DURANTE, H.; ROUEL, M.; KENTOURI, M. New insights into temperature-induced white muscle growth plasticity during *Dicentrarchus labrax* early life: a developmental and allometric study. **Marine Biology**, v.149, p.1551-1565, 2006.

ALAMI-DURANTE, H.; OLIVE N.; ROUEL, M. Early thermal history significantly affects the seasonal hyperplastic process occurring in the myotomal white muscle of *Dicentrarchus labrax* juveniles. **Cell and Tissue Research**, v.327, p.553-570, 2007.

ALMEIDA, F.L.A. **Expressão gênica de fatores que controlam o crescimento muscular do pacu (*Piaractus mesopotamicus*)**. 2011. 127 f. Tese (Doutorado em Biologia celular e estrutural) – Universidade Estadual de Campinas/Instituto de Biologia, Campinas, 2011.

AKSNES, A. Feed ingredients. The impacts of nitrogen extractives in aqua feed ingredients. **International Aqua Feed**, v.8, p.28-30, 2005.

ASSIS, J.M.F.; CARVALHO, R.F.; BARBOSA, L.; AGOSTINHO, C.A.; DAL PAI SILVA, M. Effects of incubation temperature on muscle morphology and growth in the pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Aquaculture**, v.237, p.251-67, 2004.

BAÑUELOS-VARGAS, I.; LÓPEZ, L. M.; PÉREZ-JIMÉNEZ, A.; PERES, H. Effect of fishmeal replacement by soy protein concentrate with taurine supplementation on hepatic intermediary metabolism and antioxidant status of totoaba juveniles (*Totoaba macdonaldi*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v.170, p.18-25, 2014.

BELLAVER, C.; SNIZEK JR, P.N. Processamento da soja e suas implicações na alimentação de suínos e aves. Embrapa Suínos e Aves, SC. Disponível em: <file.aviculturaindustrial.com.br/Material/Tecnico/2012/soja_si_ai.pdf>. Acesso em: 21 de janeiro de 2015.

BEHR, E.R.; TRONCO, A.P.; RADÜNZ NETO, J. Ação do tempo e da forma de suplementação alimentar com *Artemia franciscana* sobre a sobrevivência e o crescimento de larvas de jundiá. **Ciência Rural**, v.30, p.503-507, 2000.

BEITZ, D.C. Physiological and metabolic systems important to animal growth – an overview. **Journal of Animal Science**. v.61, p.1-20, 1985.

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

BOSCOLO, W.R.; HAYASHI, C.; FEIDEN, A.; MEURER, F.; SIGNOR, A.A. Composição química e digestibilidade aparente da energia e nutrientes da farinha de resíduos da indústria de filetagem de tilápias, para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Ciência Rural**, v.38, p.2579-2586, 2008.

BROOKS, S.; TYLER, C.R.; SUMPTER, J.P. Egg quality in fish: what makes a good egg? Reviews in **Fish Biology and Fisheries**, v.7, p.387-416, 1997.

BROSNAN, J.T.; BROSNAN, M.E. The sulfur-containing amino acids: an overview. **The Journal of Nutrition**, v.136, p.1636–1640, 2006.

CAÑAS, D.P. Rol biológico y nutricional de la taurina y sus derivados. **Revista Chilena de Nutrición**, v.29, p.286-292, 2002.

CAHU, C.; INFANTE, J.Z.; TAKEUCHI, T. Nutritional components affecting skeletal development in fish larvae. **Aquaculture**, v.227, p.254-258, 2003.

CARANI, F.R.; AGUIAR, D.H.; ALMEIDA, F.L.A.; GONÇALVES, H.S.; PADOVANI, C.R. e DAL PAI SILVA, M. Morfologia e crescimento do músculo estriado esquelético no pirarucu *Arapaima gigas* Cuvier, 1817 (Teleostei, Arapaimidae). **Acta Scientiarum-Biological Sciences**, v.30, p.205-211, 2008.

CARDOSO, A.P.; RADÜNZ NETO, J.; MEDEIROS, T.S.; KNÖPKER, M.A.; LAZZARI, R. Criação de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentadas com rações granuladas contendo fígados ou hidrolisados. **Acta Scientiarum-Animal Sciences**, v.26, p.457-462, 2004.

CHATZIFOTIS, S.; POLEMITOU, I.; DIVANACH, P.; ANTONOPOULOU, E. Effect of dietary taurine supplementation on growth performance and bile salt activated lipase activity of common dentex, *Dentex dentex*, fed a fish meal/soy protein concentrate-based diet. **Aquaculture**, v.275, p.201-208, 2008.

CHUNSHENG, G.; GUANGLI, F.; YANLING, W. Effects of taurine on growth performance and digestive enzyme activity of carp. **Chinese Agricultural Science Bulletin**, v.6, p.139, 2007.

CIEŚLIK, E.; CIEŚLIK, I.; MOLINA-RUIZ, J.M.; WALKOWSKA, I.; MIGDAL, W. The content of fat and fatty acids composition in chicken liver. **Biotechnology in Animal Husbandry**, v.27, p.1855-1856, 2011.

COLDEBELLA, I.J.; RADÜNZ NETO, J. Farelo de soja na alimentação de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência Rural**, v.32, p.499-503, 2002.

COLDEBELLA, I.J.; RADÜNZ NETO, J.; MALLMANN, C.A.; VEIVERBERG, C.A.; BERGAMIN, G.T.; PEDRON, F.A.; FERREIRA, D.; BARCELLOS, L.J.G. The effects of different protein levels in the diet on reproductive indexes of *Rhamdia quelen* females. **Aquaculture**, v.312, p.137-144, 2011.

COLDEBELLA, I.J.; EMANUELLI, T.; VEIVERBERG, C.A.; PRETTO, A.; ROSSATO, S.; FERREIRA, D.; BARCELLOS, L.J.G.; RADÜNZ NETO, J. Effect of different dietary lipid levels on the reproduction of *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard, 1824). **Aquaculture Nutrition**, v.19, p.751-764, 2013.

CONCEIÇÃO, L.E.C.; VAN DER MEEREN, T.; VERRETH, M.S.; EVJEN, M.S.; HOULIHAN, D.F.; FYHN, H.J. Amino acid metabolism and protein turnover in larval turbot (*Scophthalmus maximus*) fed natural zooplankton or artemia. **Marine Biology**, v.129, p.255-265, 1997.

CORRAZE, G. Lipid nutrition. In: GUILLAUME, J.C.; KAUSHIK, S.; BERGOT, P.; MÉTAILLER, R. **Nutrition and feeding of fish and crustaceans**. Coédition Inra-Ifremer, Springer-Praxis books in Aquaculture and fisheries, 2001, 408 p., cap.7, p.111-130.

CORRÊA, C.F.; AGUIAR, L.H.; LUNDSTEDT, L.M.; MORAES, G. Responses of digestive enzymes of tambaqui (*Colossoma macropomum*) to dietary cornstarch and metabolic inferences. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.147, p.857-862, 2007.

COUTTEAU, P.; GEURDEN, I.; CAMARA, M.R.; BERGOT, P.; SORGELLOOS, P. Review on the dietary effects of phospholipids in fish and crustacean larviculture. **Aquaculture**, v.155, p.149-164, 1997.

CYRINO, J.E.P. Regulação nutricional do crescimento em peixes. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE NUTRIÇÃO DE PEIXES E CRUSTÁCEOS. **CBNA, Anais....Campos do Jordão**, p.69-90, 1995.

DABROWSKI, K. The feeding of fish larvae: present "state of the art" and perspectives. **Reproduction Nutrition and Development**, v.24, p.807-833, 1984.

DABROWSKI, K.; ZHANG, Y.; KWASEK, K.; HLIWA, P.; OSTASZEWSKA, T. Effects of protein-, peptide- and free amino acid-based diets in fish nutrition. **Aquaculture Research**, v.41, p.668-683, 2010.

DAL PAI-SILVA, M.; DAL PAI, V.; CARVALHO, R.F. **Célula muscular estriada esquelética. Células: uma abordagem multidisciplinar**. Editora Manole: São Paulo, p.83-94, 2005.

DAL-PAI, M.; ALMEIDA, F.L.A.; CARANI, F.R. Morfologia, desenvolvimento e crescimento muscular. In: BALDISSEROTTO, B.; CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C. **Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce**. Jaboticabal, FUNEP, UNESP, 336 p., 2014, cap.8, p.157-174.

DIVAKARAN, S. **Taurine: an amino acid rich in fish meal**. Avances en nutrición acuícola VIII. In: VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 15-17 Nov.Universidad Autónoma de Nuevo León. México, 2006. p.310-317.

DREW, M.D.; BORGESON, T.L.; THIESSEN, D.L. A review of processing of feed ingredients to enhance diet digestibility in finfish. **Animal Feed Science and Technology**, v.138, p.118-136, 2007.

EL-SAYED, A.M. Is dietary taurine supplementation beneficial for farmed fish and shrimp? a comprehensive review. **Reviews in Aquaculture**, v.5, p.1-15, 2013.

ENKE, D.B.S.; LOPES, P.S.; KICH, H.A.; BRITTO, A.P.; SOQUETTA, M.; POUHEY, J.L.O.F. Utilização de farinha de silagem de pescado em dietas para o jundiá na fase juvenil. **Ciência Rural**, v.39, p.871-877, 2009.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture. 2014. Roma, Italy. 244p. Disponível em: www.fao.org/3/a-i3807e.pdf. Acesso em 26 de dezembro de 2014.

FINN, R.N.; FYHN, H.J. Requirement for amino acids in ontogeny of fish. **Aquaculture Research**, v.41, p.684-716, 2010.

FONTINELLI, E.; RADÜNZ NETO, J. Efeito do concentrado proteico de soja em rações, com e sem suplementação em aminoácidos, para pós-larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Revista Brasileira de Agrociência**, v.13, p.225-229, 2007.

FURUYA, W.M.; SANTOS, V.G.; SILVA, L.C.R.; FURUYA, V.R.B.; SAKAGUTI, E.S. Exigências de lisina digestível para juvenis de tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.937-942, 2006.

GALDINO, A.M.R. **Plasticidade do desenvolvimento muscular e da expressão temporal de fatores reguladores miogênicos durante os estádios iniciais de *Rhamdia quelen* incubados em diferentes temperaturas**. 2013. 102 f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba/PR, 2013.

GARCIA, A.S.; GONÇALVES, L.U.; CAVALLI, R.O.; VIEGAS, E.M.M. Lipídios. In: **NUTRIAQUA: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**, 2012. cap.5, p.79-99.

GAYLORD, T.G.; TEAGUE, A.M.; BARROWS, F.T. Taurine supplementation of all-plant protein diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal of the World Aquaculture Society**, v.37, p. 509-517, 2006.

GATESOUBE, F.J.; ZAMBONINO INFANTE, J.L.; CAHU, C.; BERGOT, P. Ontogeny and digestive physiology of fish larvae. In: GUILLAUME, J.C.; KAUSHIK, S.; BERGOT, P.; MÉTAILLER, R. **Nutrition and feeding of fish and crustaceans**. Coédition Inra-Ifremer, Springer-Praxis books in Aquaculture and fisheries, 2001, 408 p., cap.12, p.199-211.

GEURDEN, I.; RADÜNZ-NETO, J.; BERGOT, P. Essentiality of dietary phospholipids for carp (*Cyprinus carpio L.*) larvae. **Aquaculture**, v.131, p.303-314, 1995.

GOMES, A.D.; CORREIA, T.G.; MOREIRA, R.G. Fatty acids as trophic biomarkers in vitellogenic females in an impounded tropical river. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.36, p.699-718, 2010.

GONÇALVES, G.S.; RIBEIRO, M.J.P.; VIDOTTI, R.M.; SUSSEL, F.R. Taurine supplementation in diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). World Aquaculture, Natal, Brazil. **World Aquaculture Society**, 2011.

HELLAND, S.; NEJSTGAARD, J.C.; HUMLEN, R.; FYHN, H.J.; BAMSTEDT, U. Effects of season and maternal food on *Calanus finmarchicus* reproduction, with emphasis on free amino acids. **Marine Biology**, v.142, p.1141-1151, 2003.

HIRAMATSU, N.; HIRAMATSU, K.; HIRANO, K.; HARA, A. Vitellogenin-derived yolk proteins in a hybrid sturgeon, bester (*Huso huso x Acipenser ruthenus*): Identification, characterization and course of proteolysis during embryogenesis. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.131, p.429-441, 2002.

IZQUIERDO, M.S.; FERNANDEZ-PALACIOS, H.; TACON, A. G. J. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. **Aquaculture**, v.197, p.25-42, 2001.

IZQUIERDO, M.; KOVEN, W. **Lipids**. In: Holt, I. Larval Fish Nutrition. Wiley Online Library. Oxford, 2011. 448 p.

JOBLING, M. **Environmental biology of fishes**. New York: Chapman e Hall, 1995. 455p.

JOBLING, M.; GOMES, E.; DIAS, J. Feed types, manufacture and ingredients. In: HOULIHAN, D.; BOUJARD, T.; JOBLING, M. **Food Intake in Fish**. Blackwell Science Ltd, Oxford, UK, 2001, 418 p., cap.2, p.25-48.

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

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

KIM, S.; TAKEUCHI, T.; AKIMOTO, A.; FURUITA, H.; YAMAMOTO, T.; YOKOYAMA, M.; MURATA, Y. Effect of taurine supplemented practical diet on growth performance and taurine contents in whole body and tissues of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. **Fisheries Science**, v.71, p.627-632, 2005.

KOBLITZ, M.G.B. **Bioquímica de Alimentos: teoria e Aplicações Práticas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 242p.

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

KUZMINA, V.V.; GAVROVSKAYA, L.K.; RYZHOVA, O.V. Taurine. Effect on exotrophia and metabolism in mammals and fish. **Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology**, v.46, p.19-27, 2010.

LAZO, J.P.; DARIAS, M.J.; GISBERT, E. **Ontogeny of the digestive tract**. In: Holt, I. Larval Fish Nutrition. Wiley Online Library. Oxford, 2011. 448 p.

LAZZARI, R. **Estudo de enzimas digestivas, crescimento e composição centesimal de filés de Juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentados com diferentes fontes proteicas**. 2005. 83 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria/RS, 2005.

LAZZARI, R.; RADÜNZ NETO, J.; LIMA, R.L.; PEDRON, F.A.; LOSEKANN, M.E. Efeito da frequência de arraçoamento e da troca do tamanho de partícula alimentar no desenvolvimento de pós-larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Revista Brasileira de Agrociência**, v.10, p.231-234, 2004.

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

LI, P.; GATLIN III, D.M. Evaluation of brewers yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as feed supplement for hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*). **Aquaculture**, v.219, p.681-692, 2003.

LI, L.; LIN, W.; YONG, L.; JIANLIN, G.; XIA, Y. Study on effects of taurine on growth performance of grass carp. **Feed Industry**, v.12, p.006, 2005.

LIU, H.; LI, H.W.; XU, Y.J.; SHI, X.G.; ZHU, Z.C. Effects of taurine on growth and nutritional value of carps. **Food Science and Technology**, v.8, p.097, 2006.

LOVELL, R.T. **Nutrition and Feeding of Fish**. Boston: Kluwer Academic Publishing, 1998. 267p.

LUO, L.; WEN, H.; WANG, L. Effects of taurine on growth performance, quality, digestive and metabolic enzyme activity of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). **Chinese Journal of Animal Nutrition**, v.18, p.166-171, 2006.

MARECO, E.A. **Efeitos da temperatura na expressão de genes relacionados ao crescimento muscular em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) linhagem gift**. 2012. 66f. Dissertação - Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, 2012.

MARTIN, S.; ROSSI, F.; HUIDOBRO, S.P.; WICKI, G. Evaluación de tres dietas em larvicultura del randiá (*Rhamdia quelen*) en sistema intensivo controlado. IV Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura, p.1299-1310, 2006. Disponível em: <<http://www.civa2006.org>>. Acesso em 25 de janeiro de 2015.

MEYERS, S.P. Aquaculture diets with lecithin. **Feed International**, Louisiana, p.17-19, 1990.

MICHELIN, A.C. **Músculo estriado esquelético em peixes: aspectos estruturais bioquímicos das fibras e da matriz extracelular durante o crescimento**. 2007. 82 f. Dissertação (Mestrado em Ciências biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

MOURA, G.S.; OLIVEIRA, M.G.A.; LANNA, E.A.T. Desempenho e atividade de lipase em tilápias do Nilo. **Archivos de Zootecnia**, v.61, p.367-374, 2012.

MOMMSEN, T.; KORSGAARD, B. **Vitellogenesis**. 113-169 in Rocha MJ, Arukwe A and Kapoor BG editors. Fish Reproduction. Science Publishers, Enfield, NH, State, 2008.

NAVARRO, F.K.S.P.; NAVARRO, R.D. Importância do fotoperíodo no crescimento e na reprodução de peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.36, p.94-99, 2012.

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

OLIVEIRA, A.M.B.M.S.; CONTE, L.; CYRINO, J.E.P. Produção de Characiformes autóctones. In CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALLOSSI, D.M.; CASTAGNOLLI, N. **Tópicos especiais em piscicultura de água doce**. São Paulo: TecArt. 2004. 533 p.

PARRA, J.E.G.; RADÜNZ NETO, J.; VEIVERBERGI, C.A.; LAZZARI, R.; BERGAMIN, G.T.; PEDRON, F.A.; ROSSATO, S.; SUTILI, F.J. Alimentação de fêmeas de jundiá com fontes lipídicas e sua relação com o desenvolvimento embrionário e larval. **Ciência Rural**, v.38, p.211-217, 2008

PARRA, J.E.G.; RADÜNZ NETO, J.; VEIVERBERG, C.A.; LAZZARI, R.; BERGAMIN, G.T.; CORRÊIA, V.; FERREIRA, C.C.; FERREIRA, F.W. Desempenho reprodutivo de fêmeas de jundiá alimentadas com diferentes fontes proteicas. **Archivos de Zootecnia**, v.59, p.255-265, 2010.

PARK, G.S.; TAKEUCHI, T.; YOKOYAMA, M.; SEIKAI, T. Optimal dietary taurine level for growth of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. **Fisheries Science**, v.68, p. 824-829, 2002.

PERÁGON, J.; BARROSO, J.B.; GARCÍA-SALGUERO, L.; HIGUERA, M.; LUPIÁÑEZ, J.A. Dietary protein effects on growth and fractional protein synthesis and degradation rates in liver and white muscle of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.124, p.35-46, 1994.

PEREIRA-FILHO, M.; ROUBACH, R. Pirarucu, *Arapaima gigas*. In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2ª edição rev. Ampl. Santa Maria. Editora da UFSM, 2013. 608 p.

PEZZATO, L.E.; BARROS, M.M.; FRACASOLI, D.M.; CYRINO, J.E.P. Nutrição de peixes. In: Cyrino, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALLOSSI, D.M.; CASTAGNOLLI, N. (Ed). **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt, 2004. cap.5, p.75-169.

PIAIA, R.; RADÜNZ NETO, J. Avaliação de diferentes fontes protéicas sobre o desempenho inicial de larvas do jundiá *Rhamdia quelen*. **Ciência Rural**, v.27, p.319-323, 1997a.

PIAIA, R.; RADÜNZ NETO, J. Efeito de níveis crescentes de levedura de álcool em rações contendo fígado bovino sobre a performance de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência Rural**, v.27, p.313-317, 1997b.

PINTO, W.; RØNNESTAD, I.; JORDAL, A.E.O.; GOMES, A.S.; DINIS, M.T.; ARAGÃO, C. Cloning, tissue and ontogenetic expression of the taurine transporter in the flatfish Senegalese sole (*Solea senegalensis*). **Amino Acids**, v.42, p.1317-1327, 2011.

PINTO, W.; FIGUEIRA, L.; SANTOS, A.; BARR, Y.; HELLAND, S.; DINIS, M.T.; ARAGÃO, C. Is dietary taurine supplementation beneficial for gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae? **Aquaculture**, v.384, p.1-5, 2013.

PONGMANEERAT, J.; WATANABE T.; TAKEUCHI, T.; SATOH, S. Use of different protein meals as partial or total substitution for fish meal in carp diets. **Nippon Suisan Gakkaishi**, v.59, p.1249-1257, 1993.

PORTELLA, M.C.; LEITÃO, N.J.; TAKATA, R.; LOPES, T.S. Alimentação e nutrição de larvas. In: **NUTRIAQUA: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**, 2012. cap.9, p.185- 216.

RADÜNZ NETO, J.; MELO, J.F.B.; TROMBETTA, C.G.; MEDEIROS, T.S. Substituição parcial de levedura de cana por farelo de soja na alimentação de larvas de piavuçu *Leporinus macrocephalus*. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v.7, p.127-134, 2001.

RADÜNZ NETO, J. Manejo alimentar – Nutrição. In: BALDISSEROTTO, B.; RADÜNZ NETO, J. **Criação de Jundiá**. Santa Maria: Ed.UFSM, 2004, cap.8, p.143-157.

RADÜNZ NETO, J. **Desenvolvimento de técnicas de reprodução e manejo de larvas e alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*)**. 1981. 77 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria/RS, 1981.

RØNNESTAD, I.; CONCEIÇÃO, L.E.; ARAGÃO, C.; DINIS, M.T. Free amino acids are absorbed faster and assimilated more efficiently than protein in postlarval senegal sole (*Solea senegalensis*). **The Journal of Nutrition**, v.130, p.2809-2812, 2000.

RØNNESTAD, I.; MORAIS, S. **Nutrition and energy**. In: FINN, R.N.; KAPOOR, E B.G. **Fish Larval Physiology**, Science Publishers, Enfield, New Hampshire, USA, 2008. cap.3, p.201-262.

ROSSATO, S.; LAZZARI, R.; FREITAS I.L.; MASCHIO, D. ; CORRÊIA, V.; RADÜNZ NETO, J. Diferentes níveis de incorporação de farinha de resíduos de jundiás (*Rhamdia quelen*) cultivados na dieta. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, p.894-902, 2014.

ROTTA, M.A.; Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura / Marco Aurélio Rotta. – Corumbá: Embrapa Pantanal, 2003, 48p. Disponível em: www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/DOC53.pdf. Acesso em: 20 de dezembro de 2014.

ROWLERSON, A.; VEGGETTI, A. Cellular mechanisms of post-embryonic muscle growth in aquaculture species, in: Johnston, I.A. (Ed.), **Muscle Development and Growth**. Academic Press, London, 2001. cap.5, p.103-140.

SAAVEDRA, M.; BARR, Y.; POUÇÃO-FERREIRA, P.; HELLAND, S.; YÚFERA, M.; DINIS, M.T.; CONCEIÇÃO, L.E.C. Supplementation of tryptophan and lysine in diploodus sargus larval diet: effects on growth and skeletal deformities. **Aquaculture Research**, v.40, p.1191-1201, 2009.

SALZE, G.P.; DAVIS, D.A. Taurine: A critical nutrient for future fish feeds. **Aquaculture**, v.437, p.215-229, 2015.

SAMPAIO, L.A.; PIEDRAS, S.R.N. Cultivo do peixe rei marinho (*Odontesthes argentinensis*) e de água doce (*odontesthes bonariensis*). In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2ª edição rev. Ampl. Santa Maria. Editora da UFSM, 2013. Cap.14, p.383-400.

SÄNGER, A.M.; STOIBER, W. Muscle fiber diversity and plasticity. In: Johnston, I.A. (Ed.) **Muscle Development and Growth**. Academic Press, London, 2001. cap.7, p.187-250.

SANTOS, V.B. Aspectos morfológicos da musculatura lateral dos peixes. **Boletim Instituto da Pesca**, São Paulo, v.33, p.127-135, 2007.

SEIXAS FILHO, J.T. Revisão sobre as enzimas digestivas nos peixes teleostei e seus métodos de determinação. **Revista Augustus**, v.8, p.30-45, 2003.

SILVA, P.; VALENTE, L.M.P.; OLMEDO, M.; GALANTE, M.H.; MONTEIRO, R.A.F.; ROCHA, E. Hyperplastic and hypertrophic growth of lateral muscle in blackspot seabream *Pagellus bogaraveo* from hatching to juvenile. **Journal of Fish Biology**, v.74, p.37-53, 2009.

SILVEIRA, J. **Ontogenia do sistema digestório das larvas de jundiá, *Rhamdia quelen*, determinada através de estudos bioquímicos e histológicos.** 2012. 63 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis/SC, 2012.

STOIBER, W.; HASLETT, J.R.; WENK, R.; STEINBACHER, P.; GOLLMANN, H.P.E SÄNGER, A.M. Cellularity changes in developing red and white fish muscle at different temperatures: simulating natural environmental conditions for a temperate freshwater cyprinid. **The Journal of Experimental Biology**, v.205, p.2349-2364, 2002.

TABATA, Y.A.; PORTZ, L. Truticultura em clima tropical. In: CYRINO, J.E.P. (Ed.). **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva.** São Paulo: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática/Ed. TecArt. 2004. cap.11, p.307-341.

TACON, A.G.J. Trends in Aquaculture production with particular reference to low income food deficit Countries 1984-1993. **Food Aquaculture**, v.12, p.6-9, 1996.

TAYLOR, J.; MIGAUD, H. Timing and duration of constant light affects rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growth during autumn–spring grow-out in freshwater. **Aquaculture Research**, v.40, p.1551-1558, 2009.

TAKEUCHI, T. A review of feed development for early life stages of marine finfish in Japan. **Aquaculture**, v.200, p.203-222, 2001.

TAKEUCHI, T. Progress on larval and juvenile nutrition to improve the quality and health of seawater fish: a review. **Fisheries Science**, v.80, p.389-403, 2014.

TROMBETTA, C.G.; RADÜNZ NETO, J.; LAZZARI, R. Suplementação vitamínica no desenvolvimento de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência e Agrotecnologia**, v.30, p.224-229, 2006.

ULIANA, O.; SILVA, J.H.S.; RADÜNZ NETO, J. Diferentes fontes de lipídios testadas na criação de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*), Pisces, Pimelodidae. **Ciência Rural**, v.31, p.129-133, 2001.

VAN DER MEEREN, T.; OLSEN, R.E.; HAMRE, K.; FYHN, H.J. Biochemical composition of copepods for evaluation of feed quality in production of juvenile marine fish. **Aquaculture**, v.274, p.375-397, 2008.

ZAMBONINO INFANTE, J.L.; CAHU, C.L. Dietary modulation of some digestive enzymes and metabolic processes in developing marine fish: Applications to diet formulation. **Aquaculture**, v.268, p.98-105, 2007.

ZHANG, Y.; DABROWSKI, K.; HLIWA, P.; GOMULKA, P. Indispensable amino acid concentrations decrease in tissues of stomachless fish, common carp in response to free amino acid- or peptidebased diets. **Amino Acids**, v.31, p.165-172, 2006.

WATABE, S. Myogenic regulatory factors and muscle differentiation during ontogeny in fish. **Journal of Fish Biology**, v.55, p.1-18, 1999.

WEATHERLEY, A.H.; GILL, H.S. Characteristics of mosaic muscle growth in rainbow trout *Salmo gairdneri*. **Experientia**, v.37, p.1102-1103, 1981.

WEATHERLEY, A.H.; GILL, H.S. Relative growth of tissues at different somatic growth rates in rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. **Journal of Fish Biology**, v.23, p.43-60, 1983.

WILSON, R.P. Amino acids and proteins. In: HALVER, J.E.; HARDY, R.W. **Fish Nutrition**. Ed. Academic Press, 3^{ed.}, 2002. cap.3, p.143-179.

WORDEN, J.A.; STIPANUK, M.H. A comparison by species, age and sex of cysteine sulfinate decarboxylase activity and taurine concentration in the liver and brain of animals. **Comparative Biochemistry Physiology**, v.82B, p.233-239, 1985.

YANG, R.; XIE, C.; FAN, Q.; GAO, C.; FANG, L. Ontogeny of the digestive tract in yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco* larvae. **Aquaculture**, v.302, p.112-113, 2010.

YOUNG, V.R. Muscle protein accretion. **Journal of Animal Science**, v.61, p.39-56, 1985.

CAPÍTULO II

CRESCIMENTO E HISTOLOGIA MUSCULAR DE PÓS-LARVAS DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) ALIMENTADAS COM DIETAS MISTAS¹

Resumo: O estudo da larvicultura de espécies nativas é essencial para aprimorar as dietas já existentes, pois o crescimento ou desenvolvimento muscular é influenciado principalmente pela qualidade da dieta ofertada. A utilização de fontes proteicas de origem animal e vegetal pode contribuir para o balanceamento da dieta, tornando-a nutricionalmente completa. Devido a isso, este trabalho teve como objetivo analisar o desenvolvimento embrionário e larval do jundiá, desempenho e desenvolvimento muscular das pós-larvas alimentadas com dietas compostas por ingredientes de origem animal e vegetal. Sendo assim, foi testada a inclusão de farinha de peixe (FJ) (0; 15 e 30%) e do concentrado proteico de soja (CPS) (0; 15 e 30%) em substituição ao fígado de aves na dieta padrão. Para o estudo do desenvolvimento muscular utilizamos 10 pós-larvas que apresentaram o melhor e menor ganho em peso diário. Ao final do período de alimentação (28 dias), as pós-larvas alimentadas com a dieta 15FJ apresentaram maior peso e melhor desempenho que as pós-larvas alimentadas com as demais dietas. Às 72 Horas após fertilização (Hpf) as larvas estavam totalmente formadas e as 108 Hpf, foi iniciado o fornecimento da dieta granulada. O diâmetro e número total de fibras foram maiores para os peixes alimentados com a dieta 15FJ em relação às outras dietas testadas. Os ingredientes utilizados na dieta mista 15FJ proporcionaram a melhor combinação de nutrientes para o desempenho e desenvolvimento muscular das pós-larvas de jundiá.

Palavras-chave: Concentrado proteico de soja. Desempenho. Desenvolvimento embrionário. Farinha de peixe.

¹Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo comitê de ética no uso dos animais - UFSM, parecer n°062/2013.

2.1 Introdução

O sucesso na larvicultura de peixes é essencial para o crescimento da produção na aquicultura. As dietas utilizadas nesta fase devem ser palatáveis e digestíveis aos animais para maximizar o crescimento em um curto período de tempo. Entretanto, para reduzir as perdas, é necessária a utilização de alimentos com composição nutricional conhecida que proporcione rápido desenvolvimento aos peixes (FONTINELLI e RADÜNZ NETO, 2007).

O desenvolvimento muscular, ou crescimento, é influenciado principalmente pela qualidade da dieta ofertada, mas também sofre influência da temperatura da água, a qual é considerada o principal determinante do crescimento dos peixes, pois modula o processo de crescimento do músculo branco (ALAMI-DURANTE et al., 2006). O estudo do desenvolvimento muscular já foi realizado para algumas espécies de peixes teleósteos dentre eles o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (ASSIS et al., 2004; MICHELIN et al., 2009), o pirarucu (*Arapaima gigas*) (CARANI et al., 2008) e a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (DAL PAI-SILVA et al., 2003). O crescimento é considerado um processo altamente dinâmico e complexo, que ocorre a partir do aumento da massa muscular, por hiperplasia ou hipertrofia das fibras musculares (CARANI et al., 2008) acompanhado do crescimento esquelético, que dá a sustentação necessária ao músculo. Ele ocorre a partir da utilização do alimento que deve ser de boa qualidade, palatável e digestível (RADÜNZ NETO et al., 2001).

As pós-larvas de jundiá aceitam alimento inerte (ração granulada) desde a primeira alimentação (PIAIA e RADÜNZ NETO, 1997b). A combinação de fígado mais levedura de cana em dietas para pós-larvas de jundiá foi utilizada inicialmente por Piaia e Radünz Neto (1997b) tendo em vista a inclusão máxima de levedura (50%) em substituição ao fígado bovino cru (40%). A partir desta dieta, Uliana et al. (2001) incluíram a lecitina de soja (2%) como fonte de ácidos graxos essenciais que contribuiu para melhorar o desenvolvimento inicial. Fontes de origem animal foram estudadas por Cardoso et al. (2004) onde substituíram o fígado bovino (30%) pelo fígado de aves (30%) conseguindo resultados superiores de desempenho para os animais alimentados com esta dieta.

A mistura vitamínica utilizada em larvicultura do jundiá inicialmente era a mesma utilizada para aves. Posteriormente Trombetta et al. (2006) testaram uma mistura vitamínica ideal adicionada de inositol e vitamina C. A inclusão do concentrado proteico de soja com e sem aminoácidos sintéticos inicialmente foram estudados por Fontinelli e Radünz Neto (2007), mas sem sucesso. Em outro estudo, com base nos citados acima, Coldebella et al.

(2011) incluíram na dieta a gema de ovo cozido, encontrando bons resultados de crescimento. A inclusão de ingredientes adequados em certas proporções pode originar uma dieta completa, ou seja, uma dieta com todos os nutrientes disponíveis para o máximo desempenho dos animais.

A utilização de dietas mistas, onde se inclui matérias primas de origem animal e vegetal, visa o adequado balanceamento da dieta podendo ser utilizados derivados de soja, tendo em vista a constante oferta deste produto, ou de origem animal, como a farinha de peixe, devido a excelente qualidade nutricional.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi analisar o desenvolvimento embrionário e larval do jundiá, desempenho e desenvolvimento muscular das pós-larvas alimentadas com dietas compostas por ingredientes de origem animal (FJ) e vegetal (CPS).

2.2 Material e métodos

Os ovos e larvas de jundiá utilizados no trabalho foram obtidos por meio de reprodução e incubação realizadas em piscicultura da região de Santa Maria/RS. A reprodução foi induzida utilizando extrato hipofisiário de carpas, sendo os peixes mantidos em incubadora (ZOUJ) de 60 litros. Após a liberação natural dos gametas e fertilização (hora zero), acompanhou-se o desenvolvimento embrionário, com auxílio de lupa (Zeiss-Axion vision 4.8). Nos seguintes períodos até a eclosão: zero, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 24, 32, 40, 48, 60 e 72 horas após fertilização (Hpf), coletando-se cinco amostras em cada período. Após a eclosão e início da natação as larvas permaneceram na incubadora até desenvolverem totalmente o canal alimentar (DABROWSKI, 1984).

A partir deste momento foram transferidas para um sistema de criação com 35 unidades experimentais, compostas por dois recipientes plásticos com dreno para controle do volume d'água (5 L), para início da alimentação exógena. O recipiente interno deste sistema é dotado de tela lateral para impedir a saída das larvas, com abastecimento e escoamento individuais, conectados em sistema de recirculação de água com filtro biológico composto de pedra britada. O período de alimentação teve duração de 28 dias.

Durante todo o período, foram verificados diariamente a temperatura média ($24,6^{\circ}\text{C} \pm 1,1$) e oxigênio ($6,2 \text{ mg L}^{-1} \pm 0,6$) da água com o auxílio de oxímetro digital (modelo YSI 550), o pH ($7,2 \pm 0,24$) com pHmetro (modelo MPA – 210 P). A amônia total ($0,11 \pm 0,03 \text{ mg}$

L⁻¹), alcalinidade ($37,3 \pm 7,4$ mg L⁻¹ CaCO₃), nitrito ($0,03 \pm 0,01$ mg L⁻¹) e dureza ($52 \pm 11,25$ mg L⁻¹ CaCO₃) analisados semanalmente através do uso de kits colorimétricos. A vazão utilizada em cada unidade experimental foi de 0,20 L min⁻¹ na primeira semana (TRONCO et al., 2007), sendo aumentada gradativamente até 1L min⁻¹ na quarta semana experimental.

As dietas (Tabela 1) foram elaboradas, onde primeiramente foram misturados os ingredientes secos (granulometria inferior a 75 µm) (TROMBETTA et al., 2006). Após serem homogeneizados foi adicionado o fígado *in natura* e/ou água (quando necessário) até a mistura apresentar umidade suficiente para a peletização em moedor de carne. Posteriormente foi seca a 40°C por 24 horas em estufa com renovação de ar. Após secas, as rações foram moídas e peneiradas, separando-se em porções compostas por partículas de 100-200 µm, 200-400 µm, 400-600 µm, 600-800 µm obtendo-se assim a granulometria adequada para a abertura da boca das pós-larvas. As dietas foram mantidas em um freezer a 4°C até o momento da alimentação.

Foram avaliados cinco tratamentos cada um com sete repetições (48 pós-larvas por litro em cada unidade experimental), utilizando-se como tratamento controle a dieta recomendada por Piaia e Radünz Neto (1997b) ajustada por Cardoso et al. (2004) e adaptada de Coldebella et al. (2011) sendo a base proteica composta por levedura de cana e fígado de aves considerada padrão. Os percentuais de vitaminas foram incluídos seguindo Trombetta et al. (2006). Foi testado a inclusão de farinha de peixe (0; 15 e 30%) (ROSSATO et al., 2014) e do concentrado proteico de soja (CPS) (0; 15 e 30%) em substituição ao fígado de aves na dieta padrão.

Os animais foram alimentados a cada 2 horas, entre oito e 20 horas, a ração foi ofertada em quantidades que excediam a capacidade de ingestão dos peixes (RADÜNZ NETO, 2004). A quantidade ofertada aos animais foi quantificada, antes de alimentar pela manhã e após a última oferta de alimento, os recipientes que continham a ração eram pesados para calcular a oferta de ração.

Diariamente, foi realizada a limpeza individual das unidades experimentais, para a retirada de pós-larvas mortas, fezes e sobra de ração, meia hora após a segunda alimentação da manhã (10:30 h). Antes da alimentação das 18 horas as pós-larvas eram transferidas com água, através da inclinação da bacia interna para outra bacia limpa, possibilitando desta forma que o material orgânico permanecesse aderido no fundo.

Tabela 1. Dietas ofertadas às pós-larvas de jundiá por um período de 28 dias de alimentação

INGREDIENTES (%)	Padrão*	15 CPS	15FJ	30CPS	30FJ
Levedura de cana	37	36,7	36,75	36,65	36,5
CPS	0	15	0	30	0
Farinha de peixe	0	0	15	0	30
Fígado de aves ¹	30	15	15	0	0
Gema de ovo cozido	20	20	20	20	20
FAD	8	8	8	8	8,3
Lecitina de soja	2	2	2	2	2
Vitaminas ²	2	2	2	2	2
Minerais ³	1	1	1	1	1
Taurina ⁴	0	0,3	0,25	0,35	0,2
Composição centesimal					
Massa Seca ⁵	87,31	91,94	92,7	90,17	92,73
Proteína Bruta ⁵	44,74	43,7	44,28	43,79	45,05
Energia Bruta ⁶	3993	3869	3955	3750	3923
EE (gordura) ⁵	19,45	17,93	19,48	16,92	18,55
Matéria Mineral ⁵	8,04	7,76	8,41	6,62	12
FDN ⁵	5,08	8,75	5,13	11,16	10,53
Composição Aminoacídica ⁷					
Aspargina	4,13	4,46	3,61	4,80	3,11
Glutamina	5,02	5,74	4,64	6,48	4,28
Serina	2,24	2,37	2,18	2,51	2,13
Glicina	1,82	1,80	1,72	1,78	1,62
Histidina	0,92	0,93	1,66	0,94	2,39
Taurina	0,05	0,33	0,42	0,35	0,49
Arginina	2,70	2,85	2,24	3,00	1,78
Treonina	2,03	1,97	1,95	1,92	1,88
Alanina	2,52	2,37	2,55	2,22	2,59
Prolina	1,70	1,77	1,92	1,84	2,15
Tirosina	1,43	1,54	1,41	1,65	1,38
Valina	2,54	2,44	2,35	2,35	2,17
Metionina	0,83	0,72	0,81	0,62	0,80
Cistina	0,55	0,58	0,47	0,61	0,40
Isoleucina	1,99	2,00	1,89	2,02	1,78
Leucina	3,33	3,27	3,07	3,22	2,82
Fenilalanina	1,91	2,01	1,82	2,12	1,74
Lisina	2,99	2,99	2,97	3,00	2,96

*Dieta adaptada de Coldebella et al. (2011).¹ % calculado em Massa Seca (MS), Fígado de aves *in natura* 25,9% MS. ²Trombetta et al. (2006). ³Fosfato bicálcico. ⁴Adaptada de Chatzifotis et al. (2008). ⁶Calculada. ⁵Analisada- Laboratório de Piscicultura – DZ/UFSM. ⁷Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP (Laboratório de Fontes Protéicas). Tratamentos: Padrão – fígado mais levedura; 15FJ e 30 FJ – substituição 15 e 30% do fígado de aves por farinha de peixe (ROSSATO et al., 2014), 15CPS e 30CPS substituição 15 e 30% do fígado de aves por concentrado proteico de soja. CPS: concentrado proteico de soja. FJ: farinha de peixe. FAD: farelo de arroz desengordurado. FDN: fibra em detergente neutro. Perfil de aminoácidos das dietas, analisados via HPLC.

A cada sete dias realizou-se biometria de 10 pós-larvas por unidade experimental para acompanhamento do crescimento e sobrevivência. Amostras foram pesadas em balança digital (0,001g) sem retorno. As medidas de comprimento total foram realizadas com o auxílio de quadro de papel milimetrado e/ou paquímetro digital. Todos os animais foram contados para a análise da sobrevivência.

Para a realização deste procedimento, os animais foram sedados com benzocaína (50mg L⁻¹) (AVMA, 2007), pesados e medidos para a obtenção dos seguintes dados: peso do peixe inteiro (g); Comprimento total: medidas da extremidade da cabeça até o final da nadadeira caudal (mm); Sobrevivência (todas as pós-larvas da unidade foram contadas); Fator de condição: $FC = (\text{Peso} \times 100) / (\text{Comprimento total}^3)$; Taxa de crescimento específico (%/dia): $TCE = (\ln(\text{peso final}) - \ln(\text{peso inicial})) / \text{dias} \times 100$; Ganho em peso diário (g): $GPD = (\text{peso final} - \text{peso inicial}) / \text{dias}$; Produto peso versus sobrevivência.

A avaliação do desenvolvimento muscular foi realizada a partir de amostras de 10 pós-larvas. Foram analisadas as amostras das pós-larvas alimentadas com as dietas (15FJ) e (30CPS) que apresentaram melhor e pior ganho em peso diário. Coletadas nos períodos inicial 108 Hpf, antes da primeira alimentação e a cada sete dias experimentais. As amostras foram fixadas em solução Bouin por 12 horas e posteriormente conservadas em álcool 70%.

Após as amostras foram cortadas em cortes seriados (4 µm) realizados transversalmente no início da nadadeira dorsal. Lâminas histológicas desta região anatômica foram confeccionadas e avaliadas em fotomicroscópio de luz (Zeiss, modelo Primo Star). Com as imagens obtidas foram medidas a área da musculatura paravertebral de cada indivíduo. O diâmetro das fibras e contagem das fibras musculares foram realizados com o auxílio de lupa (Zeiss-Axion vision 4.8). Como forma de normalização dos dados das medidas de cada imagem foi medida a área da coluna vertebral cujo valor foi o denominador da razão: área da musculatura/área da vértebra. Tal procedimento reduz o erro intrínseco da metodologia utilizada, haja vista que diferentes peixes de diferentes amostras serão cortados em diferentes porções da região anatômica escolhida.

A metodologia usada para obtenção do diâmetro e número de fibras foi adaptada de Carani et al. (2008), Onde com o auxílio do fotomicroscópio de luz (Zeiss, modelo Primo Star) foram demarcadas 5 áreas amostrais em cada lâmina histológica e realizada a contagem e medida das fibras.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. Inicialmente, os dados obtidos foram submetidos a teste de normalidade de Shapiro-Wilk, sendo considerados

de distribuição normal aqueles dados que apresentaram $P > 0,05$. Posteriormente foi realizada a análise ANOVA e teste de Tukey para as variáveis ($p < 0,05$).

2.3 Resultados e Discussão

Ao iniciar o experimento as pós-larvas apresentavam peso ($1,37 \text{ mg} \pm 0,21$) e comprimento ($5,00 \text{ mm} \pm 0,01$) semelhantes em todos os tratamentos. Aos sete dias, os animais do tratamento 15FJ já apresentavam maior peso ($7,54 \text{ mg}$), seguido dos tratamentos Padrão ($7,18 \text{ mg}$) e 15CPS ($7,17 \text{ mg}$) em relação ao 30CPS. A dieta Padrão foi baseada na dieta utilizada por Coldebella et al. (2011), onde os animais com 7 dias pesavam $2,97 \text{ mg}$ e aos 14 dias $12,54 \text{ mg}$. Neste experimento os animais alimentados com a dieta Padrão apresentaram peso superior aos sete dias ($7,18 \text{ mg}$) e inferior aos 14 dias ($11,57 \text{ mg}$). A sobrevivência geral (82%) também foi mais baixa aos 14 dias que o trabalho anteriormente citado (Tabela 2).

O peso aos 14 dias de alimentação das pós-larvas do tratamento 15FJ foi maior (18 mg), não diferindo dos tratamentos 15CPS ($13,81 \text{ mg}$) e 30FJ ($13,89 \text{ mg}$). O peso encontrado para o tratamento Padrão ($11,57 \text{ mg}$) foi semelhante ao encontrado por Coldebella et al. (2011), assim como o comprimento total foi maior que o encontrado por Salhi e Bessonart (2013) ($8,3 \text{ mm}$) em 12 dias de alimentação com dieta artificial. O menor crescimento foi apresentado pelo tratamento 30CPS ($5,84 \text{ mg}$). No entanto, superior ao encontrado por Borges Neto et al. (2013), utilizando dieta inerte comercial ($\pm 2 \text{ mg}$) em 15 dias de alimentação. O desempenho geral aos 14 dias (Tabela 2) foi menor para os animais alimentados com a dieta 30CPS em relação aos animais alimentados com as demais dietas.

Aos 21 dias (Tabela 2), as pós-larvas do tratamento 15FJ apresentaram maior peso ($121,62 \text{ mg}$), comprimento total (CT) ($22,7 \text{ mm}$), GPD ($5,72 \text{ mg/dia}$) e sobrevivência (89,99%) em relação aos animais alimentados com as dietas 30CPS e 30FJ. Hernández et al. (2012) em 20 dias de alimentação utilizando 15% de farelo de soja (FS) encontraram menor peso ($76,8 \text{ mg}$) e sobrevivência (53%). Quando incluíram aproximadamente 30%FS, obtiveram peso de $56,6 \text{ mg}$ e sobrevivência de 69,6%, valores superiores ao encontrado neste experimento com adição de 30%FS. Hernández et al. (2012) concluíram que o aumento da inclusão do farelo de soja em dietas para peixes reduz o crescimento e a sobrevivência dos mesmos.

Tabela 2. Parâmetros zootécnicos de pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas mistas

Variáveis	Padrão	15 CPS	15 FJ	30 CPS	30 FJ	P
7 dias						
Peso	7,18 ^{ab} ± 0,59	7,17 ^{ab} ± 0,80	7,54 ^a ± 0,69	5,78 ^c ± 0,24	6,50 ^{bc} ± 0,41	**
CT	6,92 ^a ± 0,42	6,95 ^a ± 0,63	7,32 ^a ± 0,44	5,89 ^b ± 0,49	6,75 ^a ± 0,42	*
GPD	0,82 ^{ab} ± 0,08	0,82 ^{ab} ± 0,11	0,87 ^a ± 0,09	0,62 ^c ± 0,03	0,72 ^{bc} ± 0,05	**
FC	2,19 ^b ± 0,35	2,18 ^b ± 0,42	2,91 ^a ± 0,38	1,95 ^b ± 0,70	2,13 ^b ± 0,34	*
TCE	23,32 ^{ab} ± 1,23	23,26 ^{ab} ± 1,56	24,01 ^a ± 1,31	20,25 ^c ± 0,59	21,90 ^{bc} ± 0,91	**
PxS	6,82 ^{ab} ± 0,6	6,77 ^{ab} ± 0,80	7,16 ^a ± 0,73	5,23 ^c ± 0,38	6,11 ^{bc} ± 0,39	**
SOB	95,05 ± 2,94	94,44 ± 2,72	94,92 ± 1,24	90,63 ± 4,67	94,07 ± 2,05	NS
14 dias						
Peso	11,57 ^b ± 1,39	13,81 ^{ab} ± 3,41	18,0 ^a ± 4,21	5,84 ^c ± 1,79	13,89 ^{ab} ± 3,61	**
CT	10,90 ^{ab} ± 0,40	11,52 ^a ± 0,78	12,48 ^a ± 0,68	8,51 ^b ± 0,88	12,98 ^a ± 4,18	*
GPD	0,73 ^b ± 0,09	0,88 ^{ab} ± 0,24	1,18 ^a ± 0,30	0,32 ^c ± 0,13	0,89 ^{ab} ± 0,26	**
FC	0,87 ± 0,04	0,88 ± 0,06	0,91 ± 0,07	0,93 ± 0,09	0,82 ± 0,09	NS
TCE	15,19 ^b ± 0,88	16,31 ^{ab} ± 1,79	18,23 ^a ± 1,62	10,07 ^c ± 2,16	10,07 ^{ab} ± 0,38	**
PxS	8,53 ^b ± 1,71	10,87 ^{ab} ± 2,83	14,87 ^a ± 3,68	2,46 ^c ± 0,93	8,89 ^b ± 2,63	**
SOB	73,79 ^a ± 8,50	78,77 ^a ± 4,15	82,59 ^a ± 2,52	42,28 ^c ± 7,92	64,03 ^b ± 4,89	**
21 dias						
Peso	80,92 ^{bc} ± 20,24	97,66 ^{ab} ± 19,74	121,62 ^a ± 10,14	10,16 ^d ± 8,83	66,10 ^c ± 27,78	**
CT	19,78 ^{bc} ± 1,36	21,45 ^{ab} ± 1,36	22,70 ^a ± 0,83	9,83 ^d ± 1,42	18,25 ^c ± 2,26	**
GPD	3,78 ^{bc} ± 0,96	4,58 ^{ab} ± 0,94	5,72 ^a ± 0,48	0,42 ^d ± 0,42	3,08 ^c ± 1,03	**
FC	1,02 ± 0,11	0,98 ± 0,09	1,04 ± 0,10	0,90 ± 0,38	1,06 ± 0,08	NS
TCE	19,26 ^a ± 1,44	20,24 ^a ± 0,91	21,34 ^a ± 0,40	8,31 ^b ± 3,53	18,26 ^a ± 1,47	**
PxS	55,72 ^b ± 15,14	75,88 ^b ± 19,55	109,44 ^a ± 9,54	4,73 ^d ± 2,56	34,20 ^c ± 8,22	**
SOB	68,86 ^b ± 8,28	76,68 ^{ab} ± 8,39	89,99 ^a ± 5,29	46,62 ^c ± 12,55	51,75 ^c ± 8,76	**
28 dias						
Peso	237,07 ^b ± 51,4	267,83 ^b ± 40,31	371,59 ^a ± 39,23	.	155,0 ^c ± 43,61	**
CT	28,31 ^b ± 1,85	30,62 ^b ± 2,02	34,35 ^a ± 2,03	.	23,27 ^c ± 2,72	**
FC	1,03 ^b ± 0,05	0,93 ^b ± 0,06	1,20 ^a ± 0,08	.	0,92 ^b ± 0,11	**
TCE	18,33 ^b ± 0,79	18,80 ^b ± 0,56	19,99 ^a ± 0,38	.	16,73 ^c ± 1,18	**
GPD	8,42 ^b ± 1,76	9,51 ^b ± 1,44	13,22 ^a ± 1,4	.	5,48 ^c ± 1,55	**
PxS	189,32 ^c ± 35,61	198,46 ^b ± 39,44	292,29 ^a ± 61,05	.	105,77 ^c ± 34,97	**
SOB	79,86 ± 9,29	74,10 ± 13,35	79,20 ± 17,88	.	68,24 ± 4,59	NS

Valores expressos como média ± erro-padrão da média. Médias com letras diferentes, na linha, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,01). **P<0,0001; *P<0,001; NS (p>0,05). Tratamentos: Padrão – fígado mais levedura (adaptada de COLDEBELLA et al., 2011); 15FJ e 30 FJ – substituição 15 e 30% do fígado por farinha de peixe (ROSSATO et al., 2014), 15CPS e 30CPS substituição 15 e 30% do fígado de aves por concentrado proteico de soja. Variáveis: Peso: peso; CT: comprimento total; FC: fator de condição; TCE: taxa de crescimento específico; GPD: ganho de peso diário; PxS: produto peso versus sobrevivência; SOB: sobrevivência.

Em estudo visando melhorar o balanceamento das dietas utilizadas em larvicultura, Fontinelli e Radünz Neto (2007), testaram a inclusão do concentrado proteico de soja em

substituição ao fígado bovino, com e sem adição de aminoácidos sintéticos, e seus resultados de crescimento não foram satisfatórios (peso aos 21 dias (76 mg) e sobrevivência (24%)).

Ao final dos 28 dias, as pós-larvas do tratamento 15FJ apresentaram maior peso (371,59 mg) e melhor desempenho em geral. As pós-larvas alimentadas com a dieta 30CPS não sobreviveram até o final do período experimental em decorrência da maior mortalidade que os demais tratamentos, casos de canibalismo e das diversas coletas realizadas para as análises experimentais.

O reduzido crescimento dos animais que consumiram a dieta 30CPS pode ter ocorrido devido às proporções entre alguns aminoácidos da dieta. Principalmente entre os níveis de metionina-cistina que estavam muito próximos. A relação metionina: cistina da dieta 15FJ foi de 58%. A relação metionina: cistina para o catfish (*Ictalurus punctatus*) é de 60% (HARDING, ALLEN e WILSON, 1977) e para tilápias é de 59,5% (BOMFIM et al., 2008). Para que ocorra a formação dos tecidos é necessário que haja perfeita interação entre os aminoácidos absorvidos da dieta (SAAVEDRA et al., 2009), sendo que esta relação pode ter contribuído com o desempenho observado para as pós-larvas alimentadas com a dieta 15FJ.

A dieta 15FJ apresentou maior percentual de taurina em relação às dietas padrão e com adição de CPS e bom balanceamento dos aminoácidos em geral. Por outro lado, a dieta 30FJ apresentou maior percentual de taurina, mas pior balanceamento de aminoácidos em geral. A taurina melhora o metabolismo lipídico, pois participa do metabolismo dos ácidos biliares (EL-SAYED, 2013). Também participa de diversos processos que atuam melhorando o metabolismo e aumentando a eficiência do crescimento e deposição muscular (DIVAKARAN, 2006). Somando-se ao fato de que a dieta 15FJ apresentou maior energia bruta e metade das fibras em comparação com a dieta 30CPS. A suplementação de taurina será necessária para reduzir ainda mais o uso de ingredientes tais como farinha de peixe (SALZE e DAVIS, 2015).

Os animais receberam alimento à vontade em função da ingestão do alimento fornecido. Os peixes da dieta 15FJ receberam 3,24; 3,28 e 3,80 gramas por dia, os da 15CPS receberam 2,48; 2,39 e 3,32 g/dia, e os da 30FJ receberam 2,49; 2,39 e 2,33 g/dia entre os 8-14, 15-21 e 22-28 dias de alimentação. O 30CPS foi o que menos consumiu e consequentemente o que menos recebeu alimento (1,88 g e 1,08 g) nas semanas 8-14, 15-21. Na primeira semana (0-7 dias) todos os animais das diferentes dietas receberam a mesma quantidade de alimento (aproximadamente um grama por dia).

A inclusão de 15% de concentrado proteico de soja (CPS) no presente estudo apresentou bons resultados de crescimento e sobrevivência, mas a inclusão de 30% de CPS

provocou reduzido crescimento, elevada mortalidade e canibalismo entre os animais. Os resultados obtidos demonstram a importância do balanceamento entre fontes de origem animal e vegetal na fase pós-larval para esta espécie.

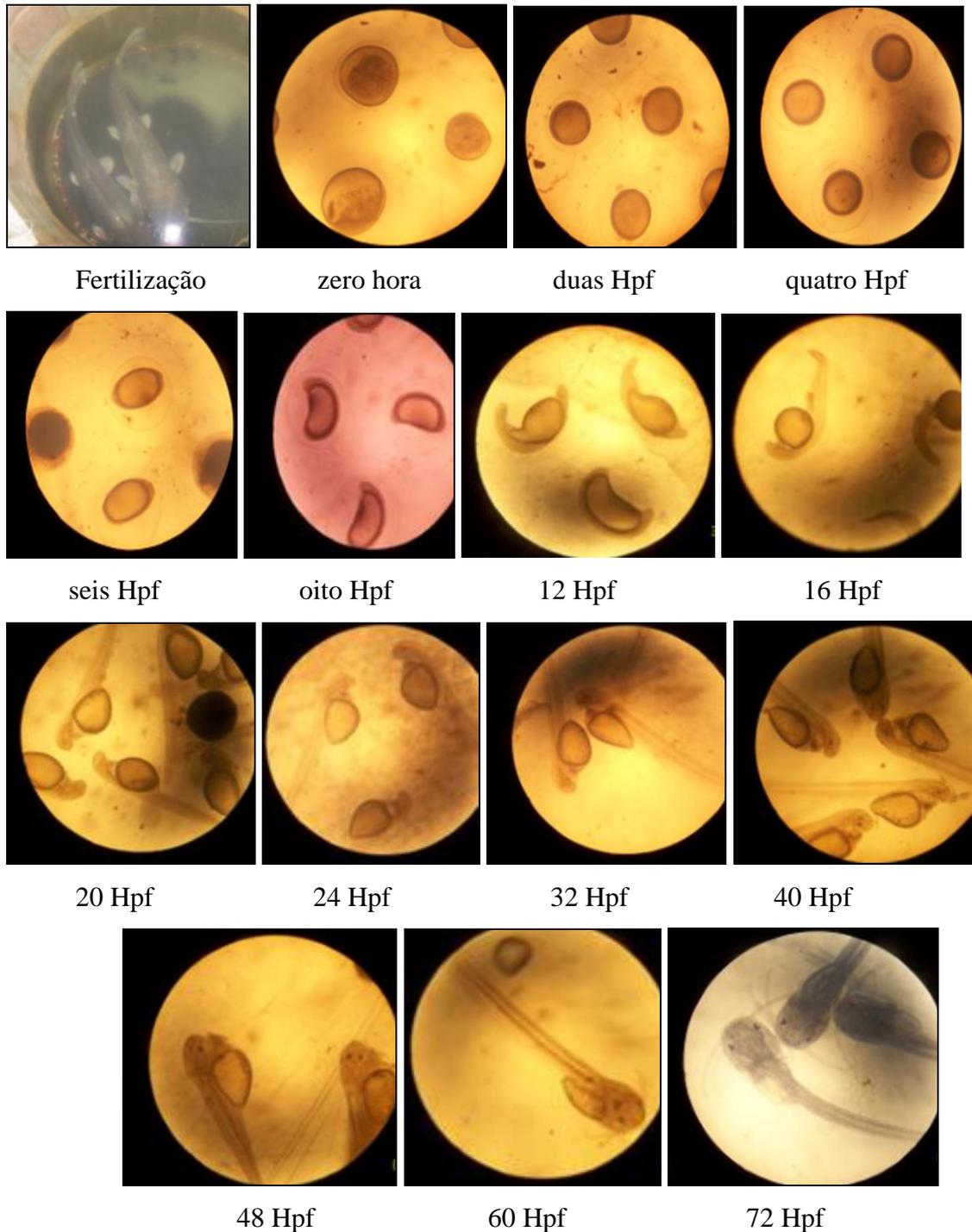


Figura 1. Desenvolvimento embrionário do Jundiá (*Rhamdia quelen*)
 Dados obtidos em experimento realizado em piscicultura da região de Santa Maria/RS, a temperatura média de 24,6°C. Hpf: horas após fertilização.

O desenvolvimento embrionário (Figura 1) foi acompanhado e a partir das 16 horas de incubação as larvas já apresentavam movimento. A temperatura média de incubação se manteve em 26,4°C e a taxa de oxigênio dissolvido na água de 6,55 mg L⁻¹. O início da eclosão se deu às 20 horas e às 24 horas após fertilização as larvas já estavam totalmente eclodidas. Em estudo realizado por Pereira et al. (2006) a eclosão ocorreu 30,5 horas após a fertilização, com temperatura mais baixa (24°C). O tempo de eclosão dos ovos de jundiás varia conforme a temperatura da água. Na temperatura de 16°C, a eclosão ocorre em torno de 3 dias e com 24°C a eclosão demora aproximadamente 24h.

A formação dos barbilhões e abertura da boca iniciou às 48 Hpf. As reservas vitelínicas já se apresentavam reduzidas às 60 horas. E às 72 Hpf, as larvas já estavam totalmente formadas e pigmentadas. Quando a temperatura de incubação é mais baixa (24°C) as larvas apresentam pigmentação, barbilhões formados e aparência de adulto às 123 Hpf (PEREIRA et al., 2006).

O início da alimentação se deu às 108 Hpf, onde foram ofertadas as dietas experimentais. Segundo Amorim et al. (2009) no quinto dia após a fertilização (120 horas – 24°C), as reservas vitelínicas estavam completamente absorvidas, o sistema digestório formado e a boca aberta, indicando a necessidade de fornecimento de alimento. A qualidade do embrião é altamente dependente do perfil de AA do vitelo, que é afetado pelo aporte materno de nutrientes durante a oôgenese (PORTELLA et al., 2012). O fornecimento de aminoácidos para alguns sistemas como a camada sincicial do vitelo, a circulação vitelínica e o fígado tem papel essencial durante o crescimento inicial dos peixes (DABROWSKI et al., 2010).

A utilização de dietas balanceadas faz com que o crescimento em geral ou o desenvolvimento da musculatura ocorra de forma mais rápida e eficaz. O aumento das fibras musculares nos peixes inicialmente ocorreu por hiperplasia (Figura 2) ao iniciar a alimentação pode-se observar a existência de um emaranhado de fibras menores. Posteriormente e com influência da alimentação o tamanho das fibras aumentou (hipertrofia), contudo ainda há fibras menores, caracterizando o crescimento da musculatura dos peixes, onde hiperplasia e hipertrofia são uma constante durante toda sua vida (JOHNSTON et al., 2011).

Na hiperplasia, a fusão entre células satélites ativadas resulta na formação de novos miotubos na superfície das fibras existentes, com posterior diferenciação em novas fibras musculares. Na hipertrofia, as células satélites ativadas fundem-se com fibras musculares existentes, aumentando o número de núcleos para maior síntese de miofibrilas, levando ao aumento na área da fibra muscular (KOUMANS e AKSTER, 1995; JOHNSTON, 1999;

ROWLERSON e VEGGETTI, 2001). Segundo Carani et al. (2013), os processos de hipertrofia e/ou hiperplasia são regulados por várias moléculas sinalizadoras, entre as quais pela expressão dos fatores reguladores miogênicos e da miostatina.

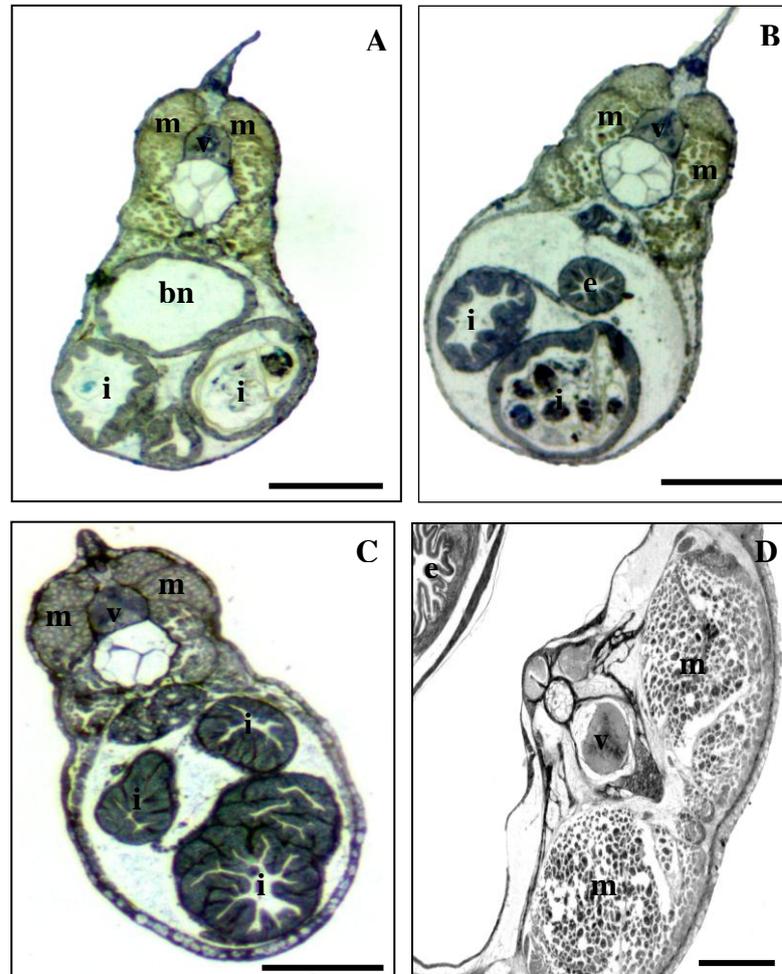


Figura 2. Exemplos de pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas mistas
 Dietas 30CPS (A, C) e 15FJ (B, D) tempos (7 e 21 dias de alimentação) em cortes histológicos transversais na altura da nadadeira dorsal. (bn) bexiga natatória, (e) estômago, (i) intestino, (m) músculo, (v) vértebra. Escala 1 mm.

Também foi observado ao iniciar a alimentação maior quantidade de fibras/mm² com menor diâmetro, o que caracteriza o crescimento predominantemente hiperplásico. Posteriormente o número de fibras diminuiu caracterizando crescimento hipertrófico (Tabela 3). Segundo Dal Pai et al. (2000) a hiperplasia é mais acentuada nas fases larval e de alevino, posteriormente predomina o crescimento hipertrófico das fibras.

O diâmetro das fibras foi maior para os peixes alimentados com a dieta 15FJ. Inicialmente encontramos diâmetros das fibras de 28 μm e ao final do período analisado diâmetros de 99,09 μm e 78 μm para os animais alimentados com as dietas 15FJ e 30CPS, respectivamente (Tabela 3). Para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), Dal Pai-Silva et al. (2003) encontraram 15,35 μm de diâmetro em exemplares de 0,04 gramas e 44,03 μm em exemplares de 414 gramas.

Tabela 3. Desenvolvimento muscular de pós-larvas alimentadas com dietas mistas

Dias/dietas	30CPS	15FJ	P
Diâmetro da fibra (μm)			
0	28,02 \pm 9,35	-	-
7	31,65 ^b \pm 9,35	51,78 ^a \pm 6,62	<0,0001
14	52,94 ^b \pm 9,01	66,63 ^a \pm 11,62	0,008
21	78,01 ^b \pm 12,74	99,09 ^a \pm 19,81	0,011
Número de fibras/mm ²			
0	0,040 \pm 0,015	-	-
7	0,037 ^a \pm 0,004	0,022 ^b \pm 0,006	<0,0001
14	0,036 ^a \pm 0,010	0,016 ^b \pm 0,007	0,0001
21	0,032 ^a \pm 0,005	0,017 ^b \pm 0,008	0,0002
Número total de fibras			
0	12013 \pm 3569	-	-
7	14885 \pm 1039	15544 \pm 2544	0,45
14	27096 ^b \pm 6910	158259 ^a \pm 191738	0,04
21	27701 ^b \pm 10638	341795 ^a \pm 328476	0,007

Valores expressos como média \pm erro-padrão da média. Médias com letras diferentes representam diferença estatística pelo teste de Tukey (P<0,01). Tratamentos: 15FJ - substituição 15% do fígado de aves por farinha de peixe (ROSSATO et al., 2014), e 30CPS - substituição 30% do fígado de aves por concentrado proteico de soja na dieta Padrão (adaptada de COLDEBELLA et al., 2011).

Em estudo com alevinos de pirarucu (*Arapaima gigas*), Carani et al. (2008) descrevem que ao haver maioria para as fibras com diâmetro inferior a 30 μm , possivelmente ocorreria maior aumento da massa muscular. Quando os juvenis apresentaram a maior parte das fibras com diâmetro acima de 30 μm , possivelmente está relacionado à fusão dos mioblastos a fibras pré-existentes e à intensa atividade de síntese proteica (CARANI et al., 2008).

Os resultados encontrados neste estudo vão de encontro ao estudo realizado por Dal Pai-Silva et al. (2005), onde concluíram que o diâmetro das fibras musculares pode variar de 10 a 100 μm . Em estudo com exemplares de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), Leitão et al. (2011) encontraram aos 35 dias após o eclosão alta frequência de fibras $\geq 40 \mu\text{m}$ em larvas. Segundo Assis et al. (2004) a hipertrofia muscular ocorre desde a incubação sendo mais evidente do quinto ao 25º dia. Também em estudo realizado com alevinos e juvenis de pirarucu (*Arapaima gigas*), foi observada a presença de fibras musculares de tamanho menor nos alevinos em comparação as fibras dos juvenis e concluíram que o crescimento muscular predominante em alevinos é o hiperplásico e crescimento muscular hipertrófico é predominante nos juvenis (CARANI et al., 2008).

Os animais que consumiram a dieta 15FJ apresentaram maior área muscular (Figura 2 D) e conseqüentemente maior número total de fibras em relação aos que consumiram a dieta 30CPS. Onde pôde-se observar fibras menores entremeadas as fibras maiores, caracterizando um mosaico de fibras (WEATHERLEY e GILL, 1981). Este padrão de distribuição das fibras é característico da maioria das espécies de peixes, indicando a ocorrência de crescimento muscular por hiperplasia e hipertrofia concomitantemente (DAL PAI-SILVA et al., 2003; CARANI et al., 2008). Segundo Assis et al. (2004) o aumento da massa muscular ocorre a partir do recrutamento de novas fibras musculares na zona de proliferação celular. Mas a contribuição da hipertrofia e da hiperplasia no crescimento do tecido muscular pode variar de acordo com a espécie e a fase de crescimento estudada (JOHNSTON, 1993).

O maior tamanho e área muscular observada (Figura 2D) para os animais que consumiram a dieta 15FJ pode ter ocorrido devido ao melhor balanceamento em aminoácidos desta dieta, maior qualidade nutricional e digestibilidade da farinha de peixes em relação ao concentrado proteico de soja. O reduzido crescimento e multiplicação das fibras musculares para os animais que consumiram a dieta 30CPS pode ter sido influenciados pelos antinutrientes (LARSEN; DALSGAARD; PEDERSEN, 2012) presentes em pequenas quantidades no concentrado proteico de soja, mas que podem ter inibido o desenvolvimento.

Esses resultados mostram a importância da qualidade nutricional da dieta para pós-larvas desta espécie, reflexos da combinação de fontes proteicas de qualidade.

2.4 Conclusão

Os ingredientes utilizados na dieta mista 15FJ proporcionou a melhor combinação de nutrientes para o desempenho e desenvolvimento muscular das pós-larvas de jundiá ao final do período experimental.

2.5 Agradecimentos

À Universidade Federal de Santa Maria pelas instalações e equipamentos disponibilizados para a realização dos experimentos. À CAPES pelo período de bolsa. À ICC pela doação da levedura de cana. À piscicultura Bela Vista pela doação das pós-larvas. À FAPERGS pela concessão da bolsa de iniciação científica. Ao IFSC (professor Eduardo Cargnin Ferreira) pelas análises histológicas. À FAPERGS – Processo 11.1175/1 pelo apoio financeiro.

2.6 Referências Bibliográficas

ALAMI-DURANTE, H.; ROUEL, M.; KENTOURI, M. New insights into temperature-induced white muscle growth plasticity during *Dicentrarchus labrax* early life: a developmental and allometric study. **Marine Biology**, v.149, p.1551-1565, 2006.

AMORIM, M.P.; GOMES, B.V.C.; MARTINS, Y.S.; SATO, Y.; RIZZO, E.; BAZZOLI, N. Early development of the silver catfish *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) (Pisces: Heptapteridae) from the São Francisco river basin, Brazil. **Aquaculture Research**, v.40, p.172-180, 2009.

ASSIS, J.M.; CARVALHO, R.F.; BARBOSA, L.; AGOSTINHO, C.A.; DAL PAI-SILVA, M. Effects of incubation temperature on muscle morphology and growth in the pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Aquaculture**, v.237, p.251-267, 2004.

American Veterinary Medical Association (AVMA). **Guidelines on Euthanasia** (Formerly Report of the AVMA Panel on Euthanasia) American Veterinary Medical Association (AVMA), United States of America, 2007.

BOMFIM, M.A.D.; LANNA, E.A.T.; DONZELE, J.L.; QUADROS, M.; RIBEIRO, F.B.; ARAÚJO, W.A.G.D. Exigência de treonina, com base no conceito de proteína ideal, de alevinos de tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.2077-2084, 2008.

BORGES NETO, P.G.; DUTRA, F.M.; BALLESTER, E.L.C.; PORTZ, L. Crescimento e sobrevivência de larvas do jundiá, *Rhamdia quelen*, alimentadas com alimento vivo enriquecido e dieta artificial. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.20, p.216-221, 2013.

CARANI, F.R.; AGUIAR, D.H.; ALMEIDA, F.L.A.; GONÇALVES, H.S.; PADOVANI, C.R.; DAL PAI SILVA, M. Morfologia e crescimento do músculo estriado esquelético no pirarucu *Arapaima gigas* Cuvier, 1817 (Teleostei, Arapaimidae). **Acta Scientiarum-Biological Sciences**, v.30, p.205-211, 2008.

CARANI, F.R.; DURAN, B.O.S.; PAULA, T.G.; PIEDADE, W.P.; DAL-PAI, M. Morphology and expression of genes related to skeletal muscle growth in juveniles of pirarucu (*Arapaima gigas*, Arapaimatidae, Teleostei). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.35, p.219-226, 2013.

CARDOSO, A.P.; RADÜNZ NETO, J.; MEDEIROS, T.S.; KNÖPKER, M.A.; LAZZARI, R. Criação de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentadas com rações granuladas contendo fígados ou hidrolisados. **Acta Scientiarum-Animal Sciences**, v.26, p.457-462, 2004.

CHATZIFOTIS, S.; POLEMITOU, I.; DIVANACH, P.; ANTONOPOULOU, E. Effect of dietary taurine supplementation on growth performance and bile salt activated lipase activity of common dentex, *Dentex dentex*, fed a fish meal/soy protein concentrate-based diet. **Aquaculture**, v.275, p.201-208, 2008.

COLDEBELLA, I.J.; RADÜNZ NETO, J.; MALLMANN, C.A.; VEIVERBERG, C.A.; BERGAMIN, G.T.; PEDRON, F.A.; FERREIRA, D.; BARCELLOS, L.J.G. The effects of different protein levels in the diet on reproductive indexes of *Rhamdia quelen* females. **Aquaculture**, v.312, p.137-144, 2011.

DABROWSKI, K. The feeding of fish larvae: present "state of the art" and perspectives. **Reproduction Nutrition and Development**, v.24, p.807-833, 1984.

DABROWSKI, K.; ZHANG, Y.; KWASEK, K.; HLIWA, P.; OSTASZEWSKA, T. Effects of protein, peptide and free amino acid-based diets in fish nutrition. **Aquaculture Research**, v.41, p.668-683, 2010.

DAL PAI, V.; DAL PAI-SILVA, M.; CARVALHO, E.D.; FUJIHARA, C.Y.; GREGÓRIO, E.A.; CURI, P.R. Morphological, histochemical and morphometric study of the myotomal muscle tissue of the Pacu *Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887: Serrasalminae, Characidae, Teleostei). **Anatomia, Histologia, Embryologia**, v.29, p.283-289, 2000.

DAL PAI-SILVA, M.; CARVALHO, R.F.; PELLIZZON, C.H.; DAL PAI, V. Muscle growth in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): histochemical, ultrastructural and morphometric study. **Tissue and Cell**, v.35, p.179-187, 2003.

DAL PAI-SILVA, M.; DAL PAI, V.; CARVALHO, R.F. **Célula muscular estriada esquelética. Células: uma abordagem multidisciplinar**. Editora Manole: São Paulo, p.83-94, 2005.

DIVAKARAN, S. **Taurine: an amino acid rich in fish meal**. Avances en nutrición acuícola VIII. In: VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 15-17 Nov. Univesidad Autónoma de Nuevo León. México, 2006. p.310-317.

EL-SAYED, A-F.M. Is dietary taurine supplementation beneficial for farmed fish and shrimp? a comprehensive review. **Reviews in Aquaculture**, v.5, p.1-15, 2013.

FONTINELLI, E.; RADÜNZ NETO, J. Efeito do concentrado proteico de soja em rações, com e sem suplementação em aminoácidos, para pós-larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Revista Brasileira de Agrociência**, v.13, p.225-229, 2007.

HARDING, D.E.; ALLEN JR, O.W.; WILSON, R.P. Sulfur amino acid requirement of channel catfish: L-methionine and L-cystine. **The Journal of Nutrition**, v.107, p.2031-2035, 1977.

HERNÁNDEZ, D.R.; SANTINÓN, J.J.; SÁNCHEZ, S.; DOMITROVIC, H.A. Dietary soybean meal on growth and intestinal morphology of south american catfish, *Rhamdia quelen*, larvae. **Ciência Rural**, v.42, p.1662-1668, 2012.

JOHNSTON, I.A. Temperature influences muscle differentiation and the relative timing of organogenesis in herring (*Clupea harengus*) larvae. **Marine Biology**, v.116, p.363-379, 1993.

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

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

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

LARSEN, B.K.; DALSGAARD, J.; PEDERSEN, P.B. Effects of plant proteins on postprandial, free plasma amino acid concentrations in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.326-329, p.90-98, 2012.

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

MICHELIN, A.C.; JUSTULIN, L.A.; DELELLA, F.K.; PADOVANI, C.R.; FELISBINO, S.L.; DAL-PAI-SILVA, M. Differential mmp-2 and mmp-9 activity and collagen distribution in skeletal muscle from pacu (*Piaractus mesopotamicus*) during juvenile and adult growth phases. **The Anatomical Record**, v.292, p.387-395, 2009.

PEREIRA, C.R.; BARCELLOS, L.J.G.; KREUTZ, L.C.; QUEVEDO, R.M.; RITTER, F.; SILVA, L.B. Embryonic and larval development of jundiá (*Rhamdia quelen*, Quoy & Gaimard, 1824, Pisces, Teleostei), a south american catfish. **Brazilian Journal of Biology**, v.66, p.1057-1063, 2006.

PIAIA, R.; RADÜNZ NETO, J. Efeito de níveis crescentes de levedura de álcool em rações contendo fígado bovino sobre a performance de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência Rural**, v.27, p.313-317, 1997b.

PORTELLA, M.C.; LEITÃO, N.J.; TAKATA, R.; LOPES, T.S. Alimentação e nutrição de larvas. In: **NUTRIAQUA: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**, 2012. cap.9, p.185- 216.

RADÜNZ NETO, J.; MELO, J.F.B.; TROMBETTA, C.G.; MEDEIROS, T.S. Substituição parcial de levedura de cana por farelo de soja na alimentação de larvas de piavuçu *Leporinus macrocephalus*. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v.7, p.127-134, 2001.

RADÜNZ NETO, J. Manejo alimentar – Nutrição. In: BALDISSEROTTO, B.; RADÜNZ NETO, J. **Criação de Jundiá**. Santa Maria: Ed.UFSM, 2004, cap.8, p.143-157.

ROSSATO, S.; LAZZARI, R.; FREITAS I.L.; MASCHIO, D.; CORRÊIA, V.; RADÜNZ NETO, J. Diferentes níveis de incorporação de farinha de resíduos de jundiás (*Rhamdia quelen*) cultivados na dieta. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, p.894-902, 2014.

ROWLERSON, A.; VEGGETTI, A. Cellular mechanisms of post-embryonic muscle growth in aquaculture species, in: Johnston, I.A. (Ed.), **Muscle Development and Growth**. Academic Press, London, 2001. cap.5, p.103-140.

SAAVEDRA, M.; BARR, Y.; POUÇÃO-FERREIRA, P.; HELLAND, S.; YÚFERA, M.; DINIS, M.T.; CONCEIÇÃO, L.E.C. Supplementation of tryptophan and lysine in *Diplodus sargus* larval diet: effects on growth and skeletal deformities. **Aquaculture Research**, v.40, p.1191-1201, 2009.

SALHI, M.; BESSONART, M. Growth, survival and fatty acid composition of *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard, 1824) larvae fed on artificial diet alone or in combination with *Artemia nauplii*. **Aquaculture Research**, v.44, p.41-49, 2013.

SALZE, G.P.; DAVIS, D.A. Taurine: A critical nutrient for future fish feeds. **Aquaculture**, v.437, p.215-229, 2015.

TROMBETTA, C.G.; RADÜNZ NETO, J.; LAZZARI, R. Suplementação vitamínica no desenvolvimento de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência e Agrotecnologia**, v.30, p.224-229, 2006.

TRONCO, A.P.; RADÜNZ NETO, J.; MEDEIROS, T.S.; LIMA, R.L. Alimentação de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) com dietas semipurificadas e fontes lipídicas. **Boletim Instituto de Pesca**, v.33, p.9-17, 2007.

ULIANA, O.; SILVA, J.H.S.; RADÜNZ NETO, J. Diferentes fontes de lipídios testadas na criação de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*), Pisces, Pimelodidae. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, p.129-133, 2001.

WEATHERLEY, A.H.; GILL, H.S. Characteristics of mosaic muscle growth in rainbow trout *Salmo gairdneri*. **Experientia**, v.37, p.1102-1103, 1981.

CAPITULO III

ENZIMAS DIGESTIVAS NA LARVICULTURA DO JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*)¹

Resumo: O desenvolvimento das enzimas digestivas e análise do tubo digestório e da capacidade de digestão podem ser utilizados como indicador do estado nutricional das larvas e pós-larvas de peixes. As enzimas digestivas agem de acordo com a composição da dieta e com o hábito alimentar de cada espécie. A combinação de fontes proteicas de origem animal e vegetal pode proporcionar todos os nutrientes necessários para o desenvolvimento adequado das pós-larvas de jundiá. Sendo assim, este trabalho tem como objetivo estudar o desenvolvimento do sistema digestório, início da atividade das enzimas digestivas em larvas e influência da dieta granulada fornecida, na atividade enzimática de pós-larvas de jundiás alimentadas com dietas compostas por fontes proteicas de origem animal e vegetal. Foram testadas cinco dietas granuladas: Padrão, 15CPS; 30CPS; 15FJ e 30FJ. A análise enzimática foi analisada a partir de 32 Horas após fertilização (Hpf) e do sistema digestório, ao iniciar a alimentação, até 28 dias de alimentação. As enzimas analisadas foram: protease ácida, tripsina, quimotripsina, lipase, amilase e maltase. As enzimas já estavam ativas às 32 Hpf, após início da alimentação a atividade enzimática variou bastante, com picos para as pós-larvas alimentadas com a dieta 15CPS. O desenvolvimento do sistema digestório não sofreu prejuízos a partir das diferentes dietas ofertadas. A atividade enzimática já está presente nas larvas ao iniciar a alimentação e a atividade enzimática não apresentou alterações para as diferentes dietas ofertadas, apenas houve redução do desenvolvimento das pós-larvas que consumiram a dieta 30CPS.

Palavras-chave: Concentrado proteico de soja. Farinha de peixe. Sistema digestório.

¹Os procedimentos experimentais deste trabalho foram aprovados no comitê de ética no uso dos animais - UFSM, parecer nº062/2013.

3.1 Introdução

A atividade enzimática na larvicultura de peixes e seus mecanismos iniciais de digestão estão sendo particularmente estudados durante as últimas décadas (BABAEI et al., 2011). As primeiras glândulas gástricas podem ser detectadas alguns dias ou semanas após a eclosão e seu número aumenta progressivamente cobrindo o epitélio do estômago (ZAMBONINO INFANTE et al., 2008).

O desenvolvimento das enzimas digestivas tem sido descritas para espécies de peixes marinhos e água doce (ZAMBONINO INFANTE et al., 2008), incluindo o desenvolvimento do tubo digestório e da capacidade digestiva, que pode ser utilizado como indicador do estado nutricional nesta fase (YÚFERA e DARIAS, 2007). Também proporciona informações relevantes na determinação do momento adequado para o fornecimento do primeiro alimento (ZAMBONINO INFANTE e CAHU, 2007). Durante as fases iniciais ocorrem intensas alterações morfológicas e os estudos histológicos fornecem importantes informações para melhorar o entendimento dos processos digestórios das larvas de peixes (YANG et al., 2010).

Larvas de peixes sofrem grandes alterações morfológicas, anatômicas e funcionais durante o desenvolvimento e o trato digestório é muito imaturo na eclosão. O estômago em algumas espécies não é diferenciado durante os primeiros dias de vida. Sendo que o desenvolvimento destes órgãos e das glândulas gástricas aparecem em idades diferentes para as diversas espécies de peixes (ZAMBONINO INFANTE e CAHU, 2007). No jundiá, o trato digestório está formado 48 horas após eclosão à temperatura de 24°C (SILVA, 2004). Às 16 h após eclosão, a diferenciação do trato digestório já está completa, apresentando cavidade orofaríngea, esôfago, fígado, pâncreas, estômago e intestino (SILVEIRA et al., 2013).

O jundiá é uma espécie onívora que aceita dietas granuladas desde as primeiras alimentações (PIAIA e RADÜNZ NETO, 1997b), mas a eficiência na utilização dos alimentos depende da capacidade fisiológica em digerir e transformar os nutrientes ingeridos (FURNE et al., 2008). A nutrição de pós-larvas de jundiá foi estudada por vários autores (PIAIA e RADÜNZ NETO, 1997ab; ULIANA et al., 2001; CARDOSO et al., 2004; TROMBETTA et al., 2006; FONTINELLI e RADÜNZ NETO, 2007; COLDEBELLA et al., 2011), no entanto há carência de informações sobre o desenvolvimento do sistema digestório e atuação das enzimas sobre as diversas matérias primas que podem ser utilizadas na composição da dieta inicial. Estas, mesmo sendo de qualidade, não são eficientemente utilizadas devido à atuação de princípios antinutricionais, que dificultam a atividade das

enzimas digestivas e prejudicam a fisiologia gastrointestinal e o crescimento (DREW et al., 2007). No entanto, estas matérias primas combinadas podem compor dietas nutricionalmente completas.

A inclusão de derivados de soja na alimentação de pós-larvas de jundiá foi testada inicialmente por Piaia e Radünz Neto (1997b). Posteriormente, Fontinelli e Radünz Neto (2007) incluíram o concentrado proteico de soja (CPS) em substituição ao fígado bovino, encontrando efeito inibitório crescente do desenvolvimento conforme aumento da inclusão do CPS. A farinha de peixe confeccionada a partir de resíduos e descartes de jundiá (FJ) foi testada na alimentação de juvenis de jundiás com bons resultados de crescimento, sendo considerada alternativa na alimentação inicial de espécies nativas (ROSSATO et al., 2014).

As enzimas digestivas agem de acordo com a composição da dieta e com o hábito alimentar de cada espécie de peixe. Inicialmente as enzimas que atuam na digestão da proteína luminal (tripsina, quimotripsina), lipídios (lipases) e carboidratos (amilases e maltases) estão presentes nas larvas antes mesmo da primeira alimentação exógena (LAZO et al., 2011). Sendo assim, a identificação das enzimas digestórias e análise de suas atividades proporcionam informações valiosas sobre o estado nutricional das larvas e pós-larvas de peixes (SILVEIRA et al., 2013).

Sendo assim, com este trabalho objetivou-se estudar o desenvolvimento do sistema digestório, início da atividade das enzimas digestivas em larvas e influência da dieta granulada fornecida, na atividade enzimática de pós-larvas de jundiás alimentadas com dietas compostas por fontes proteicas de origem animal (FJ) e vegetal (CPS).

3.2 Material e métodos

A análise da atividade enzimática foi realizada no Laboratório de Piscicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria. Os ovos fertilizados (embriões) foram obtidos por reprodução induzida de um casal de jundiás provenientes de uma piscicultura da região de Santa Maria/RS. Às 32 horas após fertilização (Hpf), os embriões já apresentavam movimento (larvas completamente formadas), neste momento foi realizada a primeira coleta para análise enzimática. Foram coletadas cinco amostras em cada período: 32, 40, 48, 60, 72, 84 e 96 Hpf.

Às 108 Hpf as larvas começaram a se alimentar, neste momento, consideradas pós-larvas. A partir desta fase, os animais foram alimentados por 28 dias, alojados em sistema de recirculação composto de 35 unidades experimentais. Cada unidade foi composta de dois recipientes plásticos dotados de tela lateral para impedir a saída das pós-larvas. Com abastecimento e escoamento individuais, conectados em sistema de recirculação de água termorregulado e filtro biológico. A vazão utilizada em cada recipiente foi de 0,20 L/min na primeira semana (TRONCO et al., 2007), sendo aumentada gradativamente durante o período experimental. Foram utilizadas 240 pós-larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) por unidade experimental (45 animais por litro).

As dietas granuladas testadas foram: Padrão, 15CPS; 30CPS; 15FJ e 30FJ. A dieta Padrão constituía-se por fígado de aves *in natura* (25,9% de MS), levedura de cana (37%), gema de ovo cozido (20%), lecitina de soja (2%), farelo de arroz desengordurado (8%), minerais (1%) e vitaminas (2%) (adaptada de COLDEBELLA et al., 2011). Nas demais dietas, o fígado de aves foi parcialmente substituído (15%) ou totalmente (30%) por concentrado proteico de soja (CPS) ou farinha de peixe (jundiá) (FJ) (ROSSATO et al., 2014).

As dietas foram elaboradas, primeiramente misturando os ingredientes secos (granulometria inferior a 75 µm) (TROMBETTA et al., 2006) e posteriormente estes foram homogeneizados com a adição de fígado e/ou água (quando necessário) até a mistura apresentar umidade suficiente para a peletização em moedor de carne. Posteriormente foi seca a 40°C por 24 horas em estufa com renovação de ar. Após secas, as rações foram moídas e peneiradas, separando-se em porções compostas por partículas de 100-200 µm, 200-400 µm, 400-600 µm, 600-800 µm obtendo-se assim a granulometria adequada para a abertura da boca das pós-larvas. As dietas foram mantidas em refrigerador a 4°C e retiradas somente no momento da alimentação.

Os animais foram alimentados a cada 2 horas (h), entre 08 h e 20 h, em quantidades que excediam a sua capacidade de ingestão (RADÜNZ NETO, 2004). Foram testados cinco tratamentos com sete repetições. Após o início da alimentação foram coletadas cinco pós-larvas por unidade experimental, totalizando 35 exemplares por tratamento nos períodos – 108, 120, 144, 168, 192, 216, 240, 264 e 312 Hpf. Posteriormente foram coletadas duas pós-larvas por unidade experimental (10 pós-larvas por tratamento) às 360, 408, 456, 528, 600, 696 e 780 Hpf para a análise enzimática. As amostras foram coletadas pela manhã antes da alimentação. Os animais foram abatidos por hipotermia para que não houvesse influência de anestésicos na amostra. Cada unidade experimental consistia em uma repetição, ou seja, as

pós-larvas coletadas eram homogeneizadas conjuntamente formando a amostra a ser analisada em quadruplicata.

As amostras foram homogeneizadas com solução tampão pH 7,0 na proporção de 0,1 mg de tecido para cada 1 mL de solução. Posteriormente centrifugados a 3500 RPM por 10 minutos. Os sobrenadantes foram usados como fonte enzimática para determinação da atividade da proteína corporal total (BRADFORD, 1976), protease ácida (HIDALGO et al., 1999), tripsina e quimotripsina (HUMMEL, 1959), lipase (ALBRO et al., 1985), amilase (BERNFELD, 1955) e maltase (CORRÊA et al., 2007).

O perfil lipídico (Tabela 1) das dietas foi analisado por Cromatografia Gasosa, onde alíquotas (2 mL) do extrato lipídico de clorofórmio de Bligh e Dyer (1959) foram evaporados a 50°C, utilizando bomba de vácuo. Seguida por saponificação em solução de KOH metanólico e esterificação em solução de H₂SO₄ metanólico (HARTMAN e LAGO, 1973). Os ácidos graxos metilados foram analisados usando cromatógrafo gasoso Agilent Technologies (HP 6890) equipado com coluna capilar SP™ -2560 (sílica fundida, 100 mx 0,25 mm x 0,20 µm espessura de filme) e detector de ionização de chama. A temperatura da porta do injetor foi de 250°C e o gás transportador era nitrogênio (1,5 mL/min). Após injeção (1 µL, relação de separação de 50:1), a temperatura do forno foi aumentada de 90°C a 170°C por 6°C / min, depois aumentada em 3°C / min até 185°C e mantida a esta temperatura durante 6 minutos. Posteriormente aumentada até 240°C a 3°C / min e mantida esta temperatura durante 8 minutos. A duração total da análise foi de 55 min. Ésteres metílicos de ácidos graxos padrão (Sigma, St. Louis, EUA) foram usados para identificar os ácidos graxos submetidos às mesmas condições e tempos de retenção. Os resultados foram expressos como percentagem da área total dos ácidos graxos identificados.

A análise do desenvolvimento do sistema digestório foi realizada através de amostras de cinco pós-larvas por tratamento em cada período, coletadas ao iniciar a alimentação (108 Hpf), às 144; 192; 240; 312; 408; 528; 696 e 780 Hpf. Analisadas as amostras dos tratamentos que apresentaram o maior (15FJ) e o menor (30CPS) peso aos 21 dias. Quando pelo reduzido número de animais devido a casos de canibalismo e coletas para análise enzimática, as unidades experimentais dos animais que consumiram a dieta 30CPS não apresentavam número suficiente de animais, então este tratamento foi encerrado.

As amostras foram fixadas em solução Bouin por 12 horas e posteriormente conservadas em álcool 70% até a realização das análises. Posteriormente foram desidratadas em etanol, diafanizadas em xilol e embebidas em parafina, conforme metodologia descrita por

Cargnin-Ferreira e Sarasquete (2008). Então, secções histológicas foram cortadas com espessura de 4 µm em micrótono rotativo e coradas com hematoxilina-eosina.

Lâminas histológicas das pós-larvas coletadas foram realizadas através de cortes seriados do material com a finalidade de analisar o desenvolvimento ontogenético de todos os órgãos que compõem o sistema digestório (estômago, intestino, pâncreas e fígado). Foram avaliadas em fotomicroscópio de luz (Zeiss, modelo Primo Star). Todas as pós-larvas coletadas para análise foram eutanasiadas por “overdose” de benzocaína (AVMA, 2007).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. Inicialmente, todos os dados obtidos foram submetidos a teste de normalidade de Shapiro-Wilk, sendo considerados de distribuição normal aqueles dados que apresentaram $P > 0,05$. Posteriormente foi realizada ANOVA e teste de comparação de médias para os diferentes componentes. O nível mínimo de significância adotado na análise estatística foi de 5% ($p < 0,05$).

3.3 Resultados e discussão

Neste estudo podemos inferir que a inclusão de 30% de CPS em dietas para pós-larvas de jundiás inibe o desenvolvimento dos animais (Figura 1). A inclusão de 15% de CPS na dieta proporcionou bons resultados de crescimento. O valor nutricional da soja é limitado pela presença de diversos fatores antinutricionais como os inibidores das proteases tripsina e quimotripsina, hemaglutininas (lectinas), os compostos fenólicos (taninos), que afetam a digestão e fisiologia dos animais (STECH et al., 2010). Mas a soja, sob a forma de concentrado proteico apresenta menor quantidade destes fatores, por isso é o mais recomendado para larvicultura de peixes. Estes fatores antinutricionais, mesmo em pequenas quantidades podem ter contribuído para o reduzido desenvolvimento dos animais que consumiram a dieta 30CPS. Alguns destes fatores podem formar complexos com proteínas e enzimas digestivas interferindo na utilização dos nutrientes da dieta, conferindo baixa digestibilidade, inibindo o crescimento e alterando o paladar da dieta (SILVA; SILVA, 1999; FRANCIS et al., 2001).

O perfil lipídico da dieta foi analisado e apresentou semelhanças para o percentual de Ácidos Graxos (AG) saturados, relação AG saturado/insaturado e relação n-6/n-3 para as dietas 15CPS e 15FJ que apresentaram melhores índices de desenvolvimento. Estudos demonstraram que os ácidos graxos essenciais (AGE), tais como o ácido docosahexanóico

(DHA, C22:6 n-3) e ácido eicosapentaenóico (EPA, C20:5 n-3) são importantes na nutrição de larvas de peixe (MOUSAVI-SABET et al., 2013).

Tabela 1. Perfil lipídico das dietas utilizadas na alimentação das pós-larvas de jundiá

Ácidos Graxos*	Padrão ¹	15 CPS	15FJ	30CPS	30FJ
C14:0	0,44	0,46	0,54	0,42	0,58
C16:0	27,65	26,32	25,78	25,86	25,41
C16:1	3,16	3,29	3,30	3,23	3,35
C18:0	11,92	9,98	9,88	8,75	8,90
C18:1 n-9	37,59	37,39	36,88	37,93	38,23
C18:2 n-6	12,34	15,80	16,20	17,32	16,36
C18:3n-3	0,44	0,74	0,8	1,02	0,86
C22:1 n-9	0,60	0,51	0,35	0,72	0,73
C20:4 n-6	2,10	2,08	2,30	1,58	1,64
C22:6 n-3	0,44	0,49	0,62	0,48	0,64
ΣSaturados	41,39	38,01	37,49	36,27	36,14
ΣInsaturados	58,61	61,99	62,51	63,73	63,86
Saturado/insaturado	0,71	0,61	0,60	0,57	0,57
ΣMonoinsaturados	42,43	41,92	41,36	42,60	43,14
ΣPoliinsaturados	16,18	20,07	21,15	21,13	20,72
Σn-3	0,94	1,34	1,51	1,52	1,57
Σn-6	15,24	18,73	19,64	19,61	19,15
n-6/n-3	16,24	13,93	13,02	12,90	12,18

*Os ácidos graxos C6:0; C11:0, C13:0, C15:1 n-5, C17:1n-7, C18:2 n-6t, C21:0, C23:0 e C22:2 não foram detectados nas amostras. Os ácidos graxos C4:0, C8:0, C10:0, C12:0, C14:1n-5, C15:0, C17:0, C18:1 n-9t, C18:3 n-6, C20:1 n-9, C20:2 n-6, C20:3 n-3, C20:0, C20:1, C20:2, C22:0, C20:3 n-6, C24:0; C24:1 n-9 e C20:5 n-3 foram encontrados em quantidade inferior a 0,5%. Análise realizada no laboratório NIDAL/UFSM. Tratamentos: Padrão – fígado mais levedura, adaptada de Coldebella et al. (2011), 15FJ e 30 FJ – substituição 15 e 30% do fígado de aves por farinha de peixe (ROSSATO et al., 2014), 15CPS e 30CPS substituição 15 e 30% do fígado de aves por concentrado proteico de soja.

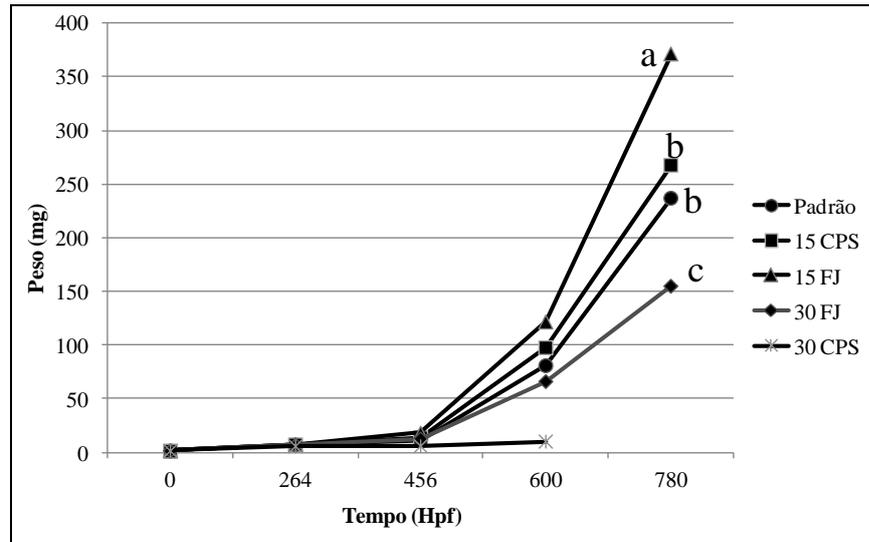
A dieta 15FJ apresentou maiores percentuais do ácido araquidônico (20:4 n-6) na composição da dieta. Em larvas de peixes marinhos, estudos têm indicado que os níveis do ácido araquidônico (ARA) podem ser importantes para a tolerância ao estresse, pigmentação, crescimento e sobrevivência (PARK et al., 2006). Os peixes de água doce tem maior capacidade de converter o ácido graxo C18:0 em ácidos graxos altamente insaturados (HUFAs) (CORRAZE, 2001), o que pode ter contribuído com o maior desenvolvimento das pós-larvas alimentadas com as dietas que apresentaram maior percentual deste ácido graxo. Alguns peixes de água doce possuem enzimas (dessaturases e elongases) responsáveis pela

biossíntese de AA, EPA e DHA (GARCIA et al., 2012) a partir de outros ácidos graxos como o ácido esteárico (C18:0). Os ácidos graxos são essenciais principalmente nesta fase de vida dos peixes, eles contribuem na formação das membranas e hormônios (IZQUIERDO e KOVEN, 2011), conseqüentemente aumentando o crescimento e reduzindo a mortalidade (GARCIA et al., 2012). O perfil lipídico da dieta também pode influenciar a resistência à doenças e parasitas dos peixes (BOSCOLO et al., 2011).

O pH das rações experimentais se mantiveram em torno de 5, a dieta Padrão (5,24), dieta 15 CPS (5,46), dieta 15FJ (5,48), dieta 30CPS (5,51), dieta 30 FJ (5,59). As dietas que apresentaram pHs mais altos foram aquelas em que o crescimento foi menor. A protease ácida ou pepsina é uma protease aspártica de origem animal, produzida pela mucosa do estômago na forma inativa de pepsinogênio. Torna-se ativa por autólise em pH abaixo de 5,0, apresentando maior atividade na faixa de pH de 1,0 a 4,0, sendo seu pH ótimo de 1,8. Inativa-se completamente em pH superior a 6,0. Apresenta baixa especificidade, no entanto prefere ligações peptídicas que envolvam aminoácidos hidrofóbicos (KOBLOITZ, 2008). Porém, diversos fatores, como imaturidade do sistema digestório, formulação e processamento das dietas (PORTELLA e DABROWSKI, 2008), podem ter contribuído para o reduzido crescimento (Figura 1) das pós-larvas alimentadas com as dietas com substituição total do fígado de aves.

Neste estudo aos 600 Hpf as pós-larvas alimentadas com a dieta 30CPS não apresentavam número representativo para continuar o experimento, devido à casos de canibalismo, mortalidade e coletas para análises. Em experimento com larvas de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), Menossi et al. (2012), encontraram mortalidade massiva das larvas aos 18 dias de alimentação, quando estas foram alimentadas somente com dieta inerte comercial (57%PB). O mesmo autor cita que a dieta deve ser nutricionalmente balanceada, atrativa, palatável, apresentar densidade adequada e estabilidade na água.

Na dieta 15CPS (Figura 1) pode-se observar o desenvolvimento adequado dos animais, semelhante ao encontrado para os animais que consumiram a dieta 15FJ. A tolerância quanto à quantidade de concentrado proteico de soja adicionado às rações está intimamente relacionada ao hábito alimentar e às exigências nutricionais de cada espécie (NRC, 2011). A partir disso, acreditamos que a substituição total do fígado não é aconselhável, assim como a inclusão de 30% de CPS na dieta de pós-larvas de jundiá é prejudicial ao seu normal desenvolvimento.



Figural. Curva de crescimento das pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas mistas

Letras diferentes representam diferença estatística pelo teste de Tukey. Tratamentos: Padrão, adaptada de Coldebella et al. (2011); 15FJ e 30 FJ, substituição 15 e 30% do fígado por farinha de peixe (FJ) (ROSSATO et al., 2014), 15CPS e 30CPS substituição 15 e 30% do fígado por concentrado proteico de soja.

Ao analisar a primeira amostra às 32 Hpf (Tabela 2), encontrou-se atividade reduzida das principais enzimas (protease ácida, tripsina e quimotripsina). A atividade enzimática em larvas de jundiá foi baixa até as 32 Hpf, seguida de aumento acentuado e nova queda às 96 Hpf, momento da transição alimentar, final da absorção do vitelo, para o alimento seco (SILVEIRA et al., 2013). O vitelo é a fonte de energia para as larvas se desenvolverem, e ao mesmo tempo substrato para a diferenciação e crescimento de novas estruturas (PORTELLA et al., 2012). Este é o primeiro alimento a ser metabolizado com auxílio das enzimas existentes, sendo as principais enzimas digestivas produzidas pelo pâncreas são a tripsina, amilase e lipase que podem ser detectadas antes mesmo da abertura da boca (RIBEIRO et al., 1999). Estas enzimas (Tabela 2) foram detectadas antes mesmo da abertura da boca em larvas de jundiá neste trabalho, analisadas à partir das 32 Hpf, quando o embrião apresentou movimento, presentes em quantidades mínimas.

A atividade da tripsina (Tabela 2) manteve-se numa linear crescente até 72 Hpf e a partir desta começou a reduzir, sendo este o fator chave na ativação das enzimas pancreáticas (CONCEIÇÃO et al., 2011). Para larvas de dourado (*Salminus brasiliensis*) a atividade das proteinases intestinais (tripsina e quimotripsina) foram detectadas 12 h após eclosão, antes do início da alimentação exógena (VEGA-ORELLANA et al., 2006).

Tabela 2. Atividade enzimática de larvas de jundiá, antes do início da alimentação exógena

Hpf	Proteína	Protease	Tripsina	Quimotripsina	Lipase	Amilase	Maltase
32	0,054 ± 0,01	1,56 ± 0,8	5,86 ± 0,8	3484,98 ± 627,4	1,35 ± 0,4	0,03 ± 0,04	0,043 ± 0,00
40	0,062 ± 0,02	1,52 ± 0,9	8,21 ± 5,1	5633,07 ± 1655,2	1,03 ± 0,4	0,23 ± 0,1	0,015 ± 0,02
48	0,040 ± 0,01	2,88 ± 2,1	10,39 ± 3,9	4470,54 ± 1086,3	1,32 ± 0,2	0,11 ± 0,07	0,006 ± 0,01
60	0,055 ± 0,02	1,956 ± 1,1	11,76 ± 7,0	3488,64 ± 395,0	1,35 ± 0,3	0,04 ± 0,08	0,009 ± 0,01
72	0,020 ± 0,01	3,27 ± 1,8	12,53 ± 3,1	4067,53 ± 676,5	3,29 ± 0,7	0,09 ± 0,09	0,046 ± 0,06
84	0,017 ± 0,01	3,77 ± 1,6	10,07 ± 2,6	3818,88 ± 866,4	4,32 ± 0,6	0,37 ± 0,19	0,047 ± 0,05
96	0,022 ± 0,00	5,87 ± 3,3	8,78 ± 1,6	2990,23 ± 273,3	2,87 ± 1,0	0,31 ± 0,23	0,072 ± 0,08

Valores expressos como média ± erro-padrão da média. *Proteína corporal total (mg/g), protease ácida (ug tirosina/min/mg prot), tripsina (umolTAME/min/mg prot), quimotripsina (umol BTEE/min/mg prot), lipase (UI/mg proteína/min), amilase (UI/mg proteína/min), maltase (UI/mg proteína/min). Hpf: horas após fertilização.

A atividade da tripsina e quimotripsina reduziram a partir das 72 Hpf e a atividade da protease ácida, amilase e maltase aumentaram até o início da alimentação exógena (Tabela 2). A tripsina e quimotripsina nas larvas recém-eclodidas estão envolvidas na clivagem das proteínas contidas no vitelo (GISBERT et al., 2008) e são as primeiras enzimas a atuarem mais ativamente sobre o mesmo. Posteriormente, com o desenvolvimento das larvas ocorre a atuação mais eficaz das outras enzimas que estavam ainda em formação.

Outra enzima importante é a lipase que inicialmente apresentou aumento à partir de 40 Hpf até 84 Hpf. Esta enzima está ligada à digestão dos lipídios, neste caso do vitelo, mais especificamente contidos na vitelogenina que são quebrados pelas lipases e contribuem para o desenvolvimento do embrião (MOMMSEN e KORSGAARD, 2008). É uma enzima de origem pancreática que age no intestino atuando nos lipídeos presentes no quimo, liberando ácidos graxos e glicerol, os quais desempenham importantes funções energéticas, estruturais e hormonais no organismo (MOURA et al., 2012).

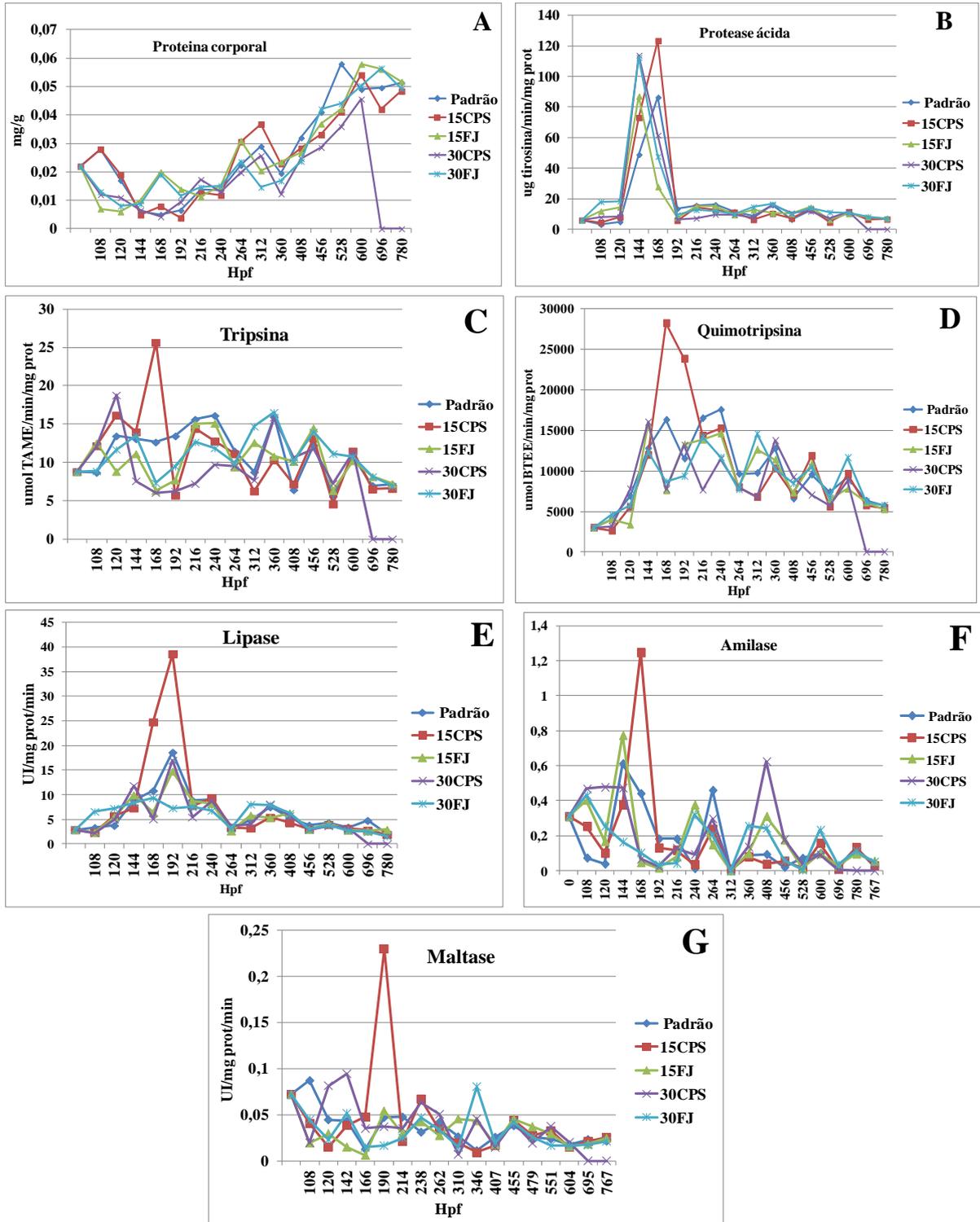


Figura 2. Atividade enzimática de pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas mistas. Tratamentos: Padrão, adaptada de Coldebella et al. (2011), 15FJ e 30FJ, substituição 15 e 30% do fígado por farinha de peixe (FJ) (ROSSATO et al., 2014), 15CPS e 30CPS substituição 15 e 30% do fígado por concentrado proteico de soja (CPS). Hpfs: Horas após fertilização.

Após o início da alimentação exógena ocorreu um pico de atividade enzimática e posteriormente este se estabilizou. Este pico ocorreu principalmente para protease ácida para

todas as dietas, duas horas após a primeira alimentação. Para as demais enzimas o pico ocorreu mais acentuadamente para a dieta 15CPS (tripsina, quimotripsina e amilase às 168 Hpf e lipase e maltase às 192 Hpf) (Figura 2). Este comportamento pode ter ocorrido como forma de adaptação das pós-larvas à dieta para que houvesse uma melhora da digestibilidade e absorção dos nutrientes. Segundo Silveira et al. (2013), a atividade da pepsina foi baixa até 32 Hpf, aumentando e depois diminuindo na transição para a alimentação exógena.

A partir das 108 Hpf todas as larvas receberam alimento. Nas pós-larvas que receberam a dieta 30CPS, observou-se redução da atividade da tripsina a partir do período de 120 às 312 Hpf. Mesmo comportamento observado para a amilase que às 144 Hpf teve queda expressiva com recuperação às 216 Hpf. A reduzida atividade enzimática no período inicial de desenvolvimento pode ter contribuído para o baixo crescimento apresentado pelos animais que consumiram esta dieta. Posteriormente todas as enzimas se estabilizaram, o que pode indicar uma adaptação das pós-larvas ao alimento fornecido.

Para a maioria das espécies de peixes, a capacidade digestiva torna-se mais eficiente após a eclosão, quando existe abundância de glândulas gástricas, enzimas do tipo pepsina e ácido hidrocloreídrico, que realizam a primeira hidrólise de proteínas, facilitando assim a ação subsequente das enzimas alcalinas, tais como tripsina e quimotripsina (GOVONI et al., 1986; PORTELLA et al., 2014).

O declínio na atividade específica de ambas as enzimas ao longo do desenvolvimento larval do jundiá pode ser explicado principalmente pelo aumento normal das proteínas teciduais durante o crescimento das larvas (ZAMBONINO INFANTE et al., 2008). Estas refletindo mudanças anatômicas e fisiológicas nas pós-larvas de peixes, mas não correspondendo à redução na quantidade de enzimas digestivas (ZAMBONINO INFANTE et al., 2008). Bem como a transformação progressiva da digestão alcalina larval, caracterizado principalmente por proteases pancreáticas, como tripsina e quimotripsina, a um modo de digestão ácida juvenil (BABAEI et al., 2011).

A atividade da protease ácida teve aumento gradativo das 32 Hpf até 166 Hpf, posteriormente teve uma redução e se manteve oscilando até o final do período experimental. Para larvas de dourado (*Salminus brasiliensis*) a atividade de protease ácida foi detectada no terceiro dia após eclosão e posteriormente aumentada até ao sétimo dia o que indica funcionalidade do estômago (VEGA-ORELLANA et al., 2006).

As pós-larvas de jundiá que consumiram a dieta 30CPS apresentaram desenvolvimento reduzido em relação aos animais que consumiram as outras dietas. Neste contexto, o desenvolvimento histológico do sistema digestório foi analisado, tendo em vista

que a maior função do sistema digestório é manter o suprimento de nutrientes provenientes da dieta para os tecidos do corpo. A eficiência deste processo é o fator chave para que ocorra o rápido crescimento tecidual das larvas, principalmente durante os períodos críticos quando a larva começa a consumir alimentos exógenos (RØNNESTAD e MORAIS, 2008).

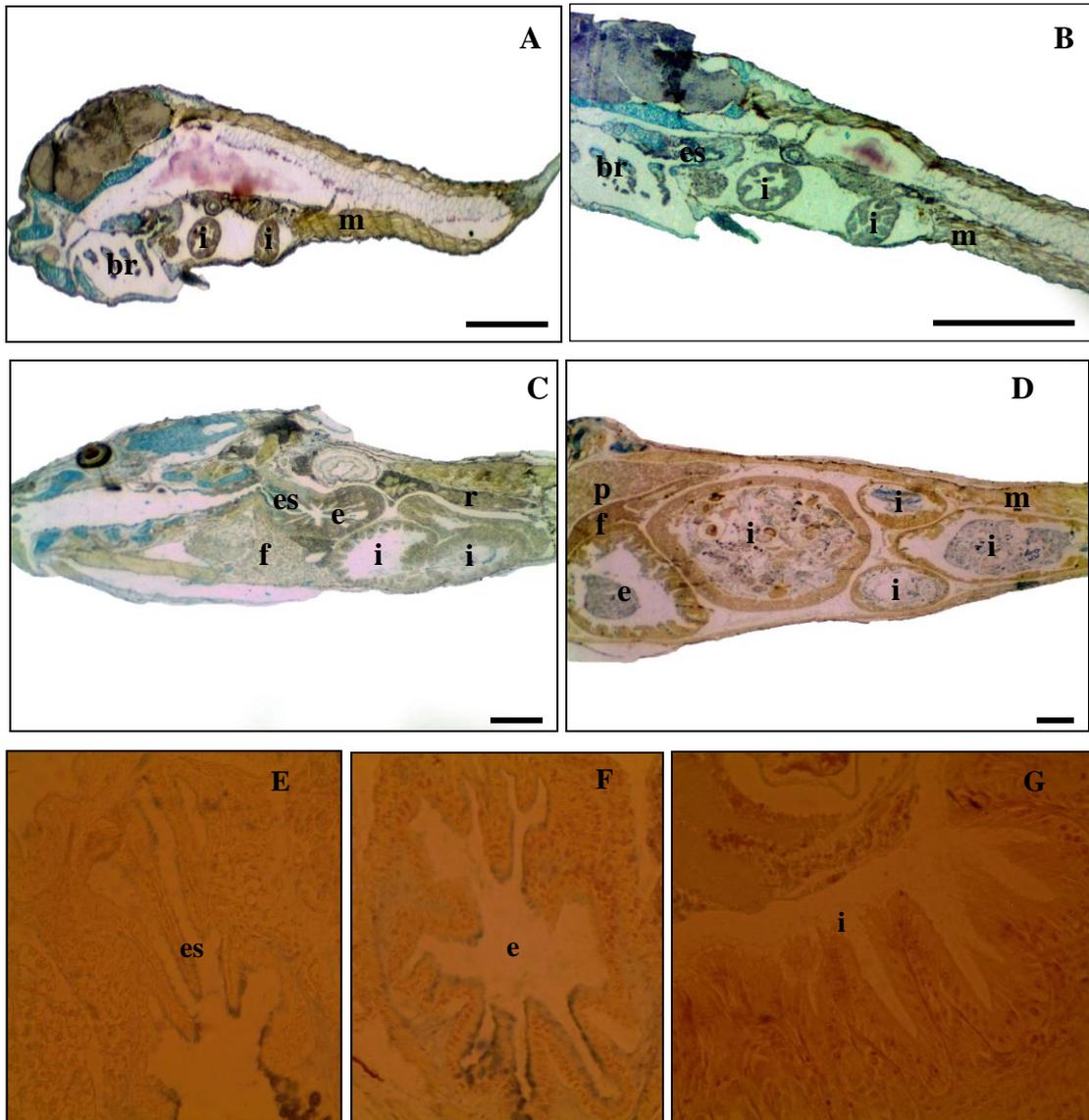


Figura 3. Cortes histológicas de pós-larvas de jundiá alimentados com dietas mistas. Exemplos de pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas 30CPS (A, C) e 15FJ (B, D) nos tempos (240, 528 Hpf) em cortes seriados longitudinais. E, F e G cortes histológicos representativos do esôfago, estômago e intestino. (br) brânquias; (e) estômago; (es) esôfago; (f) fígado; (i) intestino; (m) músculo; (p) pâncreas; (r) rim. Escala: 1 mm. Coloração: Vanderbilt modificado.

A análise histopatológica das pós-larvas (Figura 3), independentemente das diferentes dietas não revelou alterações morfológicas nos tecidos e nos órgãos internos. Nenhum processo inflamatório foi observado nos indivíduos das duas dietas. As vilosidades intestinais apresentavam-se normais. De acordo com Lazo et al. (2011), as principais alterações histológicas na mucosa intestinal incluem diminuição na altura do enterócito e no número e tamanho das pregas epiteliais.

O desenvolvimento do sistema digestório ocorreu da mesma forma nos animais da dieta 15FJ e 30CPS. Apenas observou-se desenvolvimento mais lento, animais menores, supostamente devido à menor digestibilidade do CPS (67,19%) em relação ao FJ (96,14%) (ROTILI, 2014). Segundo Drew et al. (2007) a qualidade proteica do ingrediente depende fundamentalmente da sua digestibilidade. Na dieta 15FJ, a adição da farinha de peixe, contribuiu para melhorar a palatabilidade das rações, segundo Liu et al. (2012), as farinhas de origem animal melhoram sensivelmente a palatabilidade. Entretanto, nas dietas com total substituição do fígado por CPS, os peixes não se desenvolveram tanto quanto aqueles alimentados com a dieta com substituição parcial (15CPS). Assim, isso pode indicar que mesmo com uma quantidade reduzida de compostos antinutricionais (FONTINELLI e RADÜNZ NETO, 2007; SÁ et al., 2013) no CPS essas substâncias podem estar interferindo no desenvolvimento geral das pós-larvas.

3.4 Conclusão

A atividade enzimática já está presente nas larvas ao iniciar a alimentação e não apresentou alterações para as diferentes dietas ofertadas, apenas houve redução do desenvolvimento do trato digestório das pós-larvas que consumiram a dieta 30CPS.

3.5 Agradecimentos

À Universidade Federal de Santa Maria pelas instalações e equipamentos disponibilizados para a realização dos experimentos. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo período de bolsa. À FAPERGS pela bolsa de

iniciação científica. À ICC pela doação da levedura de cana. Ao IFSC pela realização das análises histológicas. À FAPERGS – Processo 11.1175/1 pelo apoio financeiro.

3.6 Referências Bibliográficas

ALBRO, P.W.; HALL, R.D.; CORBETT, J.T.; SCHROEDER, J. Activation of nonspecific lipase (EC3.1.1.) by bile salts. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.835, p.477-490, 1985.

American Veterinary Medical Association (AVMA). **Guidelines on Euthanasia** (Formerly Report of the AVMA Panel on Euthanasia) American Veterinary Medical Association (AVMA), United States of America, 2007.

BABAEI, S.S.; ABEDIAN KENARI, A.; NAZARI, R.; GISBERT, E. Developmental changes of digestive enzymes in Persian sturgeon *Acipenser persicus* during larval ontogeny. **Aquaculture**, v.318, p.138-144, 2011.

BERNFELD, P. Amylases α e β : colorimetric assay methods. In: Colowick, S.P.; Kaplan, N.O. **Methods in Enzymology**, New York: Academic Press, 1955.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, p.911-917, 1959.

BOSCOLO, W.R.; SIGNOR, A.; FREITAS, J.M.A.; BITTENCOURT, F.; FEIDEN, A. Nutrição de peixes nativos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.145-154, 2011.

BRADFORD, M.M.A. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.

CARDOSO, A.P.; RADÜNZ NETO, J.; MEDEIROS, T.S.; KNÖPKER, M.A.; LAZZARI, R. Criação de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentadas com rações granuladas contendo fígados ou hidrolisados. **Acta Scientiarum-Animal Sciences**, v.26, p.457-462, 2004.

CARGNIN-FERREIRA, E.; SARASQUETE REIRIZ, C. **Histofisiología de moluscos bivalvos marinos**. CSIC, Madrid, 2008, 94p.

COLDEBELLA, I.J.; RADÜNZ NETO, J.; MALLMANN, C.A.; VEIVERBERG, C.A.; BERGAMIN, G.T.; PEDRON, F.A.; FERREIRA, D.; BARCELLOS, L.J.G. The effects of different protein levels in the diet on reproductive indexes of *Rhamdia quelen* females. **Aquaculture**, v.312, p.137-144, 2011.

CONCEIÇÃO L.; ARAGÃO, C.; RØNNESTAD, I. Proteins. In: Holt, G.J. **Larval Fish Nutrition**, 2011. Cap.3, p.88-120.

CORRAZE, G. Lipid nutrition. In: GUILLAUME, J.C.; KAUSHIK, S.; BERGOT, P.; MÉTAILLER, R. **Nutrition and feeding of fish and crustaceans**. Coédition Inra-Ifremer, Springer-Praxis books in Aquaculture and fisheries, 2001, 408 p., cap.7, p.111-130.

CORRÊA, C.F.; AGUIAR, L.H.; LUNDSTEDT, L.M.; MORAES, G. Responses of digestive enzymes of tambaqui *Colossoma macropomum* to dietary cornstarch changes and metabolic inferences. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.147, p.857-862, 2007.

DREW, M.D.; BORGESON, T.L.; THIESSEN, D.L. A review of processing of feed ingredients to enhance diet digestibility in finfish. **Animal Feed Science and Technology**, v.138, p.118-136, 2007.

FONTINELLI, E.; RADÜNZ NETO, J. Efeito do concentrado proteico de soja em rações, com e sem suplementação em aminoácidos, para pós-larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Revista Brasileira de Agrociência**, v.13, p.225-229, 2007.

FRANCIS, G.; MAKKAR, H.P.; BECKER, K. Antinutritional factors present in plant derived alternate fish feed ingredients and their effect in fish. **Aquaculture**, v.199, p.197-227, 2001.

FURNE, M.; GARCÍA-GALLEGO, M.; HIDALGO, M.C.; MORALES, A.E.; DOMEZAIN, A.; DOMEZAIN, J.; SANZ, A. Effect of starvation and refeeding on digestive enzyme activities in sturgeon (*Acipenser naccarii*) and trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.149, p.420-425, 2008.

GARCIA, A.S.; GONÇALVES, L.U.; CAVALLI, R.O.; VIEGAS, E.M.M. Lipídios. In **NUTRIAQUA: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**, 2012. cap.5, p.79-99.

GISBERT, E.; GIMÉNEZ, G.; FERNÁNDEZ, I.; KOTZAMANIS, Y.; ESTÉVEZ, A. Development of digestive enzymes in common dentex *Dentex dentex* during early ontogeny. **Aquaculture**, v.287, p.381-387, 2008.

HARTMAN, L.; LAGO, B.C. A rapid preparation of fatty methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v.22, p. 475-477, 1973.

HIDALGO, M.C.; UREA, E.; SANZ, A. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits: Proteolytic and amylase activities. **Aquaculture**, v.170, p.267-283, 1999.

HUMMEL, B.C.W. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin and thrombin. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, p.1393-1399, 1959.

IZQUIERDO, M.; KOVEN, W. **Lipids**. In: Holt, I. Larval Fish Nutrition. Wiley Online Library. Oxford, 2011. 448 p.

KOBLITZ, M.G.B. **Bioquímica de Alimentos: teoria e Aplicações Práticas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 242p.

LAZO, J.P.; DARIAS, M.J.; GISBERT, E. **Ontogeny of the digestive tract**. In: Holt, I. Larval Fish Nutrition. Wiley Online Library. Oxford, 2011. 448 p.

LIU, X.; YE, J.; WANG, K.; KONG, J.; YANG, W.; ZHOU, L. Partial replacement of fish meal with peanut meal in practical diets for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Research**, v.43, p.745-755, 2012.

MENOSSE, O.C.C.; TAKATA, R.; SÁNCHEZ-AMAYA, M.I.; FREITAS, T.M.; YÚFERA, M.; PORTELLA, M.C. Crescimento e estruturas do sistema digestório de larvas de pacu alimentadas com dieta microencapsulada produzida experimentalmente. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, p.1-10, 2012.

MOMMSEN, T.; KORSGAARD, B. **Vitellogenesis**. In: ROCHA, M.J.; ARUKWE, A.; KAPOOR, B.G. Fish Reproduction. Science Publishers, Enfield, N.H., State, 2008. p.113-169.

MOURA, G.S.; OLIVEIRA, M.G.A.; LANNA, E.A.T. Desempenho e atividade de lipase em tilápias do Nilo. **Archivos de Zootecnia**, v.61, p.367-374, 2012.

MOUSAVI-SABET, H.; GHASEMNEZHAD, H.; PETRESCU-MA, I.V. Effects of diet containing enriched *Artemia* with unsaturated fatty acids and vitamin C on growth, survival and stress resistance of swordtail *Xiphophorus hellerii* fry. **Poeciliid Research**, v.3, ed.1, 2013.

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

PARK, H.G.; PUVANENDRAN, V.; KELLETT, A.; PARRISH, C.C.; BROWN, J.A. Effect of enriched rotifers on growth, survival, and composition of larval Atlantic cod (*Gadus morhua*). **Journal of Marine Science**, v.63, p.285-295, 2006.

PIAIA, R.; RADÜNZ NETO, J. Efeito de níveis crescentes de levedura de álcool em rações contendo fígado bovino sobre a performance de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência Rural**, v.27, p.313-317, 1997a.

PIAIA, R.; RADÜNZ NETO, J. Avaliação de diferentes fontes protéicas sobre o desempenho inicial de larvas do jundiá *Rhamdia quelen*. **Ciência Rural**, v.27, p.319-323, 1997b.

PORTELLA, M.C.; DABROWSKI, K. Diets, physiology, biochemistry and digestive tract development of freshwater fish larvae. In: CYRINO, J.E.C.; BUREAU, D.; KAPOOR, B.G. **Feeding and digestive functions of fishes**. Enfield: Science Publishers, 2008. p.227-279.

PORTELLA, M.C.; LEITÃO, N.J.; TAKATA, R.; LOPES, T.S. Alimentação e nutrição de larvas. In: **NUTRIAQUA: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**, 2012. cap.9, p.185-216.

PORTELLA, M.C.; JOMORI, R.K.; LEITÃO, N.J.; MENOSSI, O.C.C.; FREITAS, T.M.; KOJIMA, J.T.; LOPES, T.S.; CLAVIJO-AYALA, J.A.; CARNEIRO, D.J. Larval development of indigenous South American freshwater fish species, with particular reference to pacu (*Piaractus mesopotamicus*): A review. **Aquaculture**, v.432, p.402-417, 2014.

RIBEIRO, L.; ZAMBONINO INFANTE, J.L.; CAHU, C.; DINIS, M.T. Development of digestive enzymes in larvae of *Solea senegalensis*, Kaup. **Aquaculture**, v.179, p.465-473, 1999.

RØNNESTAD, I.; MORAIS, S. **Nutrition and energy**. In: FINN, R.N.; KAPOOR, E.B.G. **Fish Larval Physiology**, Science Publishers, Enfield, New Hampshire, USA, 2008. cap.3, p.201-262.

ROSSATO, S.; LAZZARI, R.; FREITAS I.L.; MASCHIO, D.; CORRÊIA, V.; RADÜNZ NETO, J. Diferentes níveis de incorporação de farinha de resíduos de jundiás (*Rhamdia quelen*) cultivados na dieta. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, p.894-902, 2014.

ROTILI, D.A. **Avaliação nutricional de jundiás frente a dietas contendo diferentes níveis de metionina**. 2014. 84f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria/RS, 2014.

SÁ, M.V.C.; SABRY-NETO, H.; NUNES, A.J.P. Dietary concentration of marine oil affects replacement of fish meal by soy protein concentrate in practical diets for the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture Nutrition**, v.19, p.199-210, 2013.

SILVA, M.R.; SILVA, M.A.A.P. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. **Revista de Nutrição**, v.12, p.21-32, 1999.

SILVA, L.V.F. Incubação e larvicultura. In: BALDISSEROTTO, B., RADÜNZ NETO, J. **Criação de Jundiá**. Editora UFSM, Santa Maria, 2004, cap.6, p.107-116.

SILVEIRA, J.; SILVA, C.P.; CARGNIN-FERREIRA, E.; ALEXANDRE, D.; ELIAS, M.A.; FRACALOSSO, D.M. Freshwater catfish jundiá (*Rhamdia quelen*) larvae are prepared to digest inert feed at the exogenous feeding onset: physiological and histological assessments. **Fish physiology and Biochemistry**, v.39, p.1581-1590, 2013.

STECH, M.R.; CARNEIRO, D.J.; CARVALHO, M.R.B. Fatores antinutricionais e coeficientes de digestibilidade aparente da proteína de produtos de soja para o pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.32, p.255-262, 2010.

TROMBETTA, C.G.; RADÜNZ NETO, J.; LAZZARI, R. Suplementação vitamínica no desenvolvimento de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência e Agrotecnologia**, v.30, p.224-229, 2006.

TRONCO, A.P.; RADÜNZ NETO, J.; MEDEIROS, T.S.; LIMA, R.L. Alimentação de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) com dietas semipurificadas e fontes lipídicas. **Boletim Instituto de Pesca**, v.33, p.9-17, 2007.

ULIANA, O.; SILVA, J.H.S.; RADÜNZ NETO, J. Diferentes fontes de lipídios testadas na criação de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*), Pisces, Pimelodidae. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, p.129-133, 2001.

VEGA-ORELLANA, O.M.; FRACALOSI, D.M.; SUGAI, J.K. Dourado (*Salminus brasiliensis*) larviculture: Weaning and ontogenetic development of digestive proteinases. **Aquaculture**, v. 252, p.484-493, 2006.

YANG, R.; XIE, C.; FAN, Q.; GAO, C.; FANG, L. Ontogeny of the digestive tract in yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco* larvae. **Aquaculture**, v.302, p.112-113, 2010.

YÚFERA, M.; DARIAS, M.J. The onset of exogenous feeding in marine fish larvae. **Aquaculture**, v.268, p.53-63, 2007.

ZAMBONINO INFANTE, J.L.; GISBERT, E.; SARASQUETE, C.; NAVARRO, I.; GUTIÉRREZ, J.; CAHU, C. Ontogeny and physiology of the digestive system of marine fish larvae. **Feeding and digestive functions of fishes**, p.281-348, 2008. Disponível em: <http://archimer.ifremer.fr/doc/00086/19684/17307.pdf>. Acesso em 27 de janeiro de 2015.

ZAMBONINO INFANTE, J.L.; CAHU, C.L. Dietary modulation of some digestive enzymes and metabolic processes in developing marine fish: Applications to diet formulation. **Aquaculture**, v.268, p.98-105, 2007.

CAPÍTULO IV

DESENVOLVIMENTO MUSCULAR DE PÓS-LARVAS DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) ALIMENTADAS COM DIETAS COMPOSTAS DE FARINHA DE PEIXE¹

Resumo: O desenvolvimento muscular ocorre a partir da ativação das células satélites e o crescimento a partir do recrutamento de novas fibras musculares por hiperplasia ou hipertrofia das fibras. O crescimento é dependente da qualidade do alimento consumido, por isso, a farinha de peixe é muito utilizada nesta fase, devido sua qualidade nutricional. Portanto, este trabalho tem como objetivo testar a inclusão da farinha de peixe em dietas iniciais para larvicultura de jundiá observando a influência deste ingrediente no crescimento e desenvolvimento muscular dos animais pós-larvas. Foram utilizadas seis dietas: padrão, 5% de farinha de peixe (FJ); 10FJ; 15FJ; 20FJ e 25FJ. A FJ foi incluída em substituição ao fígado de aves (30% MS). As pós-larvas alimentadas com a dieta 15 FJ apresentaram melhor desenvolvimento geral (peso; GPD e TCE), conseqüentemente maior área muscular e maior número de fibras musculares. A sobrevivência foi em média 90% para as pós-larvas alimentadas com as dietas adicionadas de farinha de peixe e mais baixa para o tratamento padrão (70%). A partir destes resultados, conclui-se que a inclusão da farinha de peixe (15FJ) melhorou o balanceamento da dieta, o crescimento e o desenvolvimento muscular das pós-larvas de jundiá.

Palavras-chave: Crescimento. Dieta granulada. Hiperplasia. Hipertrofia.

¹Aprovado no comitê de ética no uso dos animais - UFSM, parecer nº062/2013.

4.1 Introdução

O desenvolvimento muscular dos peixes apresenta características alométricas principalmente no período larval, onde cada tecido possui velocidade diferente de crescimento. À medida que a larva se transforma em juvenil, o crescimento das diferentes partes do corpo (cabeça, cauda e tronco) se torna mais isométrico (PORTELLA et al., 2012). Assim, na fase pós-embrionária com a ativação das células satélites, a musculatura estriada esquelética inicia seu desenvolvimento. Para manter o rápido crescimento somático, ocorre o recrutamento e manutenção de novas fibras musculares brancas (ALAMI-DURANTE et al., 2006). Para que isto ocorra, o crescimento é mantido através da atuação de três bases: metabolismo, temperatura e alimento.

A adoção de práticas de manipulação do crescimento em peixes está condicionada à compreensão dos processos que regulam a síntese de proteína e crescimento do músculo (PERÁGON et al., 1994). Pois o crescimento é considerado processo altamente dinâmico e complexo, que ocorre a partir do aumento da massa muscular, por hiperplasia ou hipertrofia das fibras musculares (CARANI et al., 2008). Onde a formação óssea é um dos eventos importantes no desenvolvimento larval, especialmente por causa do papel de ossos na proteção dos órgãos internos e estrutura do corpo (ESTÊVÃO et al., 2011).

A larvicultura de espécies nativas com potencial produtivo tem estado em evidência nos últimos anos. Mas para que ocorra o aumento na produtividade e sobrevivência das pós-larvas deve-se usar rações adequadas, completas e altamente digestíveis. Assim, quando a nutrição das pós-larvas é adequada são obtidos animais sadios e de qualidade. Pois, a produção de juvenis de qualidade é um dos fatores chave para o crescimento sustentável da aquicultura (CONCEIÇÃO et al., 2009).

A inclusão de fontes proteicas de qualidade conhecida é crescente na alimentação destes animais. Neste contexto, a farinha de peixe (ROSSATO et al., 2014) pode contribuir com melhorias no desenvolvimento das pós-larvas. A farinha de peixe é conhecida por conter perfil completo de aminoácidos, o que é necessário para atender a exigência de proteína da maioria das espécies de peixes (ABOWEI e EKUBO, 2011). E esta pode ser utilizada para complementar o padrão de aminoácidos e melhorar a qualidade global da proteína da dieta (FAO, 2014).

A farinha de peixe foi testada com resultados satisfatórios para juvenis de jundiá (ROSSATO et al., 2014), considerada de alta qualidade e alternativa à escassez e custo

elevado da farinha de peixe comercial (BOSCOLO et al., 2008). Por isso, ela é utilizada como ingrediente estratégico para fases críticas do ciclo de vida animal, fases iniciais de desenvolvimento. Apresenta bom perfil de aminoácidos, principalmente de lisina (6,4%) (ROSSATO, 2012) que é utilizada basicamente para a deposição de tecido muscular. Lembrando que a farinha de peixe, por apresentar elevado valor biológico e equilíbrio em aminoácidos essenciais, é considerada alimento padrão para alimentação inicial (TACON, 1996; ENKE et al., 2009). A dieta considerada padrão para a larvicultura do jundiá é a composta de fígado de aves mais levedura de cana (PIAIA e RADÜNZ NETO, 1997b) adaptada por Coldebella et al. (2011).

Sendo assim, neste trabalho testou-se a inclusão da farinha de peixe em dietas iniciais para larvicultura de jundiá observando a influência deste ingrediente no crescimento e desenvolvimento muscular dos animais.

4.2 Material e métodos

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Piscicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria. Os animais foram alimentados com dietas granuladas por 28 dias. Alojados em sistema de recirculação composto de 30 unidades experimentais com volume útil de cinco litros, onde foram testados seis tratamentos (dietas) cada um com cinco repetições. Cada unidade era composta de dois recipientes plásticos dotados de tela lateral para impedir a saída das pós-larvas. Com abastecimento e escoamento individuais, conectados em sistema de recirculação de água termorregulado e filtro biológico. A vazão utilizada em cada recipiente foi de 0,20 L/min na primeira semana experimental (TRONCO et al., 2007), sendo aumentada gradativamente durante o período experimental. Foram utilizadas 240 pós-larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) por unidade experimental totalizando 48 pós-larvas por litro.

A temperatura ($21,4 \pm 0,94^{\circ}\text{C}$) e oxigênio ($7,6 \pm 0,53 \text{ mg L}^{-1}$) da água foram verificados com o auxílio de oxímetro digital (marca YSI 550), o pH ($7,3 \pm 0,34$) com pHmetro (modelo MPA – 210 P) diariamente. A amônia total ($0,15 \pm 0,12 \text{ mg L}^{-1}$), alcalinidade ($52,8 \pm 10,7 \text{ mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$), nitrito ($0,03 \pm 0,02 \text{ mg L}^{-1}$) e dureza ($56 \pm 34,31 \text{ mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$) analisados semanalmente através do uso de kits colorimétricos.

As dietas granuladas testadas foram: Padrão (sem FJ); 5FJ; 10FJ; 15FJ; 20 FJ e 25 FJ. A dieta padrão (Tabela 1) foi adaptada de Coldebella et al. (2011). Nas demais, o fígado de aves *in natura* foi substituído por farinha de peixe (jundiá) (FJ) (ROSSATO et al., 2014) em percentuais crescentes.

As dietas (Tabela 1) foram elaboradas onde primeiramente foram misturados os ingredientes secos com granulometria inferior a 75 µm (TROMBETTA et al., 2006). Depois de bem homogeneizado foi adicionado o fígado (massa úmida) e/ou água (quando necessário) até a mistura apresentar umidade suficiente para a peletização em moedor de carne. Posteriormente foi seca a 40°C por 24 horas em estufa com renovação de ar forçado. Após secas, as rações foram moídas e peneiradas, separando-se em porções compostas por partículas de 100-200 µm, 200-400 µm, 400-600 µm, 600-800 µm obtendo assim a granulometria adequada para a abertura da boca das pós-larvas. As dietas foram mantidas em refrigerador a 4°C e retiradas somente no momento da alimentação.

Os animais foram alimentados a cada 2 horas (h), entre oito e 20 h, a ração foi ofertada em quantidades que excediam a capacidade de ingestão dos peixes (RADÜNZ NETO, 2004). Antes de alimentar pela manhã e após a última oferta de alimento, os recipientes que continham a ração foram pesados para calcular a oferta de ração.

Diariamente, foi realizada a limpeza individual das unidades experimentais, para a retirada de pós-larvas mortas, fezes e sobra de ração. Meia hora após a segunda alimentação da manhã (10:30 h), foi realizada a sifonagem das unidades experimentais. Antes da alimentação das 18 horas (16:30 h) foi realizada a transferência das larvas com água, através da inclinação da bacia interna permitindo que as larvas sobrenadantes fossem transferidas para o outro reservatório limpo. Então, realizada nova sifonagem para retirada de eventuais sobras de ração e fezes dos animais suspensas no ambiente.

A cada sete dias, realizou-se biometria para acompanhamento do crescimento dos animais. Amostras de 10 pós-larvas por unidade experimental foram pesadas em balança digital (0,001 g) sem retorno. As medidas de comprimento total foram realizadas com o auxílio de quadro de papel milimetrado e/ou paquímetro digital.

Os animais foram sedados com benzocaína (50 mg/L) (AVMA, 2007) pesados e medidos para a obtenção dos seguintes dados: peso do peixe inteiro (g); Comprimento total: medidas da extremidade da cabeça até o final da nadadeira caudal (mm); Sobrevivência (todas as pós-larvas da unidade eram contadas); Fator de condição: $FC = (\text{Peso} \times 100) / (\text{Comprimento total}^3)$; Taxa de crescimento específico (%/dia): $TCE = (\ln(\text{peso final}) -$

\ln (peso inicial)/dias)*100; Ganho em peso diário (g): $GPD = (\text{peso final} - \text{peso inicial})/\text{dias}$; Produto peso versus sobrevivência.

Tabela 1. Dietas ofertadas às pós-larvas de jundiá em 28 dias de alimentação

INGREDIENTES (%)	Padrão*	5FJ	10FJ	15FJ	20FJ	25FJ
Levedura	37	37	37	37	37	37
Farinha de peixe	0	5	10	15	20	25
Fígado de aves ¹	30	25	20	15	10	5
Gema de ovo cozido	20	20	20	20	20	20
FAD	8	8	8	8	8	8
Lecitina de soja ²	2	2	2	2	2	2
Vitaminas ³	2	2	2	2	2	2
Fosfato bicálcico	1	1	1	1	1	1
Composição centesimal						
Massa Seca ⁴	92,08	91,43	93,00	93,11	94,95	95,13
Proteína Bruta ⁴	43,64	44,68	44,01	44,34	44,11	42,15
Energia Bruta ⁵	3993	3982	3972	3962	3951	3941
EE (gordura) ⁴	19,89	20,37	20,15	19,75	19,42	19,13
Matéria Mineral ⁴	6,19	4,10	5,15	6,01	6,95	6,57
FDN ⁴	9,71	8,35	8,00	7,70	7,43	7,78
Composição aminoacídica ⁶						
Aspargina	4,13	3,96	3,79	3,63	3,46	3,29
Glutamina	5,02	4,90	4,78	4,66	4,54	4,42
Serina	2,24	2,22	2,21	2,19	2,17	2,16
Glicina	1,82	1,79	1,76	1,73	1,69	1,66
Histidina	0,92	1,17	1,41	1,66	1,90	2,15
Taurina	0,05	0,09	0,13	0,17	0,21	0,25
Arginina	2,70	2,55	2,40	2,24	2,09	1,94
Treonina	2,03	2,01	1,98	1,96	1,94	1,91
Alanina	2,52	2,53	2,54	2,56	2,57	2,58
Prolina	1,70	1,78	1,85	1,93	2,00	2,08
Tirosina	1,43	1,42	1,42	1,41	1,40	1,40
Valina	2,54	2,48	2,42	2,36	2,30	2,24
Metionina	0,83	0,83	0,82	0,82	0,81	0,81
Cistina	0,55	0,52	0,50	0,47	0,45	0,42
Isoleucina	1,99	1,96	1,93	1,89	1,86	1,83
Leucina	3,33	3,25	3,17	3,08	3,00	2,91
Fenilalanina	1,91	1,88	1,86	1,83	1,80	1,78
Lisina	2,99	2,98	2,98	2,98	2,98	2,97

*Dieta formulada adaptada de Coldebella et al. (2011).¹Fígado de aves *in natura* com 25,9% de massa seca. ²Lecitina de soja, segundo Uliana et al. (2001). ³Trombetta et al. (2006). ⁴Analisada-Laboratório de Piscicultura – DZ/UFSM. ⁵Calculada. ⁶Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP (Laboratório de Fontes Protéicas). Tratamentos: Padrão – fígado mais levedura, 5; 10; 15; 20 e 25 % FJ (farinha de peixe – ROSSATO et al., 2014) em substituição ao fígado de aves. FDN: fibra em detergente neutro. FAD: farelo de arroz desengordurado. Perfil de aminoácidos das dietas, analisados via HPLC.

A análise do desenvolvimento muscular foi realizada a partir de amostras de cinco pós-larvas em cada período, coletadas ao iniciar a alimentação (102 Hpf) e a cada sete dias até o 28º dia de alimentação. Os tratamentos analisados foram aqueles que apresentaram o melhor (15FJ) e pior peso (Padrão). As amostras foram fixadas em solução Bouin por 12 horas e posteriormente conservadas em álcool 70%.

Os cortes seriados foram realizados a partir do primeiro raio da nadadeira dorsal. Lâminas histológicas desta região anatômica foram confeccionadas e avaliadas em fotomicroscópio de luz (Zeiss, modelo Primo Star). Com as imagens obtidas foi medida a espessura da musculatura paravertebral de cada indivíduo. Como forma de normalização dos dados das medidas de cada imagem foram medidas as espessuras da coluna vertebral cujo valor foi usado como denominador da razão espessura da musculatura/espessura da vértebra. Tal procedimento reduz o erro intrínseco da metodologia utilizada. Haja vista que diferentes peixes de diferentes amostras foram cortados em diferentes porções da região anatômica escolhida.

A metodologia usada para obtenção do diâmetro e número de fibras foi adaptada de Carani et al. (2008). Onde com o auxílio do fotomicroscópio de luz (Zeiss, modelo Primo Star) foram demarcadas cinco áreas amostrais em cada lâmina histológica e realizada a contagem e medida das fibras.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. Inicialmente, todos os dados obtidos foram submetidos a teste de normalidade de Shapiro-Wilk, sendo considerados de distribuição normal aqueles dados que apresentaram $P > 0,05$. Posteriormente foi realizada a análise de regressão e teste de Tukey para os diferentes níveis em teste. O nível mínimo de significância adotado na análise estatística foi de 5% ($p < 0,05$).

4.3 Resultados e discussão

A utilização de 15% de farinha de peixe (FJ) (ROSSATO et al., 2014) na dieta de pós-larvas de jundiá contribuiu para obtenção de animais sadios e com ótimo crescimento. Inicialmente as larvas mediam $5,50 \pm 0,29$ mm e pesavam $1,81 \pm 0,009$ mg em média, chegando ao final de 28 dias de alimentação com médias de 684,60 mg de peso para as pós-larvas que consumiram a dieta 15FJ (Tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros zootécnicos de pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas compostas de farinha de peixe

Variáveis	Padrão ¹	5FJ	10FJ	15FJ	20FJ	25FJ	P
7 dias							
Peso	10,0 ^a ± 0,64	7,83 ^b ± 0,6	8,8 ^{ab} ± 0,64	9,65 ^a ± 1,13	10,18 ^a ± 0,76	8,77 ^{ab} ± 1,13	*
CT	9,1 ^a ± 0,23	8,34 ^c ± 0,18	8,4 ^{bc} ± 0,20	8,65 ^{abc} ± 0,32	8,9 ^{ab} ± 0,24	8,37 ^c ± 0,29	**
FC	1,3 ± 0,12	1,3 ± 0,14	1,47 ± 0,10	1,49 ± 0,19	1,44 ± 0,10	1,51 ± 0,33	NS
TCE	24,4 ^a ± 0,9	20,8 ^b ± 1,1	22,5 ^{ab} ± 1,0	23,75 ^a ± 1,6	24,57 ^a ± 1,0	22,37 ^{ab} ± 1,8	*
GPD	1,2 ^a ± 0,09	0,85 ^b ± 0,1	1,0 ^{ab} ± 0,09	1,11 ^a ± 0,16	1,19 ^a ± 0,10	0,99 ^{ab} ± 0,16	*
14 dias							
Peso	19,5 ^b ± 8,0	21,3 ^b ± 7,85	29,09 ^{ab} ± 2,01	36,19 ^a ± 4,76	31,98 ^{ab} ± 9,08	28,78 ^{ab} ± 4,48	*
CT	11,8 ^b ± 1,8	12,28 ^{ab} ± 1,38	13,55 ^{ab} ± 0,36	14,43 ^a ± 0,97	14,39 ^a ± 1,53	13,71 ^{ab} ± 0,61	*
FC	1,1 ± 0,1	1,10 ± 0,03	1,17 ± 0,11	1,20 ± 0,13	1,05 ± 0,058	1,10 ± 0,034	NS
TCE	16,4 ^b ± 3,1	17,19 ^b ± 2,56	19,8 ^{ab} ± 0,49	21,30 ^a ± 0,92	20,21 ^{ab} ± 2,20	19,65 ^{ab} ± 1,09	*
GPD	1,2 ^b ± 0,6	1,39 ^b ± 0,56	1,94 ^{ab} ± 0,14	2,45 ^a ± 0,34	2,15 ^{ab} ± 0,65	1,92 ^{ab} ± 0,32	*
21 dias							
Peso	91,0 ^d ± 24,2	123,2 ^{cd} ± 18,7	171,5 ^{bc} ± 30,6	203,5 ^{ab} ± 28,7	250,2 ^a ± 34,5	219,5 ^{ab} ± 41,1	**
CT	19,1 ^d ± 1,7	21,26 ^{cd} ± 1,27	23,91 ^{bc} ± 1,55	25,28 ^{ab} ± 1,27	27,41 ^a ± 1,16	25,71 ^{ab} ± 1,30	**
FC	1,3 ± 0,03	1,27 ± 0,06	1,26 ± 0,18	1,25 ± 0,05	1,21 ± 0,05	1,28 ± 0,08	NS
TCE	18,5 ^d ± 1,3	20,02 ^{cd} ± 0,74	21,58 ^{bc} ± 0,86	22,42 ^{ab} ± 0,68	23,41 ^a ± 0,66	22,75 ^{ab} ± 0,9	**
GPD	4,2 ^d ± 1,1	5,78 ^{cd} ± 0,89	8,08 ^{bc} ± 1,45	9,6 ^{ab} ± 1,37	11,83 ^a ± 1,64	10,36 ^{ab} ± 1,95	**
28 dias							
Peso	259,9 ^c ± 74,1	338,9 ^c ± 18,8	528,0 ^b ± 81,4	684,6 ^a ± 47,2	649,58 ^{ab} ± 55,0	589,8 ^{ab} ± 83,1	**
CT	27,49 ^b ± 2,8	30,8 ^b ± 1,13	36,44 ^a ± 1,99	38,87 ^a ± 2,00	39,08 ^a ± 1,41	37,62 ^a ± 1,41	**
FC	1,29 ± 0,16	1,16 ± 0,09	1,08 ± 0,01	1,17 ± 0,13	1,08 ± 0,06	1,10 ± 0,03	NS
TCE	17,6 ^b ± 1,1	18,6 ^b ± 0,19	20,21 ^a ± 0,58	21,17 ^a ± 0,24	20,98 ^a ± 0,30	20,62 ^a ± 0,48	**
GPD	9,2 ^c ± 2,6	12,0 ^c ± 0,67	18,79 ^b ± 2,90	24,38 ^a ± 1,68	23,13 ^{ab} ± 1,96	20,99 ^{ab} ± 2,96	**
PxS	183,4 ^c ± 55,6	273,8 ^c ± 36,6	495,7 ^b ± 59,9	629,9 ^a ± 53,8	578,1 ^{ab} ± 53,2	532,4 ^{ab} ± 71,0	**
SOB	70,6 ^c ± 5,1	80,8 ^{bc} ± 11,9	93,88 ^a ± 6,23	92,02 ^{ab} ± 3,80	89,01 ^{ab} ± 1,97	90,27 ^{ab} ± 2,60	**

Valores expressos como média ± erro-padrão da média. Médias com letras diferentes, na linha, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,01). **P<0,0001; *P<0,001; NS (P>0,05). Tratamentos: Padrão (adaptada de COLDEBELLA et al., 2011); 5; 10; 15; 20 e 25 FJ (farinha de peixe - ROSSATO et al., 2014) em substituição ao fígado de aves. Variáveis: Peso: peso; CT: comprimento total; FC: fator de condição; TCE: taxa de crescimento específico; GPD: ganho de peso diário; PxS: produto peso versus sobrevivência; SOB: sobrevivência.

Aos 21 dias as pós-larvas que receberam as dietas 20FJ (250,22 mg), 15FJ (203,54 mg) e 25FJ (219,5 mg) apresentaram maior peso em relação aos animais que receberam às demais dietas (Tabela 2). As pós-larvas que consumiram a dieta Padrão apresentaram o menor peso em todos os períodos a partir dos 7 dias, chegando ao final do período com 259,88 mg. Aos 14 dias as pós-larvas alimentadas com a dieta padrão apresentaram maior peso (19,5 mg)

que o encontrado por Coldebella et al. (2011) utilizando dieta semelhante (11,76 mg). A utilização da farinha de peixe foi testada por Castañeda et al. (2011) encontrando peso de 2,98 mg para pós-larvas de jundiá quando incluíram 52% de farinha de pescado na dieta em 10 dias de alimentação. Em estudo com *Diplodus sargus* estudando nutrição aminoacídica, Saavedra et al. (2009) utilizaram na dieta padrão 15,9% de farinha de peixe e encontraram aos 25 dias após eclosão 0,97 mg de peso. A combinação de ovo de peixe mais levedura de pão foi testada por Hernández et al. (2009), onde encontraram aos 21 dias de alimentação, larvas de jundiá com peso superior a 300 mg.

O comprimento total ao final do experimento foi maior para as pós-larvas alimentadas com as dietas 10FJ; 15FJ; 20FJ e 25FJ. O fator de condição não apresentou diferença para nenhuma dieta testada (Tabela 2). Aos 14 dias as pós-larvas do tratamento 15FJ apresentaram 14,43 mm de comprimento total. Aos sete dias de alimentação os animais que receberam a dieta padrão apresentaram comprimento total de 9,10 mm. Sendo este superior ao encontrado por Salhi e Bessonart (2013) alimentando a mesma espécie com dietas baseadas em farinha de peixe como principal fonte proteica, comprimento total de 8,3 mm em 12 dias de alimentação. E superior ao encontrado por Castañeda et al. (2011), 7,33 mm em 10 dias, alimentando com dieta composta de 52% de farinha de pescado. Aos 21 dias as pós-larvas alimentadas com a dieta padrão apresentaram comprimento total (19,07 mm) semelhante ao encontrado por Fontinelli e Radünz Neto (2007) (18,9 mm) com dieta semelhante, mas inferior ao comprimento das pós-larvas alimentadas com a dieta 20FJ (27,41 mm) aos 21 dias de alimentação.

O ganho em peso diário foi maior para as pós-larvas alimentadas com a dieta 15FJ (24,38 mg/dia), não diferindo das pós-larvas alimentadas com as dietas 20FJ e 25FJ (23,13 e 20,99 mg/dia, respectivamente). A redução do ganho em peso com o aumento da inclusão da farinha de peixe pode ter sido influenciada pela maior complexidade das proteínas da farinha de peixe que são de difícil digestão durante os estádios iniciais de larvas (CONCEIÇÃO et al., 2007). A utilização de farinha de resíduo de filetagem de tilápia foi utilizada por Boscolo et al. (2012) para lambaris (*Astyanax bimaculatus*) com 0,087 g em 32 dias de alimentação apresentaram 1,8 g de peso, resultados estes inferiores ao encontrado neste estudo.

A taxa de crescimento específico aos 28 dias (Tabela 2) foi menor para as pós-larvas alimentadas com as dietas padrão e 5FJ (17,59 e 18,66 %/dia). A maior taxa foi apresentada pelas pós-larvas que consumiram a dieta 15FJ (21,17 %/dia) seguida das dietas 20FJ e 25FJ (20,98 e 20,62 %/dia, respectivamente). Em estudo com alimentação de reprodutores e seus efeitos sobre a prole, Coldebella et al. (2011) encontraram taxas de crescimento específico

(13,45 %/dia) das pós-larvas aos 14 dias menores, utilizando dieta padrão semelhante a utilizada no presente estudo, onde foi encontrado 16,41 %/dia no mesmo período. Analisando o mesmo parâmetro, Saavedra et al. (2009), em estudo com *Diplodus sargus* encontraram aos 25 dias após eclosão, 14,52 %/dia de taxa de crescimento específico, resultados estes inferiores aos encontrados no presente estudo. Em estudo utilizando fontes não-convencionais de proteína para o jundiá, Hernández et al. (2009) encontraram taxas de crescimento específico acima de 20 %/dia aos 21 dias de alimentação.

A sobrevivência foi maior para as pós-larvas que receberam a dieta 10FJ com 93,88% aos 28 dias de alimentação (Tabela 2) não diferindo das dietas 15FJ; 20FJ e 25FJ. Por isso, podemos considerar a larvicultura intensiva uma alternativa para melhorar as taxas de sobrevivência iniciais (PORTELLA et al., 2014) de larvas e pós-larvas de peixes. A inclusão de 52% de farinha de pescado resultou em 24,8% de sobrevivência das pós-larvas de jundiá (CASTAÑEDA et al., 2011). Para o *Diplodus sargus*, a utilização de 15,9% de farinha de peixe, resultou em 6,2% de sobrevivência aos 25 dias após eclosão (SAAVEDRA et al., 2009). Segundo Cardoso et al. (2004), as principais perdas no período larval do jundiá, ocorrem pela falta de alimentação adequada durante a troca da alimentação endógena (reservas vitelinas) para a alimentação exógena (alimento natural ou artificial). Sendo assim, podemos afirmar que as dietas granuladas balanceadas utilizadas neste estudo são eficientes para o desenvolvimento inicial das pós-larvas desta espécie.

Neste trabalho a inclusão de até 20% de farinha de peixe foi adequada, percentuais maiores de inclusão reduziram o crescimento dos animais (Tabela 3). Estes resultados corroboram com estudos sobre dinâmica de absorção de aminoácidos livres, peptídeos e proteínas hidrolisadas ou intactas pelas larvas de peixes realizados por Rønnestad et al. (2000); Rojas-garcía e Rønnestad (2003); Tonheim et al. (2005), demonstrando que estas têm dificuldade em digerir dietas contendo proteínas complexas, como é o caso das dietas contendo grandes quantidades de farinha de peixe (CONCEIÇÃO et al., 2009). As dietas com mais que 15% de FJ apresentaram maiores percentuais dos aminoácidos prolina, histidina e taurina (Tabela 1), o que pode ter contribuído para melhorar o crescimento, tendo em vista que a taurina pode ser considerada promotor de crescimento, pois ela não forma proteína, mas participa de diversos processos que atuam melhorando o metabolismo e aumentando a eficiência do crescimento e deposição muscular (DIVAKARAN, 2006).

A oferta de alimento foi medida diariamente para cada tratamento. As pós-larvas que consumiram as dietas 15FJ e 25FJ foram as que receberam maiores quantidades de alimento.

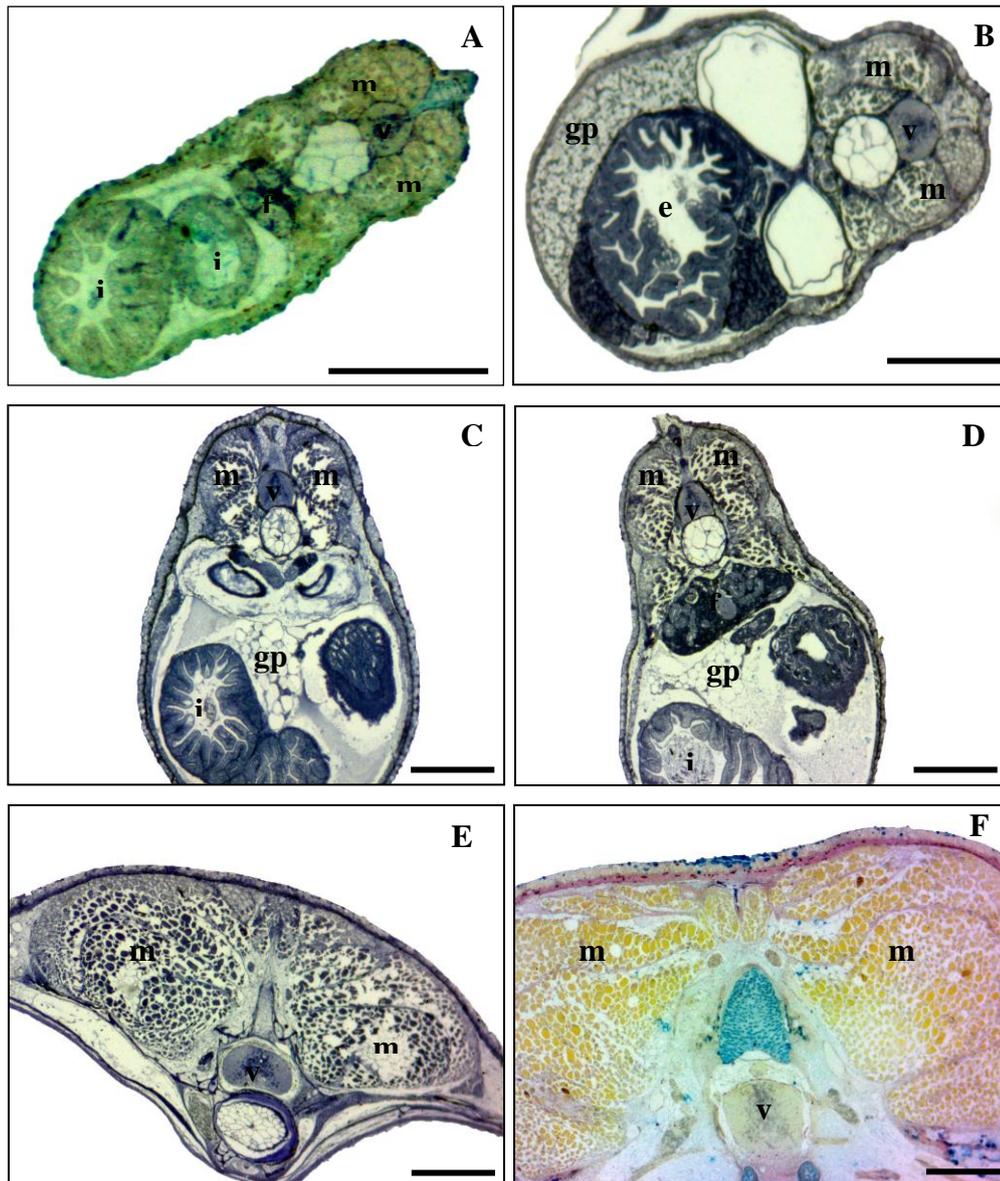


Figura 1. Exemplos de pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas compostas de farinha de peixe. Padrão (A, C e E) e 15FJ (B, D e F) tempos (7, 14 e 28 dias) em cortes seriados transversais. (m) músculo, (i) intestino, (v) vértebra, (gp) gordura perivisceral, (f) fígado. Escala 1 mm.

Os animais da dieta 15FJ receberam 2,5; 3,05; 4,75 e 5,03 gramas por dia, 25FJ (3,73; 3,29; 4,83 e 3,66), 10FJ (2,37; 3,08; 4,54 e 4,62), 20FJ (2,23; 3,42; 4,03 e 5,20), Padrão (3,64; 3,34; 4,23 e 3,87) nos 0-7, 8-14, 15-21 e 22-28 dias de alimentação. O 5FJ foi o que consumiu menos (1,75; 2,87; 3,73g e 3,95g) nos 0-7, 8-14, 15-21 e 22-28 dias, respectivamente. Os animais receberam alimento à vontade conforme seu comportamento frente ao alimento fornecido. A quantificação do consumo de alimento é essencial em qualquer estudo de

nutrição, sem a qual não se pode compreender a eficiência de utilização dos nutrientes (CONCEIÇÃO et al., 2007).

O desenvolvimento do sistema muscular foi analisado através dos cortes histológicos, onde observamos que as pós-larvas alimentadas com a dieta 15FJ apresentaram maior tamanho, em consequência disso, maior quantidade de fibras musculares. A compreensão dos padrões de desenvolvimento e crescimento normal das larvas podem ser consideradas ferramentas úteis para monitorar e aperfeiçoar a produção em larvicultura (KHEMIS et al., 2013).

Ao iniciar a alimentação as pós-larvas apresentaram fibras de diâmetros semelhantes (20,12 μm) (Tabela 3), aos 14 dias ocorreu aumento significativo (63 e 84 μm) e aos 21 dias estabilização (60 e 83 μm), respectivamente para os animais alimentados com a dieta padrão e 15FJ. Aos 28 dias para os animais alimentados com a dieta padrão aumentaram (89 μm) e para o tratamento 15FJ reduziram (80 μm) o diâmetro das fibras musculares. Estes resultados corroboram com o estudo com exemplares de pirarucu (*Arapaima gigas*) realizado por Carani et al. (2008) onde encontraram para alevinos maioria das fibras com diâmetro inferior a 30 μm , destacando a possibilidade de haver maior aumento da massa muscular e indicando possibilidade de hiperplasia das fibras (LEITÃO et al., 2011).

Na análise com juvenis, estes apresentaram a maior parte das fibras com diâmetro acima de 30 μm , estando relacionado possivelmente à fusão dos mioblastos a fibras pré-existentes e à intensa atividade de síntese proteica (CARANI et al., 2008). Segundo Leitão et al. (2011), alta frequência de fibras maiores que 40 μm , indicam hipertrofia. Os resultados encontrados no presente estudo estão de acordo com Johnston (1999) quando afirmam que as fibras musculares, vermelha e branca maduras raramente ultrapassam os 50 e 200 μm de diâmetro, respectivamente. Na faixa de variação do comprimento total de 2 até 50 cm, o diâmetro das fibras musculares aumenta de menos que 40 μm para cerca de 120 μm (WEATHERLEY e GILL., 1981). Nesta fase a hiperplasia originada da mitose das células satélite musculares é a maior responsável pelo crescimento do tecido muscular. Para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), Furuya et al. (2005) encontraram diâmetros de 36,65 μm para as fibras brancas, 24,85 μm para as fibras intermediárias e 58,73 μm para as fibras vermelhas em animais com peso inicial de 4,4 gramas. Em estudo com salmão do atlântico (*Salmo salar*) por Johnston et al. (2003b), encontraram diâmetro de fibras de 150 μm em 40 dias.

A mensuração do diâmetro das fibras constitui-se em um atributo importante na avaliação não somente do crescimento muscular, como também na verificação do tipo de fibra

mais susceptível aos fatores nutricionais (FURUYA et al., 2005). O recrutamento de fibras musculares termina quando não há mais fibras menores (4 a 10 μm) de diâmetro (JOHNSTON et al., 2004).

Tabela 3. Desenvolvimento muscular de pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas compostas de farinha de peixe

Dias/dietas	Padrão	15FJ	P
Diâmetro da fibra (μm)			
0	20,12 \pm 4,77	-	-
7	38,37 \pm 8,55	37,30 \pm 4,41	0,79
14	63,68 ^b \pm 4,00	84,36 ^a \pm 10,84	<0,0001
21	60,99 ^b \pm 16,89	83,54 ^a \pm 20,03	<0,0001
28	89,67 ^a \pm 18,32	80,45 ^b \pm 15,24	0,026
Número de fibras/mm ²			
0	0,057 \pm 0,014	-	-
7	0,015 \pm 0,004	0,0122 \pm 0,002	0,13
14	0,0039 ^a \pm 0,005	0,003 ^b \pm 0,004	0,0025
21	0,007 ^a \pm 0,003	0,003 ^b \pm 0,0004	0,0008
28	0,003 \pm 0,0003	0,0029 \pm 0,0006	0,44
Número total de fibras			
0	12228 \pm 4342	-	-
7	12426 ^b \pm 2575	15696 ^a \pm 3357	<0,0001
14	44750 ^a \pm 11113	35977 ^b \pm 5210	0,034
21	248877 \pm 115106	282476 \pm 42641	0,398
28	564534 ^b \pm 104027	1582627 ^a \pm 270792	<0,0001

Valores expressos como média \pm erro-padrão da média. Médias com letras diferentes, na linha, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,01). Tratamentos: 15FJ - substituição de 50% do fígado de aves por farinha de peixe (ROSSATO et al., 2014) e Padrão - adaptada de COLDEBELLA et al. (2011).

O número de fibras/mm² (Tabela 3) foi maior nos dias iniciais de alimentação (0,057), reduzindo conforme seu crescimento, onde os animais que receberam a dieta padrão apresentaram aos 21 dias número semelhante de fibras (0,007) ao encontrado por Johnston et al. (2003b), que encontraram para o salmão do atlântico (0,00644) quando submetidos a quantidades normais de luminosidade por 40 dias. Em estudo com várias espécies, Johnston et al. (2003a) encontrou densidades de fibras de 0,025 e 0,020 para diâmetros de fibras até 100

µm para *Eleginops maclovinus* e *Patagonotothen tessellata*, com tamanhos de 4,4 e 3,3 cm, respectivamente.

O número total de fibras (Tabela 3) foi maior para as pós-larvas alimentadas com a dieta 15FJ, estas apresentaram maior área muscular (Figura 1) devido ao máximo crescimento apresentado. Estes resultados podem ter sido obtidos devido à dieta 15FJ apresentar adequado balanceamento de aminoácidos, relação lisina/metionina de 57%. Esta relação para o catfish (*Ictalurus punctatus*) é de 60% (HARDING et al., 1977). O número de fibras musculares recrutadas, segundo Johnston (1999) varia entre as famílias e é influenciado por fatores ambientais, incluindo dieta, exercício, regimes de luz e temperatura. Quando o número máximo de fibra é atingido, a formação de miotubos é inibida, a menos que o músculo esteja lesionado. O número de fibras varia entre e dentro das espécies, e é fortemente correlacionada com o tamanho do corpo (JOHNSTON et al., 2011).

4.4 Conclusão

A substituição parcial (50%) do fígado de aves por farinha de peixe melhorou o balanceamento da dieta, o crescimento e o desenvolvimento muscular das pós-larvas de jundiá.

4.5 Agradecimentos

À Universidade Federal de Santa Maria pelas instalações e equipamentos disponibilizados para a realização dos experimentos. À CAPES pelo período de bolsa. À ICC pela doação da levedura de cana. À FAPERGS pela bolsa de iniciação científica. Ao IFSC (Professor Eduardo Cargnin Ferreira) pelas análises histológicas. À FAPERGS – Processo 11.1175-1 pelo apoio financeiro.

4.6 Referências bibliográficas

ABOWEI, J.F.N.; EKUBO, A.T. A review of conventional and unconventional feeds in fish nutrition. **British Journal of Pharmacology and Toxicology**, v.2, p.179-191, 2011.

ALAMI-DURANTE, H.; ROUEL, M.; KENTOURI, M. New insights into temperature-induced white muscle growth plasticity during *Dicentrarchus labrax* early life: a developmental and allometric study. **Marine Biology**, v.149, p.1551-1565, 2006.

American Veterinary Medical Association (AVMA). **Guidelines on Euthanasia** (Formerly Report of the AVMA Panel on Euthanasia) American Veterinary Medical Association (AVMA), United States of America, 2007.

BOSCOLO, W.R.; FEIDEN, A.; SIGNOR, A.A.; KLEIN, S.; BITTENCOURT, F.; CORRÊIA, A.F. Resíduos da indústria de filetagem de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) na forma de farinhas e silagem para a alimentação de lambari (*Astianax bimaculatus*). **Revista Acadêmica Ciência Agrária Ambiental**, v.10, p.189-195, 2012.

BOSCOLO, W.R.; HAYASHI, C.; FEIDEN, A.; MEURER, F.; SIGNOR, A.A. Composição química e digestibilidade aparente da energia e nutrientes da farinha de resíduos da indústria de filetagem de tilápias, para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Ciência Rural**, v.38, p.2579-2586, 2008.

CASTAÑEDA, G.; ESQUIVEL, J.; MUELBERT, B.; VÁSQUEZ-TORRES, W.; MACHADO, D. Larvicultura de *Rhamdia quelen* (Pisces, Pimelodidae) con proteína vegetal y animal, suplementadas con plancton. **Revista MVZ Córdoba**, v.16, p.2678-2685, 2011.

CARANI, F.R.; AGUIAR, D.H.; ALMEIDA, F.L.A.; GONÇALVES, H.S.; PADOVANI, C.R.; DAL PAI SILVA, M. Morfologia e crescimento do músculo estriado esquelético no pirarucu *Arapaima gigas* Cuvier, 1817 (Teleostei, Arapaimidae). **Acta Scientiarum-Biological Sciences**, v.30, p.205-211, 2008.

CARDOSO, A.P.; RADÜNZ NETO, J.; MEDEIROS, T.S.; KNÖPKER, M.A.; LAZZARI, R. Criação de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentadas com rações granuladas contendo fígados ou hidrolisados. **Acta Scientiarum-Animal Sciences**, v.26, p.457-462, 2004.

COLDEBELLA, I.J.; RADÜNZ NETO, J.; MALLMANN, C.A.; VEIVERBERG, C.A.; BERGAMIN, G.T.; PEDRON, F.A.; FERREIRA, D.; BARCELLOS, L.J.G. The effects of different protein levels in the diet on reproductive indexes of *Rhamdia quelen* females. **Aquaculture**, v.312, p.137-144, 2011.

CONCEIÇÃO, L.; MORAIS, S.; ARAGÃO, C. Fluxos de nutrientes em larvas de peixes: aplicação de técnicas com marcadores isotópicos e de modelação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.11-20, 2007.

CONCEIÇÃO, L.E.C.D.; ARAGÃO, C.; RICHARD, N.; ENGROLA, S.; GAVAIA, P.; MIRA, S.; DIAS, J. Avanços recentes em nutrição de larvas de peixes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.26-35, 2009.

DIVAKARAN, S. **Taurine: an amino acid rich in fish meal**. Avances en nutrición acuícola VIII. In: VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 15-17 Nov.Universidad Autónoma de Nuevo León. México, 2006. p.310-317.

ENKE, D.B.S.; LOPES, P.S; KICH, H.A.; BRITTO, A.P.; SOQUETTA, M.; POUHEY, J.L.O.F. Utilização de farinha de silagem de pescado em dietas para o jundiá na fase juvenil. **Ciência Rural**, v.39, p.871-877, 2009.

ESTÊVÃO, M.D.; SILVA, N.; REDRUELLO, B.; COSTA, R.; GREGÓRIO, S.; CANÁRIO, A. V.; POWER, D. M. Cellular morphology and markers of cartilage and bone in the marine teleost *Sparus auratus*. **Cell and Tissue Research**, v.343, p.619-635, 2011.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture. 2014. Roma, Italy. 244p. Disponível em: www.fao.org/3/a-i3807e.pdf. Acesso em: 26 de janeiro de 2015.

FONTINELLI, E.; RADÜNZ NETO, J. Efeito do concentrado proteico de soja em rações, com e sem suplementação em aminoácidos, para pós-larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Revista Brasileira de Agrociência**, v.13, p.225-229, 2007.

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

HARDING, D.E.; ALLEN JR, O.W.; WILSON, R.P. Sulfur amino acid requirement of channel catfish: L-methionine and L-cystine. **The Journal of Nutrition**, v.107, p.2031-2035, 1977.

HERNÁNDEZ, D.R.; SANTINÓN, S.S.J.J.; DOMITROVIC, H.A. Fontes não-convencionais de proteína na primeira alimentação do bagre sul americano (*Rhamdia quelen*). **Ciência Rural**, v.39, p.878-884, 2009.

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

JOHNSTON, I.A.; FERNÁNDEZ, D.A.; CALVO, J.; VIEIRA, V.L.; NORTH, A.W.; ABERCROMBY, M.; GARLAND, T. Reduction in muscle fibre number during the adaptive radiation of notothenioid fishes: a phylogenetic perspective. **Journal of Experimental Biology**, v.206, p.2595-2609, 2003a.

JOHNSTON, I.A.; MANTHRI, S.; SMART, A.; CAMPBELL, P.; NICKELL, D.; ALDERSON, R. Plasticity of muscle fiber number in seawater stages of atlantic salmon in response to photoperiod manipulation. **Journal of Experimental Biology**, v.206, p.3425-3435, 2003b.

JOHNSTON, I.A.; ABERCROMBY, M.; VIEIRA, V.L.; SIGURSTEINDÓTTIR, R.J.; KRISTJÁNSSON, B.K.; SIBTHORPE, D.; SKÚLASON, S. Rapid evolution of muscle fibre number in post-glacial populations of Arctic charr *Salvelinus alpinus*. **Journal of Experimental Biology**, v.207, p.4343-4360, 2004.

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

KHEMIS, I.B.; GISBERT, E.; ALCARAZ, C.; ZOUITEN, D.; BESBES, R.; ZOUITEN, A.; MASMOUDI, A.S.; CAHU, C. Allometric growth patterns and development in larvae and juveniles of thick-lipped grey mullet *Chelon labrosus* reared in mesocosm conditions. **Aquaculture Research**, v.44, p.1872-1888, 2013.

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

PERÁGON, J.; BARROSO, J.B.; GARCÍA-SALGUERO, L.; HIGUERA, M.; LUPIÁÑEZ, J.A. Dietary protein effects on growth and fractional protein synthesis and degradation rates in liver and white muscle of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.124, p.35-46, 1994.

PIAIA, R.; RADÜNZ NETO, J. Avaliação de diferentes fontes protéicas sobre o desempenho inicial de larvas do jundiá *Rhamdia quelen*. **Ciência Rural**, v.27, p.319-323, 1997b.

PORTELLA, M.C.; LEITÃO, N.J.; TAKATA, R.; LOPES, T.S. Alimentação e nutrição de larvas. In: **NUTRIAQUA: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**, 2012. cap.9, p.185- 216.

PORTELLA, M.C.; JOMORI, R.K.; LEITÃO, N.J.; MENOSSI, O.C.C.; FREITAS, T.M.; KOJIMA, J.T.; LOPES, T.S.; CLAVIJO-AYALA, J.A.; CARNEIRO, D.J. Larval development of indigenous south american freshwater fish species, with particular reference to pacu (*Piaractus mesopotamicus*): A review. **Aquaculture**, v.432, p.402-417, 2014.

RADÜNZ NETO, J. Manejo alimentar – Nutrição. In: BALDISSEROTTO, B.; RADÜNZ NETO, J. **Criação de Jundiá**. Santa Maria: Ed.UFSM, 2004, cap.8, p.143-157.

ROJAS-GARCÍA, C.R.; RØNNESTAD, I. Assimilation of dietary free amino acids, peptides and protein in post-larval atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). **Marine Biology**, v.142, p.801-808, 2003.

RØNNESTAD, I.; CONCEIÇÃO, L.E.C.; ARAGÃO, C.; DINIS, M.T. Free amino acids are absorbed faster and assimilated more efficiently than protein in postlarval senegal sole (*Solea senegalensis*). **Journal of Nutrition**, v.130, p.2809-2812, 2000.

ROSSATO, S. **Resíduos de processamento de jundiá (*Rhamdia quelen*) e seu valor nutricional em dietas para peixes**. 2012. 83 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria/RS, 2012.

ROSSATO, S.; LAZZARI, R.; FREITAS I.L.; MASCHIO, D.; CORRÊIA, V.; RADÜNZ NETO, J. Diferentes níveis de incorporação de farinha de resíduos de jundiás (*Rhamdia quelen*) cultivados na dieta. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, p.894-902, 2014.

SAAVEDRA, M.; BARR, Y.; POUSÃO-FERREIRA, P.; HELLAND, S.; YÚFERA, M.; DINIS, M.T.; CONCEIÇÃO, L.E.C. Supplementation of tryptophan and lysine in *Diplodus sargus* larval diet: effects on growth and skeletal deformities. **Aquaculture Research**, v.40, p.1191-1201, 2009.

SALHI, M.; BESSONART, M. Growth, survival and fatty acid composition of *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard, 1824) larvae fed on artificial diet alone or in combination with artemia nauplii. **Aquaculture Research**, v.44, p.41-49, 2013.

TACON, A.G.J. Trends in Aquaculture production with particular reference to low income food deficit Countries 1984-1993. **Food Aquaculture**, v.12, p.6-9, 1996.

TONHEIM, S.K.; ESPE, M.; HAMRE, K.; RØNNESTAD, I. Pre-hydrolysis improves utilisation of dietary protein in the larval teleost atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.321, p.19-34, 2005.

TROMBETTA, C.G.; RADÜNZ NETO, J.; LAZZARI, R. Suplementação vitamínica no desenvolvimento de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência e Agrotecnologia**, v.30, p.224-229, 2006.

TRONCO, A.P.; RADÜNZ NETO, J.; MEDEIROS, T.S.; LIMA, R.L. Alimentação de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) com dietas semipurificadas e fontes lipídicas. **Boletim Instituto de Pesca**, v.33, p.9-17, 2007.

ULIANA, O.; SILVA, J.H.S.; RADÜNZ NETO, J. Diferentes fontes de lipídios testadas na criação de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*), Pisces, Pimelodidae. **Ciência Rural**, v.31, p.129-133, 2001.

WEATHERLEY, A.H.; GILL, H.S. Characteristics of mosaic muscle growth in rainbow trout *Salmo gairdneri*. **Experientia**, v.37, p.1102-1103, 1981.

CAPÍTULO V

ATIVIDADE DE ENZIMAS DIGESTIVAS EM PÓS-LARVAS DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) ALIMENTADAS COM DIETAS COMPOSTAS DE FARINHA DE PEIXE¹

Resumo: As enzimas digestivas para muitas espécies de peixes já estão ativas no momento da eclosão. O jundiá é uma espécie adaptada a receber alimento seco granulado desde sua primeira alimentação e já possui algumas enzimas ativas neste momento. A farinha de peixe é um ingrediente de alto valor biológico e bom equilíbrio em aminoácidos essenciais. Com este trabalho, objetivou-se estudar a atividade enzimática das larvas, analisar a influência da inclusão da farinha de peixe na atividade enzimática e no desenvolvimento do sistema digestório de pós-larvas de jundiá. Foram utilizadas as dietas: Padrão, 5% de farinha de peixe (FJ); 10FJ; 15FJ; 20FJ e 25FJ em substituição ao fígado de aves (30%). Analisado o perfil lipídico das dietas, medido a atividade das enzimas digestivas (protease ácida, tripsina, quimotripsina, lipase, amilase e maltase) e analisado histologicamente o desenvolvimento do sistema digestório (SD). As coletas para quantificação da atividade enzimática iniciaram à partir de quatro horas após fertilização (Hpf) e após o início da alimentação foram coletadas amostras em maiores intervalos de tempo para enzimas e análise do SD. As enzimas já estavam presentes e ativas às 4Hpf. O perfil lipídico adequado da dieta 15FJ contribuiu para o máximo ganho em peso. A atividade enzimática das pós-larvas não sofreu prejuízos com as diferentes dietas. Não foram observadas alterações na mucosa do trato digestório em decorrência da inclusão da farinha de peixe. As enzimas foram detectadas precocemente nas larvas de jundiá, a atividade enzimática e desenvolvimento do sistema digestório das pós-larvas não sofreram alteração devido à inclusão da farinha de peixe na dieta.

Palavras-chave: Perfil lipídico. Protease ácida. Tripsina. Quimotripsina. Lipase

¹Os procedimentos experimentais deste trabalho foram aprovados pelo comitê de ética no uso dos animais - UFSM, parecer nº062/2013.

5.1 Introdução

As larvas de peixe possuem enzimas digestivas eficientes antes mesmo do início da alimentação exógena, isso é possível devido a funções digestivas de diferentes órgãos, como pâncreas e intestino, mas para que isso ocorra, o alimento ofertado tem que suprir suas necessidades nutricionais específicas (CAHU e ZAMBONINO INFANTE, 2001; SALHI e BESSONART, 2013). Espécies que possuem trato alimentar estruturalmente e funcionalmente diferenciado têm menos problemas ao iniciar a alimentação exógena (NRC, 2011).

O jundiá (*Rhamdia quelen*) é adaptado a receber ração granulada desde as primeiras alimentações (PIAIA e RADÜNZ NETO, 1997b). Estudos histológicos mostram o aparecimento e desenvolvimento do trato gastrointestinal nesta espécie (SILVEIRA et al., 2013). Estudos relacionados à fisiologia digestiva são essenciais para melhorar a sobrevivência após a eclosão, pois altas mortalidades são relatadas durante a larvicultura (AHUMADA-HERNÁNDEZ et al., 2014). A atividade de enzimas digestivas desde a eclosão até o período juvenil pode ser utilizado como um indicador do estado nutricional nesta fase precoce da vida (GALAVIZ et al., 2011; BABAEI et al., 2011).

A farinha de peixe, por apresentar elevado valor biológico e equilíbrio em aminoácidos essenciais, é considerada alimento padrão para ensaios experimentais (TACON, 1996; ENKE et al., 2009), principalmente para larvicultura. Mas o grande problema enfrentado atualmente é o aumento na demanda, devido ao crescimento da aquicultura, causando menor disponibilidade deste produto no mercado mundial e conseqüentemente o aumento do seu custo (BOSCOLO et al., 2008). Atualmente a farinha de peixe é utilizada na aquicultura como ingrediente estratégico para fases críticas do ciclo de vida animal, fases iniciais de desenvolvimento, devido a sua exclusiva qualidade nutricional. A farinha de peixe foi confeccionada a partir de resíduos de processamento e descartes de jundiás e testada com resultados satisfatórios para juvenis de jundiá (ROSSATO et al., 2014), considerada alternativa a escassez e custo elevado da farinha de peixe comercial.

As primeiras enzimas que atuam sobre o alimento, para a maioria das espécies de peixes, são a tripsina e quimotripsina provenientes do intestino, posteriormente começam a atuar as proteases e depois a lipase, amilase e maltase (LAZO et al., 2011). Nos peixes, as enzimas digestivas desempenham o principal papel na hidrólise de proteínas, hidratos de carbono e de lipídios, formando pequenas unidades absorvíveis. A caracterização e

quantificação da atividade das enzimas podem contribuir para compreendermos melhor a fisiologia digestiva dos peixes (JI et al., 2012). A atividade enzimática normalmente está relacionada com o hábito alimentar da espécie (COSTA et al., 2011). A nutrição lipídica em larvicultura é muito importante, além das proteínas que compõem a dieta, os lipídios são de fundamental importância para o desenvolvimento das larvas e pós-larvas de peixes (ULIANA et al., 2001). Elevadas concentrações de ácidos graxos poliinsaturados da série n-3, devem estar prontamente disponíveis nos alimentos principalmente nas fases iniciais de desenvolvimento (FONTAGNÉ-DICHARRY et al., 2014). As larvas de jundiá conseguem alongar e dessaturar o ácido linolênico (C18:3 n-3) a ácidos graxos altamente insaturados n-3 (SALHI e BESSONART, 2013).

Com base no exposto acima, objetivou-se estudar a atividade enzimática das larvas, analisar a influência da inclusão da farinha de peixe na atividade enzimática e no desenvolvimento do sistema digestório de pós-larvas de jundiá.

5.2 Material e métodos

O trabalho foi realizado no Laboratório de Piscicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria. Os animais foram alimentados com dietas granuladas por 28 dias, alojados em sistema de recirculação composto de 30 unidades experimentais. Foram testados seis tratamentos (dietas) em cinco repetições. Cada unidade era composta de dois recipientes plásticos dotados de tela lateral para impedir a saída das pós-larvas. Com abastecimento e escoamento individuais, conectados em sistema de recirculação de água termorregulado e filtro biológico. A vazão utilizada em cada recipiente foi de 0,20 L/min na primeira semana experimental (TRONCO et al., 2007), sendo aumentada gradativamente durante o período experimental. Foram utilizadas 240 larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) por unidade experimental totalizando 45 pós-larvas por litro. Os animais foram alimentados a cada 2 horas, entre 08h e 20h, em quantidades que excediam a sua capacidade de ingestão (RADÜNZ NETO, 2004).

As dietas testadas foram: Padrão; 5% farinha de peixe (FJ); 10FJ; 15FJ; 20 FJ e 25 FJ. A dieta padrão constituía-se por fígado de aves *in natura* (30% - 25,9% MS), levedura de cana (37%), gema de ovo cozido (20%), lecitina de soja (2%), farelo de arroz desengordurado (8%), minerais (1%) e vitaminas (2%) (adaptada de COLDEBELLA et al., 2011). Nas demais

dietas, o fígado de aves foi substituído por farinha de peixe (jundiá) (FJ) (ROSSATO et al., 2014) em percentuais crescentes. As dietas foram elaboradas, onde primeiramente foram misturados os ingredientes secos (granulometria inferior a 75 μm) (TROMBETTA et al., 2006). Depois de bem homogeneizados foi adicionado o fígado e/ou água (quando necessário) até a mistura apresentar umidade suficiente para a peletização em moedor de carne. Posteriormente foi seca a 40°C por 24 horas em estufa com renovação de ar. Após secas, as rações foram moídas e peneiradas, separando-se em porções compostas por partículas de 100-200 μm , 200-400 μm , 400-600 μm , 600-800 μm obtendo-se assim a granulometria adequada para a abertura da boca das pós-larvas. As dietas foram mantidas em refrigerador à 4°C e retiradas somente no momento da alimentação. O pH das rações experimentais foi analisado utilizando pHmetro (modelo MPA – 210 P). Foi utilizada amostra de cinco gramas da dieta em 50 ml de água destilada.

O perfil lipídico (Tabela 2) das dietas foi analisado por Cromatografia Gasosa. Alíquotas (2 ml) do extrato lipídico de clorofórmio de Bligh e Dyer (1959) foram evaporados a 50°C, utilizando bomba de vácuo. Seguida por saponificação em solução de KOH metanólico e esterificação em solução de H₂SO₄ metanólico (HARTMAN e LAGO, 1973). Os ácidos graxos metilados foram analisados usando cromatógrafo gasoso Agilent Technologies (HP 6890) equipado com coluna capilar SP™ -2560 (sílica fundida, 100 mx 0,25 mm x 0,20 μm , espessura de filme) e detector de ionização de chama. A temperatura da porta do injetor foi de 250°C e o gás transportador era nitrogênio (1,5 mL / min). Após injeção (1 μL , relação de separação de 50: 1), a temperatura do forno foi aumentada de 90°C a 170°C por 6°C / min, depois aumentada em 3°C / min até 185°C e mantida a esta temperatura durante 6 minutos. Posteriormente aumentada até 240°C a 3°C / min e mantida esta temperatura durante 8 minutos. A duração total da análise foi de 55 min. Ésteres metílicos de ácidos graxos padrão (Sigma, St. Louis, EUA) foram usados para identificar os ácidos graxos submetidos às mesmas condições e tempos de retenção. Os resultados foram expressos como percentagem da área total dos ácidos graxos identificados.

As coletas para quantificação da atividade enzimática iniciaram à partir de quatro horas após fertilização. Foram coletadas cinco amostras de cada período – 4, 28, 42, 66, 80 e 86 horas após a fertilização (Hpf). Após o início da alimentação foram coletadas inicialmente cinco pós-larvas por unidade experimental, totalizando 25 exemplares por tratamento nos períodos – 102, 126, 150, 174, 198, 222, 246, 270, 294, 342, 390 horas após fertilização. Posteriormente foram coletadas 2 pós-larvas por unidade experimental (10 pós-larvas por tratamento) às 438, 486, 534, 582, 654 e 726 Hpf. As amostras foram coletadas sempre pela

manhã antes da alimentação. Os animais foram abatidos por hipotermia para que não houvesse influência de anestésicos na amostra. Cada unidade experimental consistia em uma repetição, ou seja, as pós-larvas coletadas eram homogeneizadas conjuntamente formando a amostra a ser analisada em duplicata ou quadruplicata.

As amostras foram homogeneizadas com solução tampão pH 7,0 na proporção de 0,1 mg de tecido para cada 1 ml de solução. Posteriormente centrifugados a 3500 RPM por 10 minutos. Os sobrenadantes foram usados como fonte enzimática para determinação da atividade da proteína corporal total (BRADFORD, 1976), protease ácida (HIDALGO et al., 1999), tripsina e quimotripsina (HUMMEL, 1959), lipase (ALBRO et al., 1985), amilase (BERNFELD, 1955) e maltase (CORRÊA et al., 2007).

A análise do desenvolvimento do sistema digestório foi realizada através de amostras de cinco pós-larvas por tratamento em cada período, coletadas ao iniciar a alimentação, às 108; 150; 222; 342; 486; 582; 654 e 726 Hpf. As amostras foram fixadas em solução Bouin por 12 horas e posteriormente conservadas em álcool 70% até a realização das análises. Posteriormente foram desidratadas em etanol, diafanizadas em xilol e embebidas em parafina, conforme metodologia descrita por Cargnin-Ferreira e Sarasquete (2008). Então, seções histológicas foram cortadas com espessura de 4 μ m em micrótono rotativo e coradas com hematoxilina-eosina.

Lâminas histológicas das pós-larvas coletadas foram realizadas através de cortes seriados do material com a finalidade de analisar o desenvolvimento ontogenético de todos os órgãos que compõem o sistema digestório (estômago, intestino, pâncreas e fígado). Foram avaliadas em fotomicroscópio de luz (Zeiss, modelo Primo Star). Todas as pós-larvas coletadas para análise foram abatidas por “overdose” de benzocaína (250 mg/l), (AVMA, 2007).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. Inicialmente, todos os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, sendo considerados de distribuição normal aqueles dados que apresentaram $P > 0,05$. Posteriormente foi realizada a análise de regressão e teste de Tukey para os diferentes componentes em teste. O nível mínimo de significância adotado na análise estatística foi de 5% ($p < 0,05$).

5.3 Resultados e discussão

Todas as enzimas analisadas já estavam presentes às quatro horas após a fertilização, confirmando que o jundiá pode receber dietas secas desde a primeira alimentação (PIAIA et al., 1997b). Para larvas de pargo rosa (*Lutjanus guttatus*), as enzimas tripsina, quimotripsina, amilase e lipase já estão presentes no momento da eclosão (MOGUEL-HERNÁNDEZ et al., 2013).

A protease ácida aumentou até as 80 Hpf (Tabela 1). A protease ácida apresentou-se baixa as quatro Hpf (1,67), posteriormente aos 28 Hpf aumentou (2,81), mantendo o aumento até 80 Hpf. Segundo Caruso et al. (2009), estudando pandora comum (*Pagellus erythrinus L.*) verificaram atividade da protease ácida ao final da eclosão. Em estudo com *Ocyurus chrysurus*, Ahumada-Hernández et al. (2014) encontraram a enzima protease ácida inativa nos primeiros 15 dias após eclosão (DAE), que não foi detectada nos primeiros dias após a eclosão em larvas de *Lutjanus guttatus* (GALAVIZ et al., 2012; MOGUEL-HERNÁNDEZ et al., 2013).

Às quatro Hpf (2,7) a tripsina apresentou atividade em elevação moderada até 66 Hpf (4,75), posteriormente apresentou declínio leve e voltou aos níveis próximos aos iniciais às 86 Hpf (2,96) (Tabela 1). A atividade da tripsina estava ativa para o pargo da cauda amarela (*Ocyurus chrysurus*) de 4 a 11 DAE, sendo inativa novamente em 12 DAE, depois aumentando as 15 DAE (AHUMADA-HERNÁNDEZ et al., 2014). Segundo Farhoudi et al. (2012) para larvas de carpa comum (*Cyprinus carpio*) a atividade de tripsina foi baixa até os 3 DAE, mas já estava ativa e atuante logo após a eclosão para larvas de pandora comum (*Pagellus erythrinus L.*) (CARUSO et al., 2009). Foi detectada no primeiro dia após a eclosão em pargo rosa (*Lutjanus guttatus*), mantendo-se baixa durante os dias seguintes (GALAVIZ et al., 2012). Em larvas de pregado (*Scophthalmus maximus*) foi detectada no primeiro dia após eclosão. A tripsina é o fator chave na ativação das enzimas pancreáticas e só é ativada quando entra em contato com a borda em escova (RØNNESTAD e MORAIS, 2008) e está relacionada à entrada do alimento no trato digestório (MORAES e ALMEIDA, 2014).

A atividade da quimotripsina (Tabela 1) iniciou às 4 Hpf com atividade moderada aumentando até as 42 Hpf e posteriormente reduzindo até as 86 Hpf. Em larvas de carpa comum (FARHOUDI et al., 2012), pandora comum (CARUSO et al., 2009) e pargo da cauda amarela (AHUMADA-HERNÁNDEZ et al., 2014), a atividade foi baixa mas existente logo após a eclosão, aumentando a partir do início da alimentação exógena.

Tabela 1. Atividade enzimática de larvas de jundiá, antes do início da alimentação exógena

Hpf	Proteína	Protease	Tripsina	Quimotripsina	Lipase	Amilase	Maltase
4	0,0029 ± 0,001	1,67 ± 1,5	2,7 ± 0,3	5310,48 ± 250	8,34 ± 0,22	0,026 ± 0,004	0,30 ± 0,03
28	0,030 ± 0,001	2,81 ± 3,5	2,67 ± 0,7	5423,70 ± 108	8,91 ± 0,84	0,060 ± 0,007	0,34 ± 0,09
42	0,0039 ± 0,0007	4,97 ± 1,76	3,02 ± 0,2	6975,81 ± 447	9,55 ± 0,65	0,034 ± 0,01	1,74 ± 0,28
66	0,024 ± 0,001	8,76 ± 2,3	4,75 ± 0,3	5589,08 ± 682	18,16 ± 0,79	0,11 ± 0,01	1,76 ± 0,46
80	0,025 ± 0,001	18,67 ± 6,3	4,31 ± 0,1	4551,65 ± 14	12,84 ± 2,34	0,074 ± 0,009	1,06 ± 0,18
86	0,016 ± 0,001	16,77 ± 1,1	2,96 ± 0,3	4202,86 ± 185	19,77 ± 2,02	0,01 ± 0,004	5,75 ± 0,42

Valores expressos como média ± erro-padrão da média. Proteína corporal total (mg/g), protease ácida (ug tirosina/min/mg prot), tripsina (umolTAME/min/mg prot), quimotripsina (umol BTEE/min/mg prot), lipase (UI/mg proteína/min), amilase (UI/mg proteína/min), maltase (UI/mg proteína/min). Hpf: horas após fertilização.

A lipase iniciou com atividade moderada, aumentando constantemente até as 66 Hpf, reduziu aos 80 Hpf e voltou a aumentar às 86 Hpf (Tabela 1). Em larvas do pregado (*Scophthalmus maximus*) detectada logo após a eclosão (RØNNESTAD e MORAIS, 2008), para pandora comum, (CARUSO et al., 2009) inicialmente não encontrada e em pargo da cauda amarela (AHUMADA-HERNÁNDEZ et al., 2014) máxima atividade a partir do primeiro dia após eclosão.

A atividade da amilase inicialmente apresentou-se reduzida (0,026), oscilando até as 86 Hpf, com pico de atividade enzimática as 66 Hpf. Para o pargo da cauda amarela (*Ocyurus chrysurus*), (AHUMADA-HERNÁNDEZ et al., 2014), a atividade da amilase permaneceu baixa inicialmente até 12 DAE e posteriormente aumentou (Tabela 1). Estudos realizados por Ji et al. (2012) concluem que as espécies onívoras demonstram maior atividade da amilase do que as espécies carnívoras. Em larvas do pregado (*Scophthalmus maximus*) foi detectada pela primeira vez no terceiro dia após eclosão (RØNNESTAD e MORAIS, 2008), em pandora comum (*Pagellus erythrinus L.*) (CARUSO et al., 2009) apresentou-se alta (0,04) logo após a eclosão.

A atividade da maltase inicialmente esteve baixa entre 4 e 28 Hpf, aumentando até as 66 Hpf e reduzindo novamente, com pico às 86 Hpf (Tabela 1). Em larvas de truta (KAWAI e IKEDA, 1973a) e carpa capim (KAWAI e IKEDA, 1973b) a atividade da maltase estava presente logo após a eclosão. Os mesmos autores observaram que as atividades de amilase, maltase e tripsina aumentaram com o passar do tempo após a absorção do vitelo. Em larvas de pregado (*Scophthalmus maximus*), a atividade da maltase foi detectada no primeiro dia após eclosão (RØNNESTAD e MORAIS, 2008). Diversos autores afirmam que as larvas de peixes

antes da primeira alimentação exógena já são capazes de absorver os nutrientes, assim como as alterações na atividade enzimática das enzimas digestivas são semelhantes a outros peixes (ALVAREZ-GONZÁLEZ et al., 2008; JIMÉNEZ-MARTÍNEZ et al., 2012; AHUMADA-HERNÁNDEZ et al., 2014). As enzimas estão presentes desde a eclosão permitindo que as larvas possam digerir e absorver nutrientes do saco vitelino e o alimento no momento da primeira alimentação (MOGUEL-HERNÁNDEZ et al., 2013).

Tabela 2. Perfil lipídico das dietas utilizadas na alimentação de pós-larvas de jundiá

Ácidos Graxos*	Padrão ¹	5FJ	10FJ	15FJ	20FJ	25FJ
C14:0	0,37	0,39	0,44	0,46	0,51	0,55
C16:0	25,19	24,75	24,91	24,98	25,26	25,46
C16:1	2,76	2,80	2,95	2,90	3,19	3,13
C18:0	11,61	11,18	10,46	9,99	9,42	9,56
C18:1 n-9	35,07	34,67	36,58	36,70	37,15	37,27
C18:2 n-6	15,20	15,53	15,49	15,85	15,78	16,42
C18:3 n-3	0,64	0,70	0,74	0,76	0,80	0,80
C22:1 n-9	0,61	1,36	0,56	0,78	0,68	0,30
C20:4 n-6	4,36	4,28	3,57	3,37	2,83	2,20
C22:6 n-3	1,06	1,19	0,97	0,98	0,89	0,71
Σsaturados	38,50	37,64	37,13	36,72	36,54	36,89
ΣInsaturados	61,50	62,36	62,87	63,28	63,46	63,11
Saturado/insaturado	0,63	0,60	0,59	0,58	0,58	0,58
ΣMonoinsaturados	39,22	39,58	40,90	41,10	41,81	41,36
ΣPoliinsaturados	22,28	22,77	21,97	22,18	21,65	21,75
Σn-3	1,86	2,06	2,00	1,98	1,98	2,07
Σn-6	20,42	20,72	19,97	20,20	19,67	19,68
n-6/n-3	10,98	10,06	10,03	10,19	9,94	9,51

*Os ácidos graxos C6:0; C11:0, C13:0, C15:1 n-5, C17:1n-7, C18:2 n-6t, C21:0, C23:0 e C22:2 não foram detectados nas amostras. Os ácidos graxos C4:0, C8:0, C10:0, C12:0, C14:1n-5, C15:0, C17:0, C18:1 n-9t, C18:3 n-6, C20:1 n-9, C20:2 n-6, C20:3 n-3, C20:0, C20:1, C20:2, C22:0, C20:3 n-6, C24:0; C24:1 n-9 e C20:5 n-3 foram encontrados em quantidade inferior a 0,5%. Análise realizada no laboratório NIDAL/UFSM. ¹Dieta formulada a partir de Coldebella et al., 2011. Tratamentos: Padrão – fígado mais levedura; 5; 10; 15; 20 e 25 % FJ (farinha de peixe - ROSSATO et al., 2014) em substituição ao fígado de aves.

A dieta deve apresentar todos os nutrientes que a larva necessita para seu desenvolvimento seja adequado. A dieta apresentou níveis elevados de ácido palmítico (C16:0), ácido esteárico (C18:0), ácido oleico (C18:1 n-9) e ácido linoleico (C18:2 n-6) (Tabela 2). As dietas apresentaram percentuais crescentes de ácido linolênico (C18:3 n-3) e

redução crescente do percentual de ácido araquidônico (C20:4 n-6) conforme aumento da inclusão de farinha de peixe (FJ), o mesmo aconteceu com o ácido docosahexanóico (DHA) (C22:6 n-3). A quantidade de ácido linolênico (C18:3 n-3) foi semelhante a encontrada por Salhi e Bessonart (2013) que estudaram a composição lipídica e de ácidos graxos dos alimentos e larvas de *Rhamdia quelen* e concluíram que estas podem alongar e dessaturar o ácido linolênico (C18:3 n-3) a ácidos graxos altamente insaturados n-3. Este contexto revela a importância dos ácidos graxos n-3 para crescimento das larvas, bem como para a maioria dos peixes de água doce (SALHI e BESSONART, 2013).

A inclusão de 2% de lecitina de soja em dietas para pós-larvas de jundiá são indispensáveis para seu desenvolvimento adequado (ULIANA et al., 2001). Esta fonte é rica em ácidos graxos, principalmente linoleico e linolênico, contribui com fosfolipídios, que participam na formação de novos componentes celulares. Neste período, a necessidade de fosfolipídios é muito grande e sua biossíntese pode não ser suficiente para suprir as necessidades de crescimento das pós-larvas.

As proteínas e lipídios provenientes do fígado são essenciais para a manutenção do desenvolvimento, pois as pós-larvas que consumiram as dietas com quantidades inferiores de fígado de aves reduziram seu crescimento (Figura 1). As dietas com maiores percentuais de fígado de aves apresentaram maiores quantidades de ácido esteárico (C18:0) e ácido araquidônico (C20:4 n-6) o que pode ter contribuído para o melhor desenvolvimento. O fígado de aves é reconhecido como uma valiosa fonte de nutrientes, principalmente de ácidos graxos (CIEŚLIK et al., 2011). A quantidade lipídica polar fornecida pela farinha de peixe provavelmente não é suficiente para suportar o crescimento larval, a inclusão adicional de lipídios polares, como a lecitina de soja contribui para a melhora do desempenho larval (TOCHER et al., 2008; CAHU et al., 2009).

As dietas permaneceram durante todo o período de alimentação, acondicionadas em freezer, somente retiradas no momento da alimentação. Pois na ausência de proteção antioxidante adequada, devido ao elevado grau de insaturação, os ácidos graxos de cadeia longa n-3 PUFAs podem ser propensos a peroxidação lipídica (BOGLIONE et al., 2013).

O pH das rações experimentais se mantiveram em torno de 5, a dieta Padrão (4,85); dieta 5FJ (5,22); dieta 10FJ (5,34); 15FJ (5,40); dieta 20FJ (5,44); dieta 25FJ (5,48). Cada enzima é ativa em determinado pH, por exemplo a protease ácida ou pepsina, que torna-se ativa em pH abaixo de 5,0, apresenta maior atividade na faixa de pH de 1,0 a 4,0, sendo seu pH ótimo de 1,8 e inativa-se completamente em pH superior a 6,0 (KOBBLITZ, 2008).

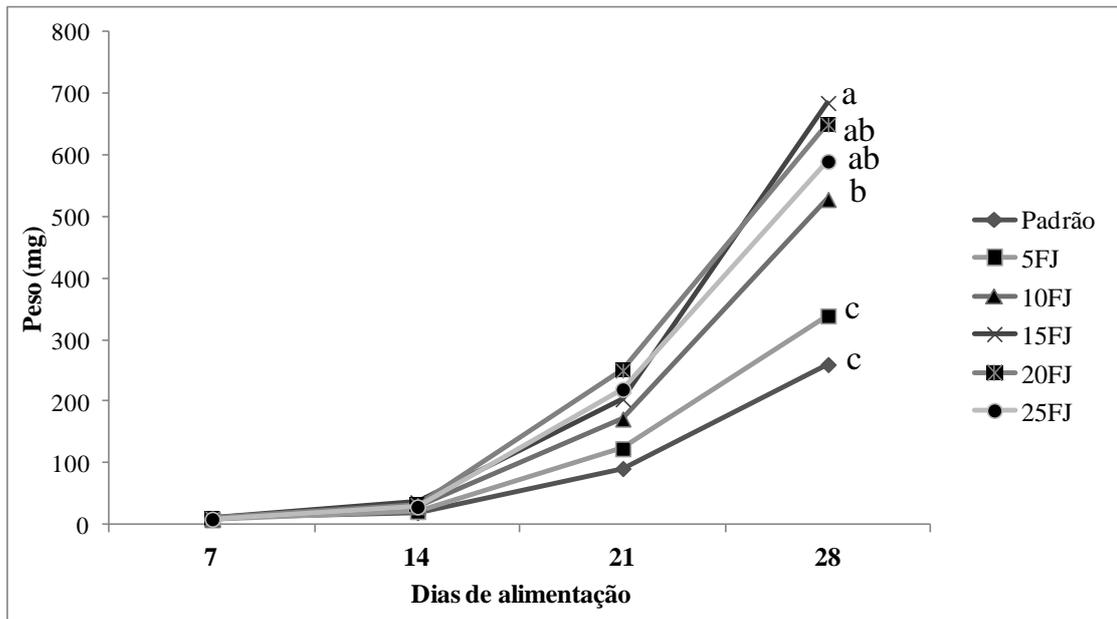


Figura 1. Peso das pós-larvas alimentadas com dietas compostas de farinha de peixe. Médias com letras diferentes apresentam diferenças estatísticas pelo teste de Tukey ($P < 0,01$). Tratamentos: Padrão, adaptada de Coldebella et al. (2011); 5 FJ; 10FJ; 15FJ e 30 FJ, substituição de 5; 10; 15 e 30% do fígado de aves por farinha de peixe (FJ) (ROSSATO et al., 2014)

O crescimento é totalmente dependente da perfeita atuação das enzimas sobre o alimento ingerido (Figura 1). Onde a mucosa intestinal é considerada o principal local de digestão e absorção de nutrientes, bem como está diretamente envolvida na ativação nervosa e hormonal de enzimas (LAZO et al., 2011). Sendo assim, a protease que atua sobre as proteínas que são muito importantes para o crescimento dos peixes apresentou pico crescente a partir das 174 Hpf, com maior atividade para as pós-larvas alimentadas com a dieta padrão (40,23) às 222 Hpf. Estes resultados corroboram com Ahumada-Hernández et al. (2014) que estudando o pargo da cauda amarela (*Ocyurus chrysurus*), encontraram atividade em ligeiro aumento aos 19 dias após eclosão (DAE), mantendo-se constante e atingindo seu pico em 34 DAE e um ligeiro declínio às 42 DAE.

Neste estudo encontramos atividade da protease ácida >40 às 198 Hpf e às 222 Hpf para as pós-larvas alimentadas com a dieta 25FJ e padrão (Figura 2B). Atividade >30 às 174 Hpf para os animais alimentados com a dieta padrão; 5FJ e 10FJ e às 198 Hpf para as pós-larvas alimentadas com a dieta 5FJ. Este estudo vai de encontro com Ji et al. (2012) onde analisando a atividade da protease ácida no trato digestório de três diferentes espécies

encontraram atividade maior para o “paddlefish” (>40), moderada para o esturção híbrido (>30) e baixa para a carpa cabeça grande (>5).

A atividade da protease ácida apenas foi inferior a cinco nos tempos 414 e 486 Hpf para as pós-larvas alimentadas com todas as dietas, exceto a padrão no tempo 486 Hpf que foi 5,02 (Figura 2B). Em estudo com pandora comum (*Pagellus erythrinus L.*) Caruso et al. (2009) encontraram atividade com crescimento constante de zero ($0,27 \text{ U mg}^{-1} \text{ Proteína}$) a 45 dias ($2,80 \text{ U mg}^{-1} \text{ Proteína}$) após eclosão. Em estudo com larvas de pargo rosa (*Lutjanus guttatus*), Galaviz et al. (2012), encontraram atividade inexistente antes de 12 DAE ($0,65 \text{ U mg protein}^{-1}$). Observaram aumento gradual significativo na atividade específica da pepsina até 40 DAE. O primeiro pico foi observado a 20 DAE ($3,16 \text{ U mg}^{-1} \text{ Proteína}$) coincidindo com a diferenciação das glândulas gástricas. Desde então, atividade da pepsina permaneceu constante até 30 DAE ($3,7 \text{ U mg}^{-1} \text{ Proteína}$), e aumentou novamente para 35 DAE ($5,89 \text{ U mg}^{-1} \text{ Proteína}$), se mantendo constante até o final do estudo 40 DAE.

Estes resultados corroboram com estudos realizados por Moguel-Hernández et al. (2013), onde conclui que as atividades enzimáticas citosólicas são elevados durante os primeiros dias de desenvolvimento, seguido por uma diminuição contínua ao longo das semanas seguintes, em que as atividades de enzimas da borda em escova aumentam e a atividade de pepsina é detectada pela primeira vez no estômago.

A atividade da enzima tripsina para as pós-larvas de jundiá, foi baixa ao iniciar a alimentação exógena ($3,77 \text{ umolTAME/min/mg prot}$) para todos os tratamentos, aumentando progressivamente até as 198 Hpf, mantendo-se alta até 390 Hpf, onde observamos a maior atividade para as pós-larvas alimentadas com a dieta 15FJ ($14,99 \text{ umolTAME/min/mg prot}$). A partir das 438 Hpf a atividade reduziu e voltou a subir às 654 Hpf (Figura 2C). Este estudo corrobora com o trabalho realizado por Farhoudi et al. (2012) com larvas de carpa comum, onde no início da alimentação exógena em 3 DAE a atividade da tripsina foi mínima, posteriormente aumentou significativamente até 15 DAE. Em seguida, a atividade da enzima reduziu significativamente no dia 19 DAE e voltou a aumentar a partir do dia 19 DAE até ao dia 33 DAE, onde ocorreu sua atividade máxima.

A atividade da tripsina em larvas de pandora comum (*Pagellus erythrinus L.*) foi analisada por Caruso et al. (2009) onde encontraram valores crescentes, mínimo de $0,15 \text{ U mg}^{-1} \text{ Proteína}$ (0 DAE) e máximo de $0,34 \text{ U mg}^{-1} \text{ Proteína}$ (45 DAE). Em estudo com larvas do pargo rosa (*Lutjanus guttatus*) Galaviz et al. (2012), observaram aumento significativo na

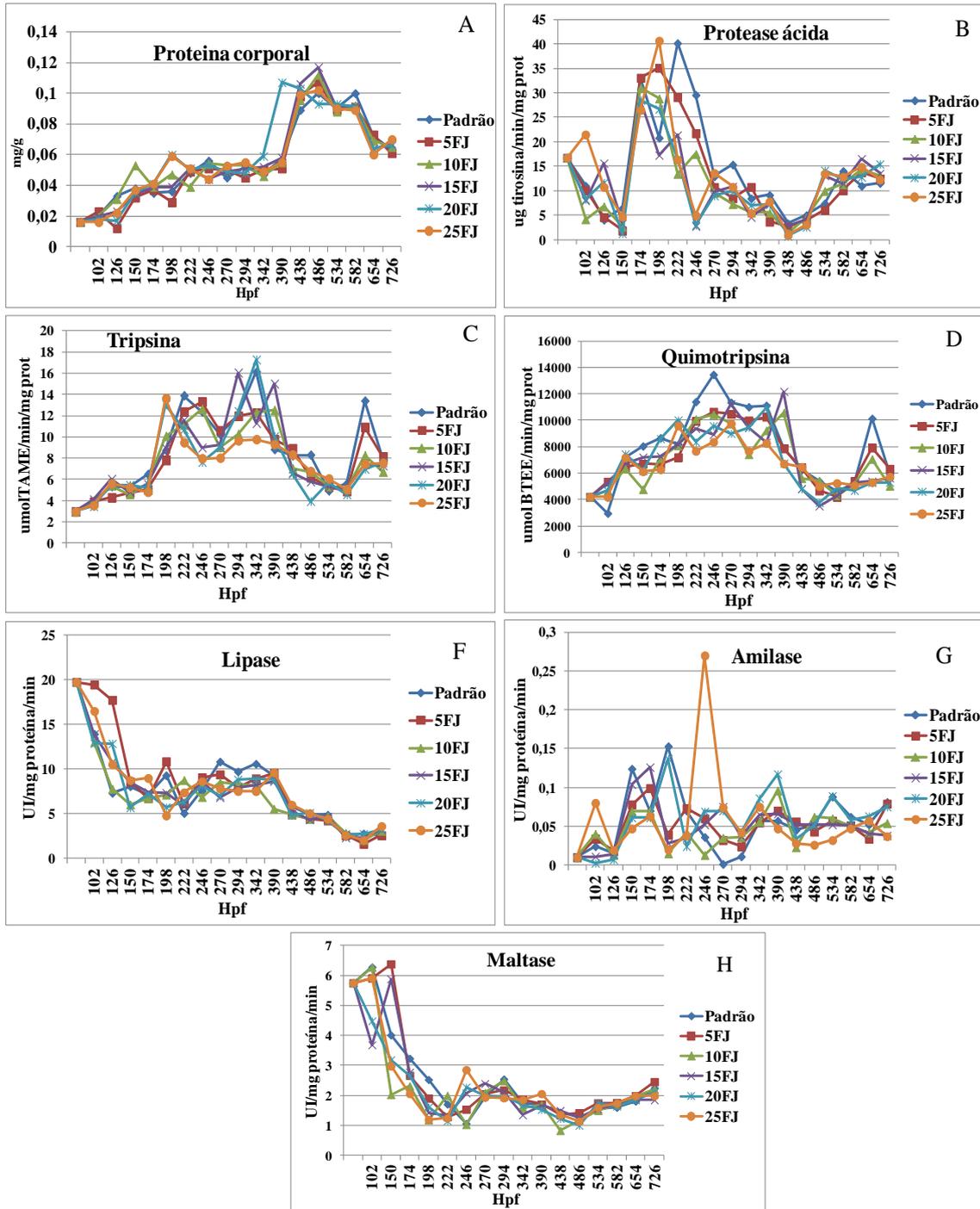


Figura 2. Atividade enzimática de pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas compostas de farinha de peixe

Proteína corporal total (mg/g), protease ácida (ug tirosina/min/mg prot), tripsina (umolTAME/min/mg prot), quimotripsina (umol BTEE/min/mg prot), lipase (UI/mg proteína/min), amilase (UI/mg proteína/min), maltase (UI/mg proteína/min). HpF: horas após fertilização.

atividade da tripsina aos 18 DAE ($1,70 \text{ U mg}^{-1}$ Proteína) a partir deste dia houve uma diminuição aos 20 ($1,11 \text{ U mg}^{-1}$ Proteína) aumentando de novo à 25 DAE ($2,04 \text{ U mg}^{-1}$

Proteína), encontrando atividade máxima aos 35 DAE ($6,36 \text{ U mg}^{-1}$ Proteína) e mantendo-se constante até os 40 DAE.

A atividade da quimotripsina após a primeira alimentação foi baixa para todos os tratamentos, aumentando e se mantendo das 126 Hpf às 198 Hpf. Aumentando novamente das 222 às 342 Hpf com pico de atividade para as pós-larvas alimentadas com a dieta padrão. Reduzindo novamente das 390 às 582 Hpf e apresentando pico às 654 Hpf novamente para as pós-larvas alimentadas com a dieta padrão (Figura 2D). Os resultados citados anteriormente corroboram com a atividade da quimotripsina encontrada em estudo com pargo da cauda amarela (*Ocyurus chrysurus*) por Ahumada-Hernández et al. (2014), que iniciou as 8 DAE mostrando uma pequena diminuição das 10 às 12 DAE, atingindo sua máxima atividade entre 17-32 DAE. E vão de encontro ao trabalho realizado por Farhoudi et al. (2012) que estudando atividade enzimática encontraram ao iniciar a alimentação exógena atividade da quimotripsina para as larvas de carpa comum e esta aumentou a partir do dia 3 DAE ao dia 7 DAE. A partir do dia 7 DAE a atividade total da quimotripsina aumentou progressivamente ao longo do desenvolvimento larval, atingindo o máximo às 33 DAE.

Em estudo com atividade da quimotripsina em larvas de pandora comum (*Pagellus erythrinus L.*) Caruso et al. (2009) encontraram valores mínimos de $0,19 \text{ U mg}^{-1}$ Proteína (0 DAE) ao iniciar alimentação e máximo de $1,78 \text{ U mg}^{-1}$ Proteína (45DAE) ao final do período experimental. A atividade enzimática para larvas de *Lutjanus guttatus*, amilase, lipase, tripsina e quimotripsina apresentaram aumento aos 15DAE, redução aos 20 DAH e atividade máxima aos 30 DAH (MOGUEL-HERNÁNDEZ et al., 2013).

A atividade da lipase oscilou entre 19,47 a 1,61 UI/mg proteína/min nos período 102 e 654 Hpf, respectivamente, para as pós-larvas alimentadas com a dieta 5FJ (Figura 2E). Em larvas do pargo da cauda amarela, os valores de atividade da lipase mostraram-se inicialmente altos, posteriormente reduziram com ligeiras flutuações até 12 DAE, apresentando ligeiro aumento à partir de 15 DAE, diminuindo novamente em 19 DAE, mantendo-se os mesmos valores com ligeiras flutuações até o 40 DAE (AHUMADA-HERNÁNDEZ et al., 2014). Em estudo realizado por Ji et al. (2012) analisando a atividade no trato digestório de carpas cabeça grande e esturjão híbrido encontraram atividade em torno de cinco e para o “paddlefish”, atividade superior a cinco.

Em estudo com larvas de carpa comum, Farhoudi et al. (2012) encontraram após início da alimentação exógena com artêmia no terceiro dia após eclosão, atividade específica da lipase aumentada até dia 7. A partir do dia 7, alimentando com alimentos secos, a atividade de lipase aumentou até dia 15 e no dia 19 a atividade diminuiu. Depois disso, a atividade total de

lipase aumentou até dia 26 e no dia 33, novamente diminuiu. A atividade específica da lipase mostrou dois picos: o primeiro foi observado no dia 15 e o segundo foi exibido no dia 26, o segundo pico foi menor que o primeiro pico. Em estudo com a pandora comum (*Pagellus erythrinus L.*), Caruso et al. (2009) encontraram atividade da lipase a partir de 35 dias após a eclosão (7,35) com aumento até 45 DAE (9,8).

A atividade da amilase apresentou um pico às 246 Hpf para as pós-larvas alimentadas com a dieta 25FJ (Figura 2F) em relação às demais que permaneceram com atividades constantes. A atividade da amilase permaneceu baixa até 12 de DAE, aumentando as 15 DAE e atingindo valores significativos aos 17 DAE, posteriormente a atividade da enzima diminuiu significativamente entre 19 a 26 DAE, e aumentou alcançando o nível máximo em 28 DAE, então oscilou um pouco e diminuiu as 42 DAE (AHUMADA-HERNÁNDEZ et al., 2014).

Após a primeira alimentação de larvas de carpa comum com artêmia, no dia 3 após eclosão a atividade da amilase apresentou aumento até o dia 7. A partir do dia 7 ao dia 11, quando o alimento seco foi oferecido, a atividade da amilase diminuiu. Em seguida, a atividade específica de amilase aumentou e atingiu nível máximo no dia 15. Diminuição da atividade da amilase foi novamente observada entre o dia 15 e dia 26. Atividade máxima e mínima da amilase aconteceu no dia 26 e dia 15, respectivamente (FARHOUDI et al., 2012). A atividade da amilase em larvas de pandora comum (*Pagellus erythrinus L.*) encontrada por Caruso et al. (2009) foi crescente iniciando em 0,04 U mg⁻¹ Proteína aos 45 DAE.

A atividade da maltase nas pós-larvas de jundiá ao iniciar a alimentação apresentou-se alta para a maioria dos tratamentos (>4), apenas para os animais que receberam a dieta 15FJ foi mais baixa (>3) (Figura 2G). Posteriormente foi observado redução da atividade da enzima para todos os tratamentos. Não foram observadas diferenças significativas na atividade enzimática das pós-larvas de jundiá com a adição da farinha de peixe, esta matéria prima pode ser incluída em substituição ao fígado de aves em nível de 15%, onde observamos maior peso (Figura 1) ao final dos 28 dias, não diferindo dos animais que receberam as dietas 20FJ e 25FJ.

A análise do desenvolvimento do trato digestório (Figura 3) foi realizada, mas nenhuma anormalidade foi detectada. Mas ao analisarmos as pós-larvas, observa-se que os indivíduos alimentados com 15FJ apresentaram maior peso (Figura 1) e conseqüentemente maior tamanho em relação àqueles alimentados com a dieta padrão. Mas mesmo ao comparar tamanho de órgão com tamanho das pós-larvas, não encontramos diferenças. Em estudo com larvas do bacalhau do pacífico (*Gadus morhua L.*) Wold et al. (2009) estudaram a inclusão de

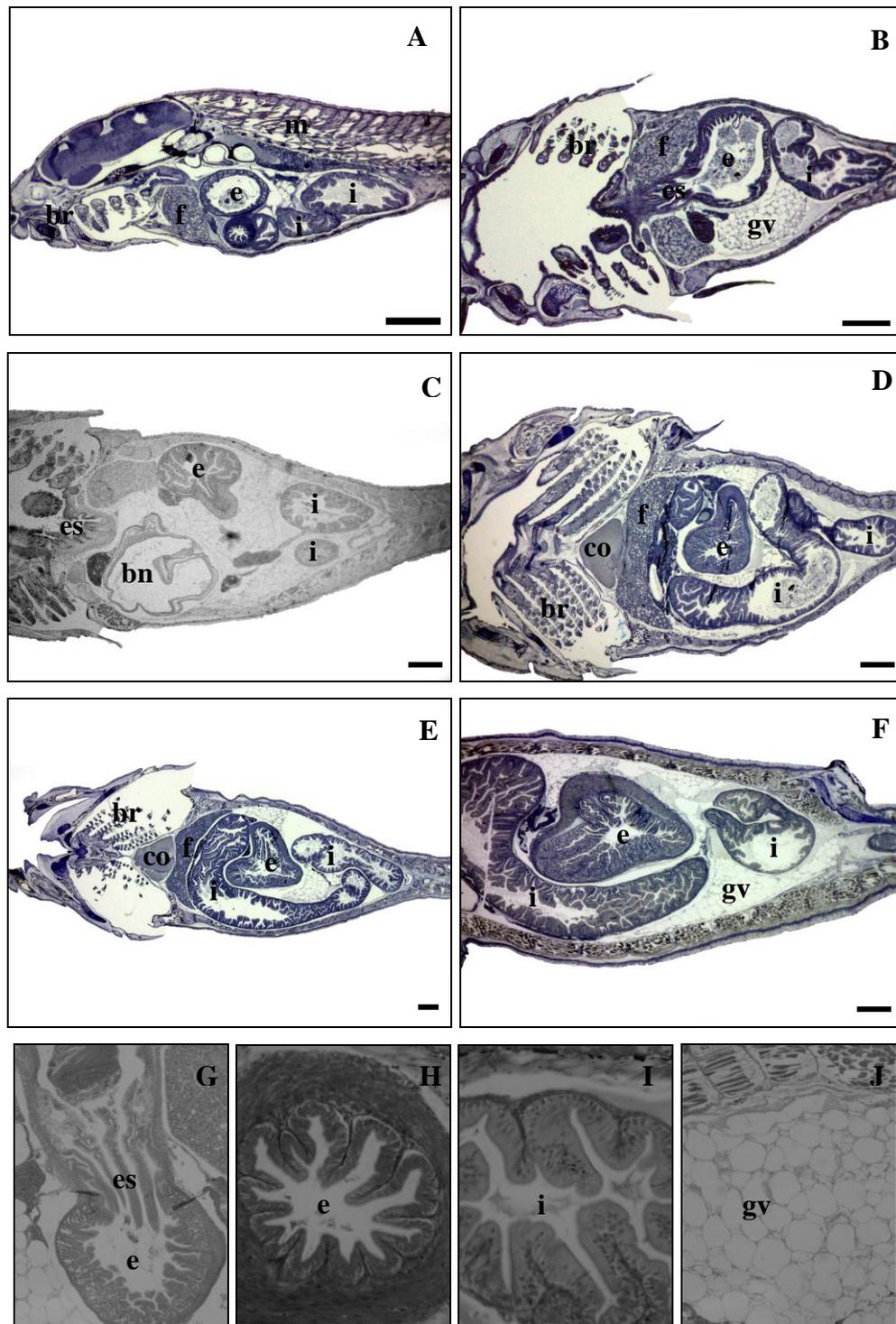


Figura 3. Exemplos de pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas compostas de farinha de peixe

Padrão (A, C e E) e 15FJ (B, D e F) tempos (342; 486 e 654Hpf) em cortes seriados longitudinais. G, H, I e J cortes histológicos representativos do esôfago, estômago, intestino e gordura perivisceral. (es) esôfago; (e) estômago; (i) intestino; (f) fígado; (co) coração; (m) músculo; (gp) gordura perivisceral; (br) brânquias. Coloração: Vanderbilt modificado. Escala: 1 mm.

ácidos graxos na forma de fosfolipídios ou lipídio neutro na dieta e seus efeitos sobre a histologia do intestino, fígado e pâncreas e concluíram que comparando o tamanho dos órgãos analisados com o tamanho da larva não houve diferença, mas que a inclusão na forma de fosfolipídio foram mais benéficas para a espécie em estudo.

A análise histopatológica das pós-larvas, independentemente das diferentes dietas não revelou alterações morfológicas nos tecidos e nos órgãos internos. Os órgãos se encontravam dentro dos volumes normais, com as proporções de parênquima e estroma dentro da normalidade. Nenhum processo inflamatório foi observado nos indivíduos das duas dietas. Este resultado corrobora com estudo realizado por Daprà et al. (2009) e Gai et al. (2012), utilizando concentrado proteico de arroz na dieta de “blackspot seabream” (*Pagellus bogaraveo*) e truta (*Oncorhynchus mykiss*) onde também não encontraram alterações na morfologia da mucosa intestinal. Em estudo com “white sea bream” (*Diplodus sargus*) Enes et al. (2012) não encontraram alterações morfológicas no intestino distal, utilizando dieta suplementada com polissacarídeos não amiláceos. A inclusão da farinha de peixe não alterou a mucosa do trato digestório, com isso consideramos a mesma, ingrediente adequado às dietas iniciais para pós-larvas de jundiá.

5.4 Conclusão

As enzimas foram detectadas precocemente nas larvas de jundiá; a atividade enzimática e desenvolvimento do sistema digestório das pós-larvas não sofreram alteração devido à inclusão da farinha de peixe na dieta em todos os níveis testados.

5.5 Agradecimentos

À Universidade Federal de Santa Maria pelas instalações e equipamentos disponibilizados para a realização dos experimentos. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo período de bolsa. À FAPERGS pela bolsa de iniciação científica. À ICC pela doação da levedura de cana. Ao IFSC (Professor Eduardo

Cargnin Ferreira) pela realização das análises histológicas. À FAPERGS – Processo 11.1175/1 pelo apoio financeiro.

5.6 Referências Bibliográficas

ALBRO, P.W.; HALL, R.D.; CORBETT, J.T.; SCHROEDER, J. Activation of nonspecific lipase (EC3.1.1.) by bile salts. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.835, p.477-490, 1985.

ALVAREZ-GONZÁLEZ, C.A.; MOYANO-LÓPEZ, F.J.; CIVERA-CERCEDO, R.; CARRASCO-CHÁVEZ, V.; ORTIZ-GALINDO, J.; DUMAS, S. Development of digestive enzyme activity in larvae of spotted sand bass (*Palabrax maculatofasciatus*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v.34, p.373-384, 2008.

AHUMADA-HERNÁNDEZ, R.I.; ALVAREZ-GONZÁLEZ, C.A.; GUERRERO-ZÁRATE, R.; MARTÍNEZ-GARCÍA, R.; CAMARILLO-COOP, S.; SÁNCHEZ-ZAMORA, A.; GAXIOLA-CORTES, M.G.; PALOMINO-ALBARRÁN, I.G.; TOVAR-RAMÍREZ, D.; GISBERT, E. Changes of digestive enzymatic activity on yellowtail snapper (*Ocyurus chrysurus*) during initial ontogeny. **International Journal of Biology**, v.6, p.110-118, 2014.

American Veterinary Medical Association (AVMA). **Guidelines on Euthanasia** (Formerly Report of the AVMA Panel on Euthanasia) American Veterinary Medical Association (AVMA), United States of America, 2007.

BABAEI, S.S.; KENARI, A.A.; NAZARÍ, R.; GISBERT, E. Developmental changes of digestive enzymes in persian sturgeon (*Acipenser persicus*) during larval ontogeny. **Aquaculture**, v.318, p.138-144, 2011.

BERNFELD, P. Amylases α e β : colorimetric assay methods. In: Colowick, S.P.; Kaplan, N. O. **Methods in Enzymology**, New York: Academic Press, 1955.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, p.911-917, 1959.

BOGLIONE, C.; GISBERT, E.; GAVAIA, P.; WITTEN, P.E.; MOREN, M.; FONTAGNÉ, S.; KOUMOUNDOUROS, G. Skeletal anomalies in reared European fish larvae and juveniles. Part 2: main typologies, occurrences and causative factors. **Reviews in Aquaculture**, v.5, p.121-167, 2013.

BOSCOLO, W.R.; HAYASHI, C.; FEIDEN, A.; MEURER, F.; SIGNOR, A.A. Composição química e digestibilidade aparente da energia e nutrientes da farinha de resíduos da indústria de filetagem de tilápias, para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Ciência Rural**, v.38, p.2579-2586, 2008.

BRADFORD, M.M.A. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.

CAHU, C.; ZAMBONINO INFANTE, J. Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae. **Aquaculture**, v.200, p.161-180, 2001.

CAHU, C.L.; GISBERT, E.; VILLENEUVE, L.A.N.; MORAIS, S.; HAMZA, N.; WOLD, P.A.; ZAMBONINO INFANTE, J. Influence of dietary phospholipids on early ontogenesis of fish. **Aquaculture Research**, v.40, p.989-999, 2009.

CARGNIN-FERREIRA, E.; SARASQUETE REIRIZ, C. **Histofisiología de moluscos bivalvos marinos**. CSIC, Madrid, 2008, 94p.

CARUSO, G.; DENARO, M.G.; GENOVESE, L. Digestive enzymes in some Teleost species of interest for mediterranean aquaculture. **Open Fish Science Journal**, v.2, p.74-86, 2009.

COLDEBELLA, I.J.; RADÜNZ NETO, J.; MALLMANN, C.A.; VEIVERBERG, C.A.; BERGAMIN, G.T.; PEDRON, F.A.; FERREIRA, D.; BARCELLOS, L.J.G. The effects of different protein levels in the diet on reproductive indexes of *Rhamdia quelen* females. **Aquaculture**, v.312, p.137-144, 2011.

CORRÊA, C.F.; AGUIAR, L.H.; LUNDSTEDT, L.M.; MORAES, G. Responses of digestive enzymes of tambaqui (*Colossoma macropomum*) to dietary cornstarch changes and metabolic inferences. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.147, p.857-862, 2007.

COSTA, M.L.; RADÜNZ NETO, J.; LAZZARI, R.; VEIVERBERG, C.A.; SUTILI, F.J.; LORO, V.L. Enzimas digestivas de juvenis de carpa capim alimentados com forragem e ração. **Archivos de Zootecnia**, v.60, p.563-570, 2011.

CIEŚLIK, E.; CIEŚLIK, I.; MOLINA-RUIZ, J.M.; WALKOWSKA, I.; MIGDAL, W. The content of fat and fatty acids composition in chicken liver. **Biotechnology in Animal Husbandry**, v.27, p.1855-1856, 2011.

DAPRÀ, F.; GAI, F.; COSTANZO, M.T.; MARICCHIOLO, G.; MICALE, V.; SICURO, B.; CARUSO, G.; GENOVESE, L.; PALMEGIANO, G.B. Rice protein-concentrate meal as a potential dietary ingredient in practical diets for blackspot seabream *Pagellus bogaraveo*: a histological and enzymatic investigation. **Journal of Fish Biology**, v.74, p.773-789, 2009.

ENES, P.; PÉREZ-JIMÉNEZ, A.; PERES, H.; COUTO, A.; POUSÃO-FERREIRA, P.; OLIVA-TELES, A. Oxidative status and gut morphology of white sea bream, (*Diplodus sargus*) fed soluble non-starch polysaccharide supplemented diets. **Aquaculture**, v.358, p.79-84, 2012.

ENKE, D.B.S.; LOPES, P.S.; KICH, H.A.; BRITTO, A.P.; SOQUETTA, M.; POUHEY, J.L.O.F. Utilização de farinha de silagem de pescado em dietas para o jundiá na fase juvenil. **Ciência Rural**, v.39, p.871-877, 2009.

FONTAGNÉ-DICHARRY, S.; LATAILLADE, E.; SURGET, A.; LARROQUET, L.; CLUZEAUD, M.; KAUSHIK, S. Antioxidant defense system is altered by dietary oxidized lipid in first-feeding rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.424, p.220-227, 2014.

FARHOUDI, A.; NAZARI, R.M.; MAKHDOOMI, CH. Changes of digestive enzymes activity in common carp (*Cyprinus carpio*) during larval ontogeny. **Iranian Journal of Fisheries Sciences**, v.12, p.320-334, 2012.

GAI, F.; GASCO, L.; DAPRÀ, F.; PALMEGIANO, G.B.; SICURO, B. Enzymatic and histological evaluations of gut and liver in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fed with rice protein concentrate-based diets. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.43, p.218-229, 2012.

GALAVIZ, M.A.; GARCÍA-GASCA, A.; DRAWBRIDGE, M.; ALVAREZ-GONZÁLEZ, C.A.; LÓPEZ, L.M. Ontogeny of the digestive tract and enzymatic activity in white seabass, *Atractoscion nobilis*, larvae. **Aquaculture**, v.318, p.162-168, 2011.

GALAVIZ, M.A.; GARCÍA-ORTEGA, A.; GISBERT, E.; LÓPEZ, L.M.; GASCA, A.G. Expression and activity of trypsin and pepsin during larval development of the spotted rose snapper (*Lutjanus guttatus*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.161, p.9-16, 2012.

HARTMAN, L.; LAGO, B.C. A rapid preparation of fatty methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v.22, p.475-477, 1973.

HIDALGO, M.C.; UREA, E.; SANZ, A. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits: Proteolytic and amylase activities. **Aquaculture**, v.170, p.267-283, 1999.

HUMMEL, B.C.W. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin and thrombin. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, p.1393-1399, 1959.

JI, H.; SUN, H.T.; XIONG, D.M. Studies on activity, distribution, and zymogram of protease, α -amylase, and lipase in the paddlefish *Polyodon spathula*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.38, p.603-613, 2012.

JIMÉNEZ-MARTÍNEZ, L.D.; ALVAREZ-GONZÁLEZ, C.A.; TOVAR-RAMÍREZ, D.; GAXIOLA, G.; SANCHEZ-ZAMORA, A.; MOYANO, F.J.; ALARCON, F.J.; MÁRQUEZ-COUTURIER, G.; GISBERT, E.; CONTRERAS-SÁNCHEZ, W.M.; PERALES-GARCÍA, N.; ARIAS-RODRÍGUEZ, L.; INDY, J.R.; PÁRAMO-DELGADILLO, S.; PALOMINO-ALBARRÁN, I.G. Digestive enzyme activities during early ontogeny in Common snook (*Centropomus undecimalis*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v.38, p.441-454, 2012.

KAWAI, S.; IKEDA, S. Studies on digestive enzymes of fishes - III. Development of the digestive enzymes of rainbow trout after hatching and the effect of dietary change on the activities of digestive enzymes in the juvenile stage. **Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish**, v.39, p.819-823, 1973a.

KAWAI, S.; IKEDA, S. Studies on digestive enzymes of fishes - IV. Development of the digestive enzymes of carp and black sea bream after hatching. **Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish**, v.39, p.877-881, 1973b.

KOBLITZ, M.G.B. **Bioquímica de Alimentos: teoria e Aplicações Práticas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 242p.

LAZO, J.P.; DARIAS, M.J.; GISBERT, E. **Ontogeny of the digestive tract**. In: Holt, I. Larval Fish Nutrition. Wiley Online Library. Oxford, 2011. 448 p.

MOGUEL-HERNÁNDEZ, I.; PEÑA, R.; NOLASCO-SORIA, H.; DUMAS, S.; ZAVALA-LEAL, I. Development of digestive enzyme activity in spotted rose snapper, *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) larvae. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.40, p.839-848, 2013.

MORAES, G.; ALMEIDA, L.C. Nutrição e aspectos funcionais da digestão dos peixes. In: BALDISSEROTTO, B.; CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C. **Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce**. FUNEP UNESP Jaboticabal, 2014. 336 p.

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

PIAIA, R.; RADÜNZ NETO, J. Avaliação de diferentes fontes protéicas sobre o desempenho inicial de larvas do jundiá *Rhamdia quelen*. **Ciência Rural**, v.27, p.319-323, 1997b.

RØNNESTAD, I.; MORAIS, S. **Nutrition and energy**. In: FINN, R.N.; KAPOOR, E B.G. **Fish Larval Physiology**, Science Publishers, Enfield, New Hampshire, USA, 2008. cap.3, p.201-262.

ROSSATO, S.; LAZZARI, R.; FREITAS I.L.; MASCHIO, D.; CORRÊIA, V.; RADÜNZ NETO, J. Diferentes níveis de incorporação de farinha de resíduos de jundiás (*Rhamdia quelen*) cultivados na dieta. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, p.894-902, 2014.

SALHI, M.; BESSONART, M. Growth, survival and fatty acid composition of *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard, 1824) larvae fed on artificial diet alone or in combination with *Artemia nauplii*. **Aquaculture Research**, v.44, p.41-49, 2013.

SILVEIRA, J.; SILVA, C.P.; CARGNIN-FERREIRA, E.; ALEXANDRE, D.; ELIAS, M.A.; FRACALOSSO, D.M. Freshwater catfish jundiá (*Rhamdia quelen*) larvae are prepared to digest inert feed at the exogenous feeding onset: physiological and histological assessments. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.39, p.1581-1590, 2013.

TACON, A.G.J. Trends in Aquaculture production with particular reference to low income food deficit Countries 1984-1993. **Food Aquaculture**, v.12, p.6-9, 1996.

TOCHER, D.R.; BENDIKSEN, E.A.; CAMPBELL, E.J.; BELL, J.G. The role of phospholipids in nutrition and metabolism of teleost fish. **Aquaculture**, v.280, p.21-34, 2008.

TROMBETTA, C.G.; RADÜNZ NETO, J.; LAZZARI, R. Suplementação vitamínica no desenvolvimento de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência e Agrotecnologia**, v.30, p.224-229, 2006.

TRONCO, A.P.; RADÜNZ NETO, J.; MEDEIROS, T.S.; LIMA, R.L. Alimentação de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) com dietas semipurificadas e fontes lipídicas. **Boletim Instituto de Pesca**, v.33, p.9-17, 2007.

ULIANA, O.; SILVA, J.H.S.; RADÜNZ NETO, J. Diferentes fontes de lipídios testadas na criação de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*), Pisces, Pimelodidae. **Ciência Rural**, v.31, p.129-133, 2001.

WOLD, P.A.; HOEHNE-REITAN, K.; CAHU, C.L.; INFANTE, J.Z.; RAINUZZO, J.; KJØRSVIK, E. Comparison of dietary phospholipids and neutral lipids: effects on gut, liver and pancreas histology in atlantic cod (*Gadus morhua* L.) larvae. **Aquaculture Nutrition**, v.15, p.73-84, 2009.

CAPÍTULO VI

DESENVOLVIMENTO MUSCULAR DE PÓS-LARVAS DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) ALIMENTADAS COM CONCENTRADO PROTEICO DE SOJA E SUPLEMENTADO COM TAURINA¹

Resumo: A utilização de ingredientes de origem vegetal é uma alternativa para reduzir gradualmente a inclusão de farinha de peixe nas dietas. Estas fontes possuem bom percentual proteico e adequado perfil de aminoácidos. A utilização da taurina como complemento a estas fontes vegetais pode tornar a dieta completa, promovendo ótimo desenvolvimento das pós-larvas de peixes. Com este trabalho objetivou-se avaliar o crescimento e desenvolvimento muscular de pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas compostas por concentrado proteico de soja e suplementadas com taurina (CPST). Foram utilizadas cinco dietas: Padrão; 15CPST; 20CPST; 25CPST e 30CPST. O desempenho (peso, ganho em peso diário, comprimento total, e peso x sobrevivência) e o diâmetro e número de fibras musculares foi maior para pós-larvas de jundiá alimentadas com a dieta 15CPST ao final do período experimental (28 dias). Estes resultados podem ter relação com a redução dos níveis de metionina e cistina nas dietas com maior percentual de CPS, pois as fontes proteicas vegetais são deficientes principalmente em metionina, que é essencial para o desenvolvimento muscular dos peixes. A utilização de dietas composta de 15% de concentrado proteico de soja e suplementadas com taurina na alimentação de pós-larvas de jundiá aprimorou o crescimento e o desenvolvimento muscular. A utilização de dietas com 15% de concentrado proteico de soja e suplementadas com taurina (0,5%) é eficiente na alimentação de pós-larvas de jundiá.

Palavras-chave: Aminoácidos. Crescimento. Fontes proteicas. Metabolismo.

¹Os procedimentos experimentais deste trabalho foram aprovados pelo comitê de ética no uso dos animais - UFSM, parecer nº062/2013.

6.1 Introdução

A larvicultura de espécies de peixes nativas brasileiras ainda é muito carente em informações. À medida que a aquicultura se desenvolve e torna-se cada vez mais importante, a demanda por larvas e juvenis de qualidade também aumenta (PORTELLA et al., 2014). As dietas ofertadas como primeiro alimento devem conter o mínimo de nutrientes para a manutenção da vida e desenvolvimento adequado das pós-larvas. Deficiência no crescimento e sobrevivência pode ocorrer quando são usadas dietas formuladas e isso pode ser atribuído às características físicas e químicas desta ração (NRC, 2011).

O crescimento hipertrófico das fibras musculares em peixes ocorre em todas as fases da vida até que o tamanho somático máximo é atingido (SILVA et al., 2008). O crescimento muscular que se dá após a eclosão envolve tanto o alargamento das fibras musculares já existentes (hipertrofia) e o recrutamento de novas fibras (hiperplasia) (JOHNSTON, 1999; SILVA et al., 2008). O crescimento das larvas e pós-larvas é baseado na alta taxa de síntese de proteínas, a qual tem um custo energético elevado (PORTELLA et al., 2014). Parte desta energia pode ser conseguida via catabolismo oxidativo de aminoácidos, o que resultaria em maior exigência dos mesmos (FINN e FYHN, 2010). A suplementação com taurina ajuda a diminuir a atividade catabólica dos aminoácidos, desempenhando importante ação na modulação metabólica, contribuindo assim, para a melhoria do metabolismo em geral (BAÑUELOS-VARGAS et al., 2014).

A suplementação das dietas com taurina, principalmente as que contêm percentuais altos de matérias primas de origem vegetal está sendo estudada para muitas espécies (CHATZIFOTIS et al., 2008; BAÑUELOS-VARGAS et al., 2014). Entre os efeitos positivos observados nos peixes alimentados com dietas suplementadas com taurina, está o aumento do consumo de ração e desempenho de crescimento (MATSUNARI et al., 2008). Na verdade, a taurina recentemente se tornou um dos mais promissores candidatos na promoção do crescimento em peixes e este efeito é esperado ser ainda maior em larvas (PINTO et al., 2013). A taurina apresenta papel importante em peixes na proteção ao estresse oxidativo (HAN et al., 2014), apesar de ser considerado um nutriente condicionalmente indispensável para certas espécies (CHATZIFOTIS et al., 2008).

As fontes vegetais são amplamente utilizadas em dietas para espécies de peixes cultivadas, quando fonte de proteína, são consideradas alternativa eficiente em relação ao menor custo ao da farinha de peixe (ESPE et al., 2012), devido à sua constante

disponibilidade. Os derivados de soja possuem teor de proteína consistente e perfil de aminoácidos relativamente bem equilibrados (GATLIN et al., 2007; LIM et al., 2008), podendo apresentar deficiência em alguns aminoácidos essenciais, como lisina e metionina (KAUSHIK et al., 1995). O concentrado proteico de soja já foi utilizado em dietas para pós-larvas do jundiá por Fontinelli e Radünz Neto (2007), onde substituíram o fígado por 6; 12; 18 e 24% de CPS (substituição total do fígado) e nível máximo de inclusão (24%) suplementado com lisina e metionina, mas naquele momento o concentrado proteico de soja não mostrou ser uma boa alternativa.

Com este trabalho objetivou-se avaliar o crescimento e o desenvolvimento muscular de pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas compostas de concentrado proteico de soja e suplementadas com taurina.

6.2 Material e métodos

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Piscicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria. Os animais foram alimentados com dietas granuladas por 28 dias. Alojados em sistema de recirculação composto de 20 unidades experimentais, com volume útil de cinco litros. Foram testados cinco tratamentos (dietas) em quatro repetições. Cada unidade foi composta de dois recipientes plásticos dotados de tela lateral para impedir a saída das pós-larvas. Com abastecimento e escoamento individuais, conectados em sistema de recirculação de água termorregulado e filtro biológico. A vazão utilizada em cada recipiente foi de 0,20 L/min na primeira semana experimental (TRONCO et al., 2007), sendo aumentada gradativamente durante o período experimental. Foram utilizadas 240 larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) por unidade experimental totalizando 48 pós-larvas por litro. Os animais foram alimentados à vontade a cada 2 horas (h), entre 08h e 20h, em quantidades que excediam a sua capacidade de ingestão (RADÜNZ NETO, 2004).

As dietas testadas foram: Padrão; 15% de concentrado proteico de soja suplementado com taurina (CPST); 20CPST; 25CPST e 30CPST. A dieta padrão (Tabela 1) foi adaptada de Coldebella et al. (2011). Nas demais dietas, o fígado de aves incorporado à dieta foi substituído por CPST.

Tabela 1. Dietas ofertadas às pós-larvas de jundiá no período de 28 dias de alimentação

Ingredientes (%)	Padrão*	15CPST	20CPST	25CPST	30CPST [#]
Levedura	37	36,5	36	35,5	36,65
CPS	0	15	20	25	30
Fígado de aves ¹	30	15	10	5	0
Gema de ovo cozido	20	20	20	20	20
FAD	8	8	8	8	8
Lecitina de soja ²	2	2	2	2	2
Vitaminas ³	2	2	2	2	2
Fosfato bicálcico	1	1	1	1	1
Taurina ⁴	0	0,5	1,0	1,5	0,35
Composição centesimal					
Massa Seca ⁵	95,14	93,15	94,47	94,74	89,38
Proteína Bruta ⁵	44,09	43,55	42,93	43,03	44,06
Energia Bruta ⁶	3993	3864	3813	3763	3750
EE (gordura) ⁵	22,35	19,90	18,27	18,01	17,19
Matéria Mineral ⁵	6,79	6,83	6,77	6,87	7,41
FDN ⁵	5,10	8,74	9,1	10,2	15,37
Composição Aminoacídica					
Aspargina	4,13	4,45	4,54	4,63	4,80
Glutamina	5,02	5,73	5,96	6,18	6,48
Serina	2,24	2,37	2,40	2,43	2,51
Glicina	1,82	1,80	1,78	1,77	1,78
Histidina	0,92	0,93	0,93	0,93	0,94
Taurina	0,05	0,53	1,02	1,51	0,35
Arginina	2,70	2,84	2,88	2,92	3,00
Treonina	2,03	1,97	1,94	1,91	1,92
Alanina	2,52	2,36	2,30	2,24	2,22
Prolina	1,70	1,76	1,78	1,80	1,84
Tirosina	1,43	1,53	1,56	1,59	1,65
Valina	2,54	2,44	2,40	2,35	2,35
Metionina	0,83	0,72	0,68	0,64	0,62
Cistina	0,55	0,58	0,59	0,60	0,61
Isoleucina	1,99	2,00	1,99	1,99	2,02
Leucina	3,33	3,26	3,23	3,20	3,22
Fenilalanina	1,91	2,01	2,04	2,06	2,12
Lisina	2,99	2,98	2,97	2,95	3,00

*Dieta Padrão adaptada de Coldebella et al. (2011). [#] dieta considerada controle negativo, pois em estudos anteriores a mortalidade foi alta. ¹Fígado de aves *in natura* com 22,14% de massa seca. ² Lecitina de soja, segundo Uliana et al. (2001). ³Trombetta et al. (2006). ⁴Taurina 2 g/kg Chatzifotis et al. (2008). ⁵Analísada- Laboratório de Piscicultura – DZ/UFSM. ⁶Calculada. Tratamentos: Dieta Padrão; 15; 20; 25 e 30% CPS (concentrado proteico de soja) +T (taurina) em substituição ao fígado de aves. FAD: farelo de arroz desengordurado. FDN: Fibra em detergente neutro. Perfil de aminoácidos das dietas, analisados via HPLC.

Os valores médios dos parâmetros da qualidade da água durante todo o período experimental foram: temperatura ($24 \pm 1,31^{\circ}\text{C}$) e oxigênio dissolvido ($7,3 \pm 0,73 \text{ mg L}^{-1}$) da água verificados com o auxílio de oxímetro digital (marca YSI 550), pH ($7,5 \pm 0,33$) com pHmetro (modelo MPA - 210 P) medidos diariamente. A amônia total ($0,16 \pm 0,07 \text{ mg L}^{-1}$), alcalinidade ($46,2 \pm 12 \text{ mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$), nitrito ($0,02 \pm 0,006 \text{ mg L}^{-1}$) e dureza ($52 \pm 9,8 \text{ mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$) analisados semanalmente através do uso de Kits colorimétricos.

As dietas granuladas (Tabela 1) foram elaboradas no Laboratório de Piscicultura/UFSM. Primeiramente foram misturados os ingredientes secos (granulometria inferior a $75 \mu\text{m}$) (TROMBETTA et al., 2006). Depois de bem homogeneizado foi adicionado o fígado *in natura* e/ou água (quando necessário) até a mistura apresentar umidade suficiente para a peletização em moedor de carne. Posteriormente foi seca a 40°C por 24 horas em estufa com renovação de ar forçado. Após secas, as rações foram moídas e peneiradas, separando-se em porções compostas por partículas de $100\text{-}200 \mu\text{m}$, $200\text{-}400 \mu\text{m}$, $400\text{-}600 \mu\text{m}$, $600\text{-}800 \mu\text{m}$ obtendo assim a granulometria adequada para a abertura da boca das pós-larvas. As dietas foram mantidas em refrigerador a 4°C e retiradas somente no momento da alimentação.

Os animais foram alimentados a cada 2 horas, entre oito e 20 horas, a ração foi ofertada em quantidades que excediam a capacidade de ingestão dos peixes (RADÜNZ NETO, 2004). Antes de alimentar pela manhã e após a última oferta de alimento, os recipientes, que continham a ração eram pesados para cálculo da oferta de ração.

Diariamente, foi realizada a limpeza individual das unidades experimentais, para a retirada de pós-larvas mortas, fezes e sobra de ração. Meia hora após a segunda alimentação da manhã (10:30 h), foi realizada a sifonagem das unidades experimentais. Depois da alimentação das 16 horas (16:30 h) foi realizada a transferência das larvas com água, através da inclinação da bacia interna permitindo que as larvas sobrenadantes fossem transferidas para o novo reservatório, possibilitando desta forma que o material orgânico aderido ao fundo fosse facilmente retirado. Então, realizada nova sifonagem para retirada de sobras de ração e fezes dos animais.

A cada sete dias, realizou-se biometria para acompanhamento do crescimento e sobrevivência dos animais. Amostras de 10 pós-larvas por unidade experimental foram pesadas em balança digital de precisão de $0,001 \text{ g}$ sem retorno. As medidas de comprimento total foram realizadas com o auxílio de quadro de papel milimetrado e/ou paquímetro digital. As pós-larvas de jundiá apresentaram inicialmente peso de $1,0 \pm 0,02 \text{ mg}$ e comprimento total $5,3 \pm 0,55 \text{ mm}$.

Os animais foram sedados com benzocaína (50 mg/L) (AVMA, 2007), pesados e medidos para a obtenção dos seguintes dados: peso do peixe inteiro (g); Comprimento total: medidas da extremidade da cabeça até o final da nadadeira caudal (mm); Sobrevivência (todas as pós-larvas da unidade eram contadas); Fator de condição: $FC = (\text{Peso} \times 100)/(\text{Comprimento total}^3)$; Taxa de crescimento específico (%/dia): $TCE = (\ln(\text{peso final}) - \ln(\text{peso inicial}))/\text{dias} \times 100$; Ganho em peso diário (g): $GPD = (\text{peso final} - \text{peso inicial})/\text{dias}$; Produto peso versus sobrevivência.

A análise do desenvolvimento muscular foi realizada a partir de amostras de cinco pós-larvas por tratamento em cada período. Coletadas ao iniciar a alimentação e a cada sete dias até o 28º dia de alimentação. As amostras foram fixadas em solução Bouin por 12 horas e posteriormente conservadas em álcool 70%.

Os cortes seriados foram realizados na altura da nadadeira dorsal. Lâminas histológicas desta região anatômica foram confeccionadas e avaliadas em fotomicroscópio de luz (Zeiss, modelo Primo Star). Com as imagens obtidas foi medida a espessura da musculatura paravertebral de cada indivíduo. Como forma de normalização dos dados das medidas de cada imagem foram medidas as espessuras da coluna vertebral cujo valor foi o denominador da razão espessura da musculatura/espessura da vértebra. Tal procedimento reduz o erro intrínseco da metodologia utilizada. Haja vista que diferentes peixes de diferentes amostras foram cortados em diferentes porções da região anatômica escolhida.

A metodologia usada para obtenção do diâmetro e número de fibras foi adaptada de Carani et al. (2008). Onde com o auxílio do fotomicroscópio de luz (Zeiss, modelo Primo Star) foram demarcadas 5 áreas amostrais em cada lâmina histológica e realizada a contagem e medida das fibras.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. Inicialmente, todos os dados obtidos foram submetidos a teste de normalidade de Shapiro-Wilk, sendo considerados de distribuição normal aqueles dados que apresentaram $P > 0,05$. Posteriormente foi realizada a análise de regressão e teste de Tukey para os diferentes níveis em teste. O nível mínimo de significância adotado na análise estatística foi de 5% ($p < 0,05$).

6.3 Resultados e discussão

Aos 14 dias de alimentação as pós-larvas alimentadas com a dieta 15CPST já apresentaram peso e comprimento total superiores (Tabela 2) em relação aos animais que

receberam as outras dietas. Esta tendência se manteve até o final do período experimental. Utilizando dieta semelhante a padrão, Coldebella et al. (2011) encontraram resultados inferiores aos sete e 14 dias de alimentação. Este estudo corrobora com Fontinelli e Radünz Neto (2007) que encontraram pesos decrescentes conforme aumento do percentual de inclusão de CPS, com peso máximo de 24,39 mg aos 21 dias de alimentação para as pós-larvas alimentadas com a dieta com 6% de CPS. Em estudo com adição de farelo de soja em substituição ao ovo de peixe na dieta de pós-larvas de jundiás, Hernández et al. (2012) encontraram peso de 76 mg ao final de 21 dias quando utilizaram 14,2% de farelo de soja com redução crescente do peso nos tratamentos com maiores percentuais de farelo de soja. A utilização de 15% de CPS mais 0,5% de taurina, nas condições deste estudo, mostrou-se adequada para otimizar o ganho em peso das pós-larvas de jundiá.

As dietas testadas com maiores percentuais de concentrado proteico de soja (20; 25 e 30CPS) proporcionaram crescimento inferior (Tabela 2). Estes resultados podem estar relacionados com os menores percentuais de metionina encontrados na composição aminoacídica destas dietas, devido às fontes de origem vegetal normalmente serem deficientes neste aminoácido (KAUSHIK et al., 1995). Mas em estudo com inclusão de CPS em dietas para pós-larvas de jundiá, Fontinelli e Radünz Neto (2007), testaram a dieta CPS (24%) com diferentes níveis dos aminoácidos (lisina e metionina) que não mostraram bons resultados de peso (6,71 mg).

As dietas com maiores percentuais de CPS apresentaram níveis muito próximos de metionina e cistina em sua composição aminoacídica (Tabela 1), e segundo Keembiyehetty e Gatlin III (1993) as fontes proteicas devem conter um mínimo de 50% de metionina em relação à cistina, o que pode ter contribuído para o menor desempenho dos animais. A deficiência ou o desbalanceamento de aminoácidos e da relação entre os nutrientes dietéticos em geral ocasionam diminuição do crescimento e prejudicam o desenvolvimento dos peixes (SAAVEDRA et al., 2009). Prover um adequado balanceamento dos níveis de aminoácidos na dieta, melhora a qualidade da larva com resultado direto na formação dos seus tecidos (FINN e FYHN, 2010; LI et al., 2009; WU, 2009).

O comprimento total foi maior para as pós-larvas alimentadas com a dieta 15CPST a partir do 14º dia de alimentação (Tabela 2). Os resultados encontrados aos 21 dias neste estudo para as dietas Padrão; 15CPST; 20CPST e 25CPST são superiores aos encontrados por Trombetta et al. (2006) quando avaliaram suplementação vitamínica em pós-larvas de jundiá, encontrando comprimento total máximo de 15 mm aos 21 dias de alimentação.

A taxa de crescimento específico foi maior para as pós-larvas de jundiá alimentadas com a dieta 15CPST aos 14; 21 e 28 dias experimentais em relação aos demais tratamentos (Tabela 2). Os resultados encontrados para as pós-larvas alimentadas com as dietas 15CPST aos 21 dias são superiores aos encontrados por Trombetta et al. (2006) testando suplementação vitamínica em pós-larvas da mesma espécie. Para juvenis de “common dentex” (*Dentex dentex*), a suplementação com taurina (2 g Kg⁻¹) na dieta aumentou a taxa de crescimento específico e o consumo diário de ração (CHATZIFOTIS et al., 2008). Em estudo com juvenis de “rock bream” (*Oplegnathus fasciatus*), Ferreira et al. (2014) encontraram melhoras no crescimento e redução no conteúdo lipídico corporal quando suplementaram com 0,5% de taurina a dieta.

Tabela 2. Parâmetros zootécnicos de pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas compostas de concentrado proteico de soja e suplementadas com taurina

Variável	Padrão	15CPST	20CPST	25CPST	30CPST	P
7 dias						
Peso	5,53 ± 0,30	6,11 ± 0,49	5,43 ± 0,84	5,07 ± 0,42	4,13 ± 1,72	0,032
CT	8,69 ^a ± 0,11	8,24 ^{ab} ± 0,20	8,16 ^{ab} ± 0,24	7,87 ^b ± 0,43	7,18 ^c ± 0,23	<0,0001
FC	0,84 ± 0,07	1,09 ± 0,13	1,00 ± 0,19	1,06 ± 0,25	1,13 ± 0,57	0,55
TCE	20,68 ^{ab} ± 0,80	22,08 ^a ± 1,16	20,29 ^{ab} ± 2,29	19,40 ^{ab} ± 1,19	15,70 ^b ± 5,40	0,025
GPD	0,60 ± 0,04	0,68 ± 0,07	0,59 ± 0,12	0,53 ± 0,06	0,40 ± 0,24	0,032
14 dias						
Peso	19,80 ^b ± 1,72	32,06 ^a ± 4,17	15,42 ^{bc} ± 2,35	12,74 ^c ± 2,54	4,93 ^d ± 1,50	<0,0001
CT	12,50 ^{ab} ± 0,45	14,42 ^a ± 0,91	12,09 ^b ± 1,61	10,56 ^b ± 0,73	7,86 ^c ± 0,06	<0,0001
FC	1,01 ± 0,07	1,08 ± 0,18	0,91 ± 0,28	1,07 ± 0,14	1,00 ± 0,28	0,81
TCE	19,43 ^b ± 0,63	22,85 ^a ± 0,88	17,60 ^{bc} ± 1,08	16,19 ^c ± 1,49	9,31 ^d ± 1,97	<0,0001
GPD	1,32 ^b ± 0,12	2,19 ^a ± 0,29	1,00 ^{bc} ± 0,29	0,81 ^c ± 0,18	0,25 ^d ± 0,10	<0,0001
21 dias						
Peso	88,97 ^b ± 9,46	224,67 ^a ± 34,52	117,50 ^b ± 12,02	79,95 ^b ± 7,97	13,72 ^c ± 2,65	<0,0001
CT	18,45 ^b ± 1,69	26,63 ^a ± 1,00	20,82 ^b ± 1,71	18,55 ^b ± 1,64	8,91 ^c ± 0,28	<0,0001
FC	1,44 ^{ab} ± 0,25	1,18 ^b ± 0,08	1,34 ^{ab} ± 0,38	1,27 ^{ab} ± 0,24	1,97 ^a ± 0,55	0,013
TCE	20,10 ^{bc} ± 0,53	24,48 ^a ± 0,79	21,42 ^b ± 0,50	19,59 ^c ± 0,48	11,15 ^d ± 0,92	<0,0001
GPD	4,17 ^b ± 0,45	10,64 ^a ± 1,64	5,53 ^b ± 0,57	3,74 ^b ± 0,38	0,59 ^c ± 0,12	<0,0001
28 dias						
Peso	189,82 ^c ± 30,37	596,60 ^a ± 28,86	405,00 ^b ± 51,71	239,97 ^c ± 30,85	23,51 ^d ± 8,88	<0,0001
CT	24,18 ^d ± 1,86	37,70 ^a ± 0,82	33,50 ^b ± 1,54	27,64 ^c ± 1,74	11,89 ^e ± 0,90	<0,0001
FC	1,34 ± 0,15	1,11 ± 0,05	1,07 ± 0,06	1,13 ± 0,13	1,34 ± 0,20	0,0066
TCE	17,76 ^b ± 0,60	21,88 ^a ± 0,17	20,48 ^a ± 0,47	18,61 ^b ± 0,46	10,15 ^c ± 1,31	<0,0001
GPD	6,73 ^c ± 1,08	21,26 ^a ± 1,03	14,41 ^b ± 1,84	8,52 ^c ± 1,10	0,79 ^d ± 0,32	<0,0001
PxS	138,99 ^c ± 22,61	473,11 ^a ± 47,42	347,34 ^b ± 61,80	179,19 ^c ± 27,47	14,69 ^d ± 5,02	<0,0001
Sobrev	73,2 ^{ab} ± 0,39	79,16 ^{ab} ± 4,51	85,66 ^a ± 9,42	74,63 ^{ab} ± 4,77	63,31 ^b ± 6,66	0,0003

Valores expressos como média ± erro-padrão da média. Médias com letras diferentes na linha, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey. Tratamentos: Dieta Padrão (adaptada de COLDEBELLA et al., 2011); 15CPST (concentrado proteico de soja mais taurina); 20CPST; 25CPST e 30CPST em substituição ao fígado de aves. Variáveis: Peso; CT: comprimento total; FC: fator de condição; TCE: taxa de crescimento específico; GPD: ganho em peso diário; PxS = peso x sobrevivência; Sobrevivência.

A sobrevivência (Tabela 2) só diferiu entre os animais alimentados com a dieta 15CPST e 30CPST onde encontramos os maiores e menores índices em relação às demais dietas. Os índices de sobrevivência ficaram próximos aos encontrados por Cardoso et al. (2004), quando avaliaram a utilização do fígado de aves *in natura*, encontrando 70% de sobrevivência aos 21 dias de alimentação. Em estudo com a mesma espécie, Hernández et al. (2009) encontraram sobrevivência inferior (57%) e posteriormente Hernández et al. (2012), apresentaram sobrevivência pouco melhor (72%) quando incluíram na dieta ovo de peixe como substituto ao fígado de aves. Mas ao incluírem farelo de soja na dieta Hernández et al. (2012), encontraram sobrevivência decrescente com o aumento da inclusão do mesmo, chegando ao mínimo de 21% em 20 dias de alimentação. Estes resultados podem ter relação com fatores anti-nutricionais presentes na soja (inibidores de protease, lectinas, proteínas antigênicas e fatores anti-trípticos) que interferem no desempenho dos animais (FONTINELLI e RADÜNZ NETO, 2007).

A suplementação das dietas com taurina pode ter contribuído para aumentar a sobrevivência (Tabela 2). A inclusão de 1% de taurina na dieta de juvenis de rock bream (*Oplegnathus fasciatus*), estudada por Ferreira et al. (2014), proporcionou índices de sobrevivência semelhantes ao encontrado neste estudo (85%) com mesmo percentual de adição de taurina na dieta. Com base nos resultados encontrados concorda-se com Pinto et al. (2010; 2013), onde afirmam que o suplemento dietético de taurina tem sido recomendado para as larvas de peixes. Outros autores como Salze e Davis (2015), dizem que a taurina é um nutriente dietético essencial para muitas espécies.

A oferta de alimento foi medida diariamente para cada tratamento. Os animais da dieta 15CPST receberam 2,19; 3,29 e 7,35 gramas por dia, o 20CPST receberam 2,37; 2,76; e 6,71 gramas por dia, o 25CPST receberam 2,26; 3,25 e 6,46 gramas por dia, 30CPST receberam 2,27; 2,28 e 3,81 gramas por dia, Padrão receberam 1,81; 1,92 e 2,99 gramas por dia nos 8-14, 15-21 e 22-28 dias de alimentação. O consumo foi reduzindo conforme aumento da inclusão do concentrado proteico de soja na dieta, mas com a adição da taurina este consumo foi superior ao encontrado para os animais que consumiram a dieta padrão. Para juvenis de common dentex (*Dentex dentex*), a suplementação com taurina (2 g Kg⁻¹) na dieta, proporcionou maior consumo diário de ração (CHATZIFOTIS et al., 2008).

Os cortes histológicos analisados (Figura 1) confirmaram a diferença em relação ao tamanho das pós-larvas, conforme escala, onde os animais que consumiram a dieta 15CPST apresentaram tamanho superior às que consumiram a dieta 30CPST. As pós-larvas apresentaram desenvolvimento adequado, demonstrando o bom balanceamento da dieta,

apenas o reduzido percentual de alguns aminoácidos como a metionina que é deficiente na proteína da soja (ESPE et al., 2010) e a presença de fatores antinucionais pode ter contribuído para o menor desenvolvimento dos animais que consumiram a dieta 30CPST.

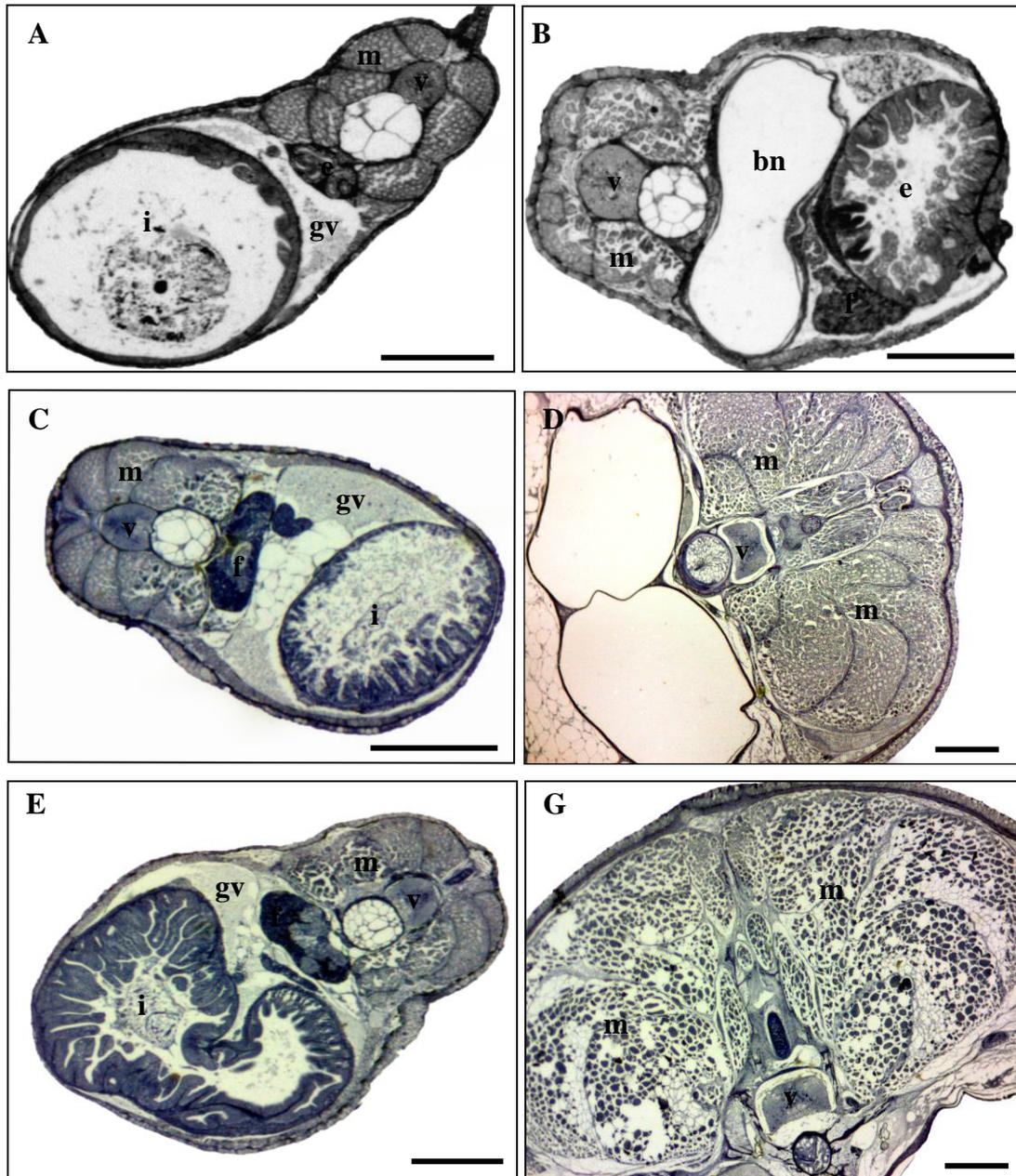


Figura 1. Exemplos de pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas compostas de concentrado proteico de soja e suplementadas com taurina Dietas 30CPST (A, C, E) e 15CPST (B, D, F) tempos (7; 21 e 28 dias de alimentação) em cortes histológicos transversais na altura da nadadeira dorsal. (m) músculo, (e) estômago, (i) intestino, (v) vértebra, (gv) gordura visceral, (f) fígado, (bn) bexiga natatória. Escala: 1 mm.

Analisando os cortes histológicos (Figura 1), observou-se a maior deposição muscular e desenvolvimento geral das pós-larvas alimentadas com a dieta 15CPST em relação aos animais que consumiram a dieta 30CPST. O percentual de taurina adicionado a esta dieta (Tabela 1) contribuiu para melhorar o balanceamento da dieta e conseqüentemente acelerar o desenvolvimento das pós-larvas de jundiá que receberam a dieta 15CPST. Ao suplementar com taurina, diversas espécies apresentaram melhorias observadas em seu desenvolvimento morfológico (SALZE e DAVIS, 2015).

As dietas com maior quantidade de CPS também receberam maiores percentuais de taurina (Tabela 1), pois a quantidade de metionina que é um aminoácido essencial para o crescimento normal dos peixes, atuando na síntese proteica (BENDER, 2003) foi decrescendo na composição da dieta com o aumento dos níveis de CPS, o que pode ter corroborado para o lento desenvolvimento. Outro aminoácido importante que apresentou níveis decrescentes com o aumento da inclusão do CPS foi a alanina, sendo esta junto com a metionina formadoras da taurina via cisteína (KUZMINA et al., 2010). Estes resultados corroboram com Espe et al. (2010), que encontraram desempenho e crescimento reduzido quando utilizaram dietas ricas em proteína vegetal com níveis de metionina inadequados. A síntese de proteínas requer que todos os aminoácidos necessários para a síntese proteica estejam presentes na célula (ESPE et al., 2012). Para que ocorra a formação dos tecidos é necessário que haja uma perfeita interação entre os aminoácidos absorvidos da dieta (SAAVEDRA et al., 2009).

Neste contexto pode-se observar que sem a adequada relação entre os aminoácidos não há crescimento adequado. Sendo assim, a taurina adicionada à dieta contribui com a redução da atividade catabólica de aminoácidos em peixes alimentados com dietas à base de concentrado proteico de soja, contribuindo para a melhoria do metabolismo em geral (BAÑUELOS-VARGAS et al., 2014). A taurina melhora a utilização de proteína e lipídios (KOMINKOVA et al., 2015), mas a complementação com outros aminoácidos essenciais deficientes na dieta é crucial para o desenvolvimento adequado das pós-larvas.

O diâmetro das fibras musculares aumentou no decorrer do período experimental em todas as pós-larvas de jundiás analisadas (Tabela 3), independentemente da dieta consumida, demonstrando o desenvolvimento normal dos animais. As pós-larvas que consumiram a dieta 15CPST apresentaram desenvolvimento mais rápido e o diâmetro das fibras aumentou acompanhando seu crescimento. Os animais que consumiram a dieta 30CPST apresentaram menores diâmetros de fibra o que pode ter sido ocasionado pelo desbalanço de aminoácidos em conjunto com o menor percentual de taurina adicionado a esta dieta. Estes resultados corroboram com Salze e Davis (2015) que concluem que a deficiência de taurina na dieta

reduz o desempenho dos animais, principalmente quando se inclui altos níveis de ingredientes pobres em taurina na alimentação dos peixes como é o caso das fontes de origem vegetal (EL-SAYED, 2013).

Tabela 3. Desenvolvimento muscular de pós-larvas alimentadas com dietas compostas de concentrado proteico de soja e suplementadas com taurina

Dias/dietas	30CPST	15CPST	P
Diâmetro da fibra (μm)			
0	18,61 \pm 3,73	-	-
7	43,02 \pm 22,60	44,48 \pm 9,42	0,85
14	47,22 ^b \pm 21,76	108,43 ^a \pm 12,07	<0,0001
21	59,50 ^b \pm 10,31	201,90 ^a \pm 22,43	<0,0001
28	81,18 ^b \pm 7,2	248,92 ^a \pm 47,19	<0,0001
Número de fibras/mm ²			
0	0,008 \pm 0,002	-	-
7	0,010 \pm 0,003	0,0170 \pm 0,009	0,06
14	0,011 \pm 0,003	0,0174 \pm 0,013	0,20
21	0,005 ^b \pm 0,0017	0,0104 ^a \pm 0,002	0,0002
28	0,007 ^b \pm 0,001	0,012 ^a \pm 0,007	0,017
Número total de fibras			
0	1961 \pm 1227	-	-
7	6850 ^b \pm 5071	20779 ^a \pm 13896	0,008
14	9013 ^b \pm 5487	303543 ^a \pm 426524	0,042
21	14955 ^b \pm 6687	2162414 ^a \pm 1240869	<0,0001
28	30762 ^b \pm 5804	3955832 ^a \pm 2457546	<0,0001

Valores expressos como média \pm erro-padrão da média. Médias com letras diferentes, na linha, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,01$). Tratamentos: 15CPST e 30CPST (substituição dos níveis de 15 e 30% do fígado de aves por concentrado proteico de soja suplementado com taurina).

Nos cortes histológicos foi observado fibras de maior e menor diâmetro (Tabela 3), o que caracteriza o crescimento inicial dos peixes. Caracterizado por dois processos, hiperplasia, formação de novas fibras musculares ou hipertrofia, onde as células mio-satélites

se fundem a fibras musculares existentes, aumentando o número de núcleos para maior síntese de miofibrilas (JOHNSTON et al, 2000; 2011). Segundo Johnston et al. (2009) menos de 0,2% das fibras dos peixes apresentaram diâmetro de 7-10 μm . Em estudo com alevinos de pirarucu (*Arapaima gigas*) (CARANI et al., 2008), concluiu que o crescimento muscular ocorre predominantemente por hiperplasia das fibras, sendo a maioria das fibras com diâmetro inferior a 30 μm , nos juvenis predominou o crescimento muscular por hipertrofia, onde a maior parte das fibras exibiu diâmetros acima de 30 μm .

Ao compararmos com os diâmetros de fibras encontrados neste estudo (Tabela 3) podemos concluir que inicialmente e até os sete dias as pós-larvas apresentaram crescimento hipertrófico e a partir dos sete dias de alimentação apresentaram crescimento predominantemente hiperplásico. Estes resultados corroboram com Leitão et al. (2011) onde relatam que a transição do alimento endógeno para o exógeno é acompanhada por um aumento acentuado na massa muscular, resultado da hipertrofia e hiperplasia das fibras musculares durante o desenvolvimento. Em estudo realizado com larvas de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) em 35 dias após a eclosão, Leitão et al. (2011) observaram alta frequência de fibras ≥ 40 μm nas larvas alimentadas com dietas formuladas, indicando crescimento hipertrófico.

O número total de fibras (Tabela 3) apresentou-se maior para as pós-larvas de jundiá alimentadas com a dieta 15CPST aos sete dias de alimentação. Mas o número de fibras/ mm^2 das pós-larvas alimentadas com a dieta 15CPST foi significativamente maior a partir dos 21 dias de alimentação em relação aos animais alimentados com a dieta 30CPST. Podemos inferir que o mais baixo percentual de metionina combinado com alguns antinutrientes ainda presentes no CPS (LARSEN; DALSGAARD; PEDERSEN, 2012) podem ter colaborado com o menor número de fibras das pós-larvas alimentadas com a dieta 30CPST. Mas segundo Johnston et al. (2009) nada ainda se sabe sobre as vias que regulam o número de fibras musculares.

Até os 14 dias de alimentação, não foi observado diferenças no número de fibras das pós-larvas alimentadas com as diferentes dietas (Tabela 3). Isso pode ter acontecido, pois ao iniciar o desenvolvimento muscular, o crescimento se dá principalmente por hiperplasia das fibras, onde ocorre primeiramente o aumento em número das fibras para posteriormente aumentar de tamanho por hipertrofia (JOHNSTON, 1999). Em peixes maiores a hiperplasia em mosaico foi o meio predominante de expansão do número de fibras, com fibras de classe de menor tamanho que ocorrem na superfície de fibras musculares (JOHNSTON et al., 2009).

Com os resultados obtidos pode-se inferir que a taurina é essencial em dietas com fontes proteicas vegetais para pós-larvas de jundiá, supõe-se que ela supre em parte a deficiência em metionina da soja, pois a metionina é utilizada para a formação da taurina (TAKEUSCHI, 2014). A taurina não forma proteína, mas participa de diversos processos que atuam melhorando o metabolismo e aumentando a eficiência do crescimento e deposição muscular (KUZMINA et al., 2010). A quantidade de 15% de CPS pode ser adicionada na dieta de pós-larvas de jundiá sem prejudicar seu desenvolvimento. Os níveis adequados dos aminoácidos essenciais tem que ser mantidos com dietas balanceadas ou com a adição de aminoácidos sintéticos. A taurina complementa a dieta balanceada e auxilia no metabolismo, melhorando o desenvolvimento muscular e geral das pós-larvas de jundiá.

6.4 Conclusão

A utilização de dietas com 15% de concentrado proteico de soja e suplementadas com taurina (0,5%) é eficiente na alimentação de pós-larvas de jundiá.

6.5 Agradecimentos

À Universidade Federal de Santa Maria pelas instalações e equipamentos disponibilizados para a realização dos experimentos. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo período de bolsa. À FAPERGS pela bolsa de iniciação científica. À ICC pela doação da levedura de cana. Ao IFSC (Professor Eduardo Cagnin Ferreira) pela realização das análises histológicas. À FAPERGS – Processo 11.1175/1 pelo apoio financeiro.

6.6 Referências bibliográficas

American Veterinary Medical Association (AVMA). **Guidelines on Euthanasia** (Formerly Report of the AVMA Panel on Euthanasia). American Veterinary Medical Association (AVMA), United States of America, 2007.

BAÑUELOS-VARGAS, I.; LÓPEZ, L.M.; PÉREZ-JIMÉNEZ, A.; PERES, H. Effect of fishmeal replacement by soy protein concentrate with taurine supplementation on hepatic intermediary metabolism and antioxidant status of totoaba juveniles (*Totoaba macdonaldi*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v.170, p.18-25, 2014.

BENDER, D.A. **Nutritional biochemistry of the vitamins**. 2ª ed. Cambridge: Cambridge University, United Kingdom, 2003.

CARANI, F.R.; AGUIAR, D.H.; ALMEIDA, F.L.A.; GONÇALVES, H.S.; PADOVANI, C.R.; DAL PAI SILVA, M. Morfologia e crescimento do músculo estriado esquelético no pirarucu *Arapaima gigas* Cuvier, 1817 (Teleostei, Arapaimidae). **Acta Scientiarum-Biological Sciences**, v.30, p.205-211, 2008.

CHATZIFOTIS, S.; POLEMITOU, I.; DIVANACH, P.; ANTONOPOULOU, E. Effect of dietary taurine supplementation on growth performance and bile salt activated lipase activity of common dentex, *Dentex dentex*, fed a fish meal/soy protein concentrate-based diet. **Aquaculture**, v.275, p.201-208, 2008.

CARDOSO, A.P.; RADÜNZ NETO, J.; MEDEIROS, T.S.; KNÖPKER, M.A.; LAZZARI, R. Criação de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) alimentadas com rações granuladas contendo fígados ou hidrolisados. **Acta Scientiarum-Animal Sciences**, v.26, p.457-462, 2004.

COLDEBELLA, I.J.; RADÜNZ NETO, J.; MALLMANN, C.A.; VEIVERBERG, C.A.; BERGAMIN, G.T.; PEDRON, F.A.; FERREIRA, D.; BARCELLOS, L.J.G. The effects of different protein levels in the diet on reproductive indexes of *Rhamdia quelen* females. **Aquaculture**, v.312, p.137-144, 2011.

EL-SAYED, A.F.M. Is dietary taurine supplementation beneficial for farmed fish and shrimp? a comprehensive review. **Reviews in Aquaculture**, v.5, p.1-15, 2013.

ESPE, M.; RATHORE, R.M.; DU, Z.Y.; LIASET, B.; EL-MOWAFI, A. Methionine limitation results in increased hepatic FAS activity, higher liver 18: 1 to 18: 0 fatty acid ratio and hepatic TAG accumulation in atlantic salmon, *Salmo salar*. **Amino Acids**, v.39, p.449-460, 2010.

ESPE, M.; EL-MOWAFI, A.; RUOHONEN, K. Replacement of fishmeal with plant protein ingredients in diets to atlantic salmon (*Salmo salar*)—effects on weight gain and accretion. **Aquaculture**, p.43-58, 2012. Disponível em: www.cdh.intechopen.com/pdf27103. Acesso em 20 de dezembro de 2014.

FERREIRA, F.M.; PARK, Y.; CHOI, S. Effects of taurine supplementation on the growth performance of juvenile rock bream *Oplegnathus fasciatus*. **Fisheries and Aquatic Sciences**, v.17, p.255-261, 2014.

FINN, R.N.; FYHN, H.J. Requirement for amino acids in ontogeny of fish. **Aquaculture Research**, v.41, p.684-716, 2010.

FONTINELLI, E.; RADÜNZ NETO, J. Efeito do concentrado proteico de soja em rações, com e sem suplementação em aminoácidos, para pós-larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Revista Brasileira de Agrociência**, v.13, p.225-229, 2007.

GATLIN III, D.M.; BARROWS, F.T.; BROWN, P.; DABROWSKI, K.; GAYLORD, T.G.; HARDY, R.W.; HERMAN, E.; HU, G.; KROGDAHL, Å.; NELSON, R.; OVERTURF, K.; RUST, M.; SEALEY, W.; SKONBERG, D.; SOUZA, E.J.; STONE, D.; WILSON, R.; WURTELE, E. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. **Aquaculture Research**, v.38, p.551-579, 2007.

HAN, Y.; KOSHIO, S.; JIANG, Z.; REN, T.; ISHIKAWA, M.; YOKOYAMA, S.; GAO, J. Interactive effects of dietary taurine and glutamine on growth performance, blood parameters and oxidative status of japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). **Aquaculture**, v.434, p.348-354, 2014.

HERNÁNDEZ, D.R.; SANTINÓN, S.S.J.J.; DOMITROVIC, H.A. Fontes não-convencionais de proteína na primeira alimentação do bagre sul americano (*Rhamdia quelen*). **Ciência Rural**, v.39, p.878-884, 2009.

HERNÁNDEZ, D.R.; SANTINÓN, J.J.; SÁNCHEZ, S.; DOMITROVIC, H.A. Dietary soybean meal on growth and intestinal morphology of south american catfish, *Rhamdia quelen*, larvae. **Ciência Rural**, v.42, p.1662-1668, 2012.

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

JOHNSTON, I.A.; ALDERSON, R.; SANDHAM, C.; DINGWALL, A.; MITCHELL, D.; SELKIRK, C.; Nickell, D.; BAKER, R.; ROBERTSON, B.; WHYTE, D.; SPRINGATE, J. Muscle fibre density in relation to colour and texture of smoked atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Aquaculture**, v.189, p.335-349, 2000.

JOHNSTON, I.A.; LEE, H.T.; MACQUEEN, D.J.; PARANTHAMAN, K.; KAWASHIMA, C.; ANWAR, A.; KINGHORN, J.R.; DALMAY, T. Embryonic temperature affects muscle fibre recruitment in adult zebrafish: genome-wide changes in gene and micro-RNA expression

associated with the transition from hyperplastic to hypertrophic growth phenotypes. **Journal of Experimental Biology**, v.212, p.1781-1793, 2009.

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

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

KEEMBIYEHETTY, C.N.; GATLIN III, D.M. Total sulfur amino acid requirement of juvenile hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*). **Aquaculture**, v.110, p.331-339, 1993.

KOMINKOVA, M.; HORKY, P.; CERNEI, N.; TMEJOVA, K.; RUTTKAY-NEDECKY, B.; GURAN, R.; POHANKA, M.; ZITKA, O.; ADAM, V.E; KIZEK, R. Optimization of the glutathione detection by high performance liquid chromatography with electrochemical detection in the brain and liver of rats fed with taurine. **International Journal of Electrochemical Science**, v.10, p.1716-1727, 2015.

KUZMINA, V.V.; GAVROVSKAYA, L.K.; RYZHOVA, O.V. Taurine. Effect on exotrophia and metabolism in mammals and fish. **Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology**, v.46, p.19-27, 2010.

LARSEN, B.K.; DALSGAARD, J.; PEDERSEN, P.B. Effects of plant proteins on postprandial, free plasma amino acid concentrations in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.326-329, p.90-98, 2012.

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

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

LIM, S.J.; LEE, K.J. Supplemental iron and phosphorus increase dietary inclusion of cottonseed and soybean meal in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). **Aquaculture Nutrition**, v.14, p.423-430, 2008.

MATSUNARI, H.; FURUITA, H.; YAMAMOTO, T.; KIM, S.K.; SAKAKURA, Y.; TAKEUCHI, T. Effect of dietary taurine and cystine on growth performance of juvenile red sea bream *Pagrus major*. **Aquaculture**, v.274, p.142-147, 2008.

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

PINTO, W.; FIGUEIRA, L.; RIBEIRO, L.; YÚFERA, M.; DINIS, M.T.; ARAGÃO, C. Dietary taurine supplementation enhances metamorphosis and growth potential of *Solea senegalensis* larvae. **Aquaculture**, v.309, p.159-164, 2010.

PINTO, W.; FIGUEIRA, L.; SANTOS, A.; BARR, Y.; HELLAND, S.; DINIS, M.T.; ARAGÃO, C. Is dietary taurine supplementation beneficial for gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae? **Aquaculture**, v.1-5, p.384-387, 2013.

PORTELLA, M.C.; JOMORI, R.K.; LEITÃO, N.J.; MENOSSI, O.C.C.; FREITAS, T.M.; KOJIMA, J.T.; LOPES, T.S.; CLAVIJO-AYALA, J.A.; CARNEIRO, D.J. Larval development of indigenous South American freshwater fish species, with particular reference to pacu (*Piaractus mesopotamicus*): A review. **Aquaculture**, v.432, p.402-417, 2014.

RADÜNZ NETO, J. Manejo alimentar – Nutrição. In: BALDISSEROTTO, B.; RADÜNZ NETO, J. **Criação de Jundiá**. Santa Maria: Ed.UFSM, 2004, cap.8, p.143-157.

SAAVEDRA, M.; BARR, Y.; POUSÃO-FERREIRA, P.; HELLAND, S.; YÚFERA, M.; DINIS, M.T.; CONCEIÇÃO, L.E.C. Supplementation of tryptophan and lysine in *Diplodus sargus* larval diet: effects on growth and skeletal deformities. **Aquaculture Research**, v.40, p.1191-1201, 2009.

SALZE, G.P.; DAVIS, D.A. Taurine: A critical nutrient for future fish feeds. **Aquaculture**, v.437, p.215-229, 2015.

SILVA, P.; ROWLERSON, A.M.; VALENTE, L.M.P.; OLMEDO, M.; MONTEIRO, R.A.F.; ROCHA, E. Muscle differentiation in blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*, Brunnich): Histochemical and immunohistochemical study of the fibre types. **Tissue and Cell**, v.40, p.447-458, 2008.

TAKEUCHI, T. Progress on larval and juvenile nutrition to improve the quality and health of seawater fish: a review. **Fisheries Science**, v.80, p.389-403, 2014.

TROMBETTA, C.G.; RADÜNZ NETO, J.; LAZZARI, R. Suplementação vitamínica no desenvolvimento de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência e Agrotecnologia**, v.30, p.224-229, 2006.

TRONCO, A.P.; RADÜNZ NETO, J.; MEDEIROS, T.S.; LIMA, R.L. Alimentação de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) com dietas semipurificadas e fontes lipídicas. **Boletim Instituto de Pesca**, v.33, p.9-17, 2007.

ULIANA, O.; SILVA, J.H.S.; RADÜNZ NETO, J. Diferentes fontes de lipídios testadas na criação de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*), Pisces, Pimelodidae. **Ciência Rural**, v.31, p.129-133, 2001.

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

CAPÍTULO VII

ATIVIDADE ENZIMÁTICA NA LARVICULTURA DO JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) ALIMENTADAS COM DIETAS COMPOSTAS SUPLEMENTADAS¹

Resumo: A utilização de dietas elaboradas como primeiro alimento para peixes depende da presença e ação eficiente das enzimas digestivas. A utilização do concentrado proteico de soja (CPS), por seu adequado perfil de aminoácidos e reduzido percentual de fatores antinutricionais pode contribuir para a melhora de dietas já existentes. A adição de taurina em dietas para pós-larvas pode suprir deficiências nutricionais. Neste trabalho foi analisada a adição do CPS suplementado com taurina (CPST) em dietas e sua influência na atividade enzimática e desenvolvimento do sistema digestório de pós-larvas de jundiá. Foram utilizadas as dietas: padrão; 15CPST; 20CPST; 25CPST e 30CPST. O CPS foi incluído em substituição ao fígado de aves e suplementado com taurina: 0; 0,5; 1,0; 1,5; 0,35%, respectivamente. A atividade enzimática e análise do desenvolvimento do sistema digestório foram realizadas antes da primeira alimentação e a cada sete dias. Foram analisadas: proteína corporal, protease ácida, tripsina, quimotripsina, lipase, amilase e maltase. A atividade da tripsina e quimotripsina foram menores para as pós-larvas alimentadas com a dieta padrão, 25CPST e 30CPST e a atividade da lipase foi maior nas dietas 25CPST e 30CPST. Não houve influência da dieta no desenvolvimento do sistema digestório. A inclusão de 15% de CPS suplementado com taurina em dietas para pós-larvas de jundiá melhora a atividade enzimática sem influenciar no desenvolvimento do sistema digestório.

Palavras-chave: Concentrado proteico de soja. Quimotripsina. Taurina. Tripsina.

¹Os procedimentos experimentais deste trabalho foram aprovados pelo comitê de ética no uso dos animais - UFSM, parecer nº062/2013.

7.1 Introdução

As pós-larvas de jundiá aceitam dietas elaboradas na troca da alimentação endógena (reservas vitelinas) como única fonte de alimento (PIAIA e RADÜNZ NETO, 1997b). Neste momento podemos inferir que existe atividade enzimática atuante sobre o alimento ingerido de forma a contribuir com o crescimento e a sobrevivência das pós-larvas de jundiá. A capacidade digestiva dos peixes está associada ao tipo e à concentração das enzimas produzidas (PRETTO et al., 2014). As enzimas digestivas agem de acordo com a composição da dieta e com o hábito alimentar de cada espécie. Fatores como a fonte, qualidade e concentração de nutrientes na dieta podem modificar o padrão digestivo das espécies (RODILES et al., 2012).

O conhecimento de cada enzima presente no trato e a caracterização e quantificação da atividade enzimática podem contribuir para a elaboração de programas alimentares eficientes e busca de ingredientes alternativos (COSTA et al., 2011). Na maior parte das pós-larvas, devido à falta de estômago, a degradação extracelular do alimento ingerido é feita no intestino com enzimas derivadas do pâncreas (BOLASINA et al., 2006). Muitos estudos têm-se concentrado na avaliação da atividade de diferentes enzimas digestivas do pâncreas, do estômago, intestino e sua quantificação bioquímica (LAZO et al., 2011). Os estudos histológicos contribuem com importantes informações para melhorar o entendimento dos processos digestórios das pós-larvas de peixes (YANG et al., 2010).

A inclusão de ingredientes de origem vegetal na alimentação de pós-larvas de jundiá, foi testada inicialmente por Piaia e Radünz Neto (1997a), utilizando farelo de soja. Posteriormente, Fontinelli e Radünz Neto (2007) testaram a inclusão do concentrado proteico de soja com e sem adição de aminoácidos sintéticos, ambos não conseguiram resultados satisfatórios de crescimento e sobrevivência, naquelas condições experimentais. O concentrado proteico de soja (CPS) é uma fonte proteica de qualidade, apresenta quantidade significativa de proteína (60 a 65% PB) (FONTINELLI e RADÜNZ NETO, 2007), bom balanço de aminoácidos. Mas pode apresentar deficiência em alguns aminoácidos essenciais, como a lisina, metionina (KAUSHIK et al., 1995) e cistina, menor digestibilidade da proteína, fatores antinutricionais (FONTINELLI e RADÜNZ NETO, 2007) e má palatabilidade (CHATZIFOTIS et al., 2008).

A taurina está relacionada com a exigência fisiológica dos peixes, especialmente importantes na fase inicial de desenvolvimento, devido às altas taxas metabólicas e formação

de novas estruturas (PINTO et al., 2013). A capacidade de biossíntese da taurina varia entre as espécies e ao longo ontogênese (KIM et al., 2008). O alimento vivo para as larvas de peixes (copépodos) no ambiente natural contêm níveis elevados de taurina (CONCEIÇÃO et al., 1997; VAN DER MEEREN et al., 2008), sugerindo exigência fisiológica elevada de taurina durante a fase larval (PINTO et al., 2013). A taurina é o principal aminoácido livre na manutenção do equilíbrio osmótico em larvas de carpa comum (ZHANG et al., 2006). Ela aumenta o consumo diário de ração (CHATZIFOTIS et al., 2008), mas sua suplementação na dieta não resulta em aumento dos níveis corporais de taurina, pois é um aminoácido que não é utilizado para formação de proteína (PINTO et al., 2013). As funções da taurina vão desde a conjugação com sais biliares, estabilização das membranas, regulação osmótica e antioxidação (SALZE e DAVIS, 2015).

Portanto, este trabalho teve como objetivo analisar a inclusão do concentrado proteico de soja suplementado com taurina na dieta de pós-larvas de jundiá e sua influencia na atividade enzimática e no desenvolvimento do sistema digestório.

7.2 Material e métodos

O trabalho foi realizado no Laboratório de Piscicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria. Os animais foram alimentados com dietas granuladas por 28 dias, alojados em sistema de recirculação composto de 20 unidades experimentais. Foram testadas cinco dietas com quatro repetições. Cada unidade experimental foi composta por dois recipientes plásticos dotados de tela lateral para impedir a saída das pós-larvas. Com abastecimento e escoamento individuais, conectados em sistema de recirculação de água termorregulado e filtro biológico. A vazão utilizada em cada recipiente foi de 0,20 L/min na primeira semana experimental (TRONCO et al., 2007), sendo aumentada gradativamente durante o período experimental. Foram utilizadas 240 pós-larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) por unidade experimental totalizando 45 pós-larvas por litro. Os animais foram alimentados a cada 2 horas, entre 08h e 20h, à vontade.

As dietas testadas foram: Padrão; 15% de concentrado proteico de soja suplementado com taurina (CPST); 20CPST; 25CPST e 30CPST. A dieta padrão constituía-se por fígado de aves *in natura* (30% - 22,14% MS), levedura de cana (37%), gema de ovo cozido (20%), lecitina de soja (2%), farelo de arroz desengordurado (8%), minerais (1%) e vitaminas (2%)

(adaptada de COLDEBELLA et al., 2011). Nas demais dietas, o fígado de aves foi substituído por concentrado proteico de soja (CPS) em percentuais crescentes e com adição de taurina (T). Quanto maior o percentual de CPS maior a adição de taurina, onde a dieta com 15% CPS adicionou-se 0,5% T, na dieta 20% CPS-1% T, na dieta 25% CPS-1,5% T e na dieta 30% CPS-0,35% T (dieta considerada controle negativo, pois em estudos anteriores a mortalidade foi alta).

Os ingredientes secos foram moídos até granulometria menor que 75 μm (TROMBETTA et al., 2006), misturadas, adicionado o fígado *in natura* e/ou água quando necessário e peletizadas em moedor de carne. Secas em estufa (40°C) de ar forçado por 24 horas, moídas e peneiradas para obter-se as granulometrias adequadas para a abertura da boca das pós-larvas, 100-200 μm , 200-400 μm , 400-600 μm , 600-800 μm , para cada semana experimental. Mantidas em refrigerador a 4°C e retiradas somente no momento da alimentação. O pH das rações experimentais foi analisado utilizando pHmetro (modelo MPA – 210 P), utilizando amostra de cinco gramas da dieta em 50 ml de água destilada.

O perfil lipídico das dietas (Tabela 2) foi analisado por Cromatografia Gasosa. Alíquotas (2 ml) do extrato lipídico de clorofórmio de Bligh e Dyer (1959) foram evaporados a 50°C, utilizando bomba de vácuo. Seguida por saponificação em solução de KOH metanólico e esterificação em solução de H₂SO₄ metanólico (HARTMAN e LAGO, 1973). Os ácidos graxos metilados foram analisados usando cromatógrafo gasoso Agilent Technologies (HP 6890) equipado com coluna capilar SP™ -2560 (sílica fundida, 100 m x 0,25 mm x 0,20 μm espessura de filme) e detector de ionização de chama. A temperatura da porta do injetor foi de 250°C e o gás transportador era nitrogênio (1,5 mL / min). Após injeção (1 μL , relação de separação de 50: 1), a temperatura do forno foi aumentada de 90°C a 170°C por 6°C / min, depois aumentada em 3°C / min até 185°C e mantida a esta temperatura durante 6 minutos. Posteriormente aumentada até 240°C a 3°C / min e mantida esta temperatura durante 8 minutos. A duração total da análise foi de 55 min. Ésteres metílicos de ácidos graxos padrão (Sigma, St. Louis, EUA) foram usados para identificar os ácidos graxos submetidos às mesmas condições e tempos de retenção. Os resultados foram expressos como percentagem da área total dos ácidos graxos identificados.

As coletas para quantificação da atividade enzimática foram realizadas pouco antes da primeira alimentação e a cada sete dias nas biometrias. As amostras foram coletadas sempre pela manhã antes da alimentação. Os animais foram abatidos por hipotermia para que não houvesse influencia de anestésicos na amostra. Cada unidade experimental consistia em uma repetição, ou seja, as pós-larvas coletadas eram homogeneizadas conjuntamente formando a

amostra a ser analisada em duplicata. Em cada unidade experimental foi coletado 10 pós-larvas que formavam a amostra. Então foi analisado quatro amostras de cada tratamento.

As amostras foram homogeneizadas com solução tampão pH 7,0 na proporção de 0,1 mg de tecido para cada 1 ml de solução. Posteriormente centrifugados a 3500 RPM por 10 minutos. Os sobrenadantes foram usados como fonte enzimática para determinação da atividade da proteína corporal total (BRADFORD, 1976), protease ácida (HIDALGO et al., 1999), tripsina e quimotripsina (HUMMEL, 1959), lipase (ALBRO et al., 1985), amilase (BERNFELD, 1955) e maltase (CORRÊA et al., 2007).

A análise do desenvolvimento do sistema digestório foi realizada através de amostras de cinco pós-larvas por tratamento em cada período, coletadas ao iniciar a alimentação e a cada sete dias até o 28º dia de alimentação. As amostras foram fixadas em solução Bouin por 12 horas e posteriormente conservadas em álcool 70% até a realização das análises. Posteriormente foram desidratadas em etanol, diafanizadas em xilol e embebidas em parafina, conforme metodologia descrita por Cargnin-Ferreira e Sarasquete (2008). Então, secções histológicas foram cortadas com espessura de 5 µm em micrótono rotativo e coradas com hematoxilina-eosina.

Lâminas histológicas das pós-larvas coletadas foram realizadas através de cortes seriados do material com a finalidade de analisar o desenvolvimento ontogenético de todos os órgãos que compõem o sistema digestório (estômago, intestino, pâncreas e fígado). Foram avaliadas em fotomicroscópio de luz (Zeiss, modelo Primo Star). Todas as pós-larvas coletadas para análise foram abatidas por “overdose” de benzocaína (250 mg/l) (AVMA, 2007).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. Inicialmente, todos os dados obtidos foram submetidos a teste de normalidade de Shapiro-Wilk, sendo considerados de distribuição normal aqueles dados que apresentaram $P > 0,05$. Posteriormente foi realizada a análise de regressão e teste de Tukey. O nível mínimo de significância adotado na análise estatística foi de 5% ($p < 0,05$).

7.3 Resultados e Discussão

As pós-larvas alimentadas com a dieta 30CPST apresentaram redução da proteína corporal total aos sete e 14 dias de alimentação em relação às pós-larvas alimentadas com as

demais dietas (Tabela 1). As pós-larvas alimentadas com as dietas 15CPST; 20CPST e 25CPST apresentaram maior proteína corporal aos 7 e 14 dias de alimentação, este resultado pode ter influência da quantidade de taurina adicionada a dieta. A suplementação de taurina auxiliou na manutenção do metabolismo e consequente deposição proteica corporal, pois é um aminoácido que não é utilizado para formação de proteína (PINTO et al., 2013). Ao final do experimento, não foram observadas diferenças entre as dietas testadas. Estes resultados podem indicar adaptação do sistema digestório das pós-larvas de jundiá, na tentativa de manter o desenvolvimento.

A atividade da protease ácida foi maior para as pós-larvas de jundiá alimentadas com a dieta padrão e com a dieta 30CPST aos sete dias de alimentação. Nos outros períodos analisados não foram encontradas diferenças (Tabela 1). A atividade enzimática citosólica é elevada durante os primeiros dias de desenvolvimento, seguido por uma diminuição contínua ao longo das semanas seguintes, em que as atividades de enzimas da borda em escova aumentam e a atividade de pepsina é pela primeira vez detectada no estômago (MOGUELHERNÁNDEZ et al., 2013). Em estudo com juvenis de *Solea senegalensis*, Rodiles et al. (2012) encontraram capacidade de modular a secreção da protease digestiva quando a concentração e/ou fonte de proteína na dieta é modificada.

As dietas padrão e 30CPST continham menor percentual de taurina em sua composição, á dieta padrão não foi adicionada taurina e a dieta 30CPS foi adicionada o mínimo, sendo esta considerada controle negativo. A taurina auxilia na manutenção do metabolismo, estando relacionada com a exigência fisiológica dos peixes (PINTO et al., 2013). Nas dietas com menor quantidade de taurina, houve maior produção da protease ácida para auxiliar na digestão das mesmas. A protease ácida é responsável pela hidrólise inicial e parcial das proteínas no estômago (MORAES e ALMEIDA, 2014) esta pode ter sido influenciada pelo percentual de taurina que contribuiu para regular o metabolismo e assim houve menor necessidade de maior produção da enzima quando maiores quantidades foram adicionadas.

A tripsina já estava presente antes da primeira alimentação das pós-larvas de jundiá (Tabela 1). A tripsina é uma endoproteinase que hidrolisa ligações peptídicas (MORAES e ALMEIDA, 2014), está diretamente ligada ao metabolismo de proteínas e está presente em larvas de peixes muito precocemente (BOLASINA et al., 2006). A atividade da tripsina nas pós-larvas de jundiá, aos sete e 14 dias analisados foi decrescendo conforme aumento da inclusão do CPS na dieta. Estes resultados podem estar relacionados com a mínima quantidade de antinutricionais (LARSEN; DALSGAARD; PEDERSEN, 2012) que ainda

Tabela 1. Proteína corporal total e atividade da protease ácida, tripsina e quimotripsina em pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas compostas de concentrado proteico de soja e suplementado com taurina

Tratamentos	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
Proteína corporal				
inicial	0,030 ± 0,01			
Padrão	0,040 ^{ab} ± 0,006	0,280 ^a ± 0,011	0,195 ± 0,017	0,184 ± 0,022
15CPST	0,048 ^a ± 0,003	0,290 ^a ± 0,003	0,197 ± 0,009	0,188 ± 0,017
20CPST	0,046 ^a ± 0,01	0,288 ^a ± 0,011	0,192 ± 0,01	0,187 ± 0,022
25CPST	0,047 ^a ± 0,007	0,288 ^a ± 0,01	0,186 ± 0,011	0,189 ± 0,023
30CPST	0,032 ^b ± 0,006	0,220 ^b ± 0,029	0,190 ± 0,022	0,190 ± 0,02
P	0,0002	<0,0001	0,61	0,96
Protease ácida				
inicial	9,28 ± 3,37			
Padrão	17,87 ^a ± 3,37	4,20 ± 1,36	6,92 ± 1,29	3,65 ± 0,94
15CPST	4,33 ^b ± 0,97	2,75 ± 1,15	6,15 ± 1,97	3,32 ± 1,59
20CPST	5,78 ^b ± 0,85	3,12 ± 0,61	7,14 ± 1,94	3,24 ± 0,44
25CPST	5,33 ^b ± 1,02	4,02 ± 1,23	6,84 ± 2,01	3,04 ± 0,62
30CPST	10,69 ^{ab} ± 13,62	2,84 ± 1,86	7,06 ± 3,47	3,65 ± 1,78
P	0,005	0,09	0,91	0,80
Tripsina				
inicial	8,21 ± 3,95			
Padrão	16,10 ^a ± 2,25	2,09 ^a ± 0,25	2,21 ^{ab} ± 0,57	1,47 ^b ± 0,21
15CPST	12,66 ^b ± 1,50	1,72 ^b ± 0,14	2,03 ^{ab} ± 0,20	1,81 ^a ± 0,23
20CPST	11,72 ^{bc} ± 2,60	1,56 ^b ± 0,11	1,87 ^b ± 0,32	2,03 ^a ± 0,33
25CPST	9,47 ^c ± 2,58	1,51 ^{bc} ± 0,16	1,86 ^b ± 0,61	1,46 ^b ± 0,23
30CPST	9,17 ^c ± 1,61	1,20 ^c ± 0,43	2,90 ^a ± 0,97	1,42 ^b ± 0,10
P	<0,0001	<0,0001	0,008	<0,0001
Quimotripsina				
inicial	5516,4 ± 1792			
Padrão	12298,6 ^a ± 2181	1543,9 ^a ± 167	1716,6 ^b ± 414	1329,5 ^b ± 163
15CPST	10023,1 ^{ab} ± 812	1437,7 ^{ab} ± 125	1702,6 ^b ± 13	1717,6 ^a ± 169
20CPST	9157,1 ^b ± 2446	1293,8 ^{bc} ± 125	1592,7 ^b ± 197	1705,4 ^a ± 223
25CPST	7962,7 ^b ± 1674	1243,9 ^{bc} ± 129	1419,1 ^b ± 143	1304,6 ^b ± 153
30CPST	8307,6 ^b ± 1330	1105,1 ^c ± 175	2409,9 ^a ± 511	1241,1 ^b ± 81
P	0,0002	<0,0001	<0,0001	<0,0001

Valores expressos como média ± erro-padrão da média. Médias com letras diferentes, na coluna, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,01). Tratamentos: Dieta Padrão adaptada de Coldebella et al. (2011); 15CPST; 20CPST; 25CPST e 30CPST em substituição ao fígado de aves. CPS: concentrado proteico de soja, T: taurina. Proteína corporal (mg/g), protease ácida (ug tirosina/min/mg prot), tripsina (umol TAME/min/mg prot), quimotripsina (umol BTEE/min/mg prot). Inicial = biometria dia zero; 7 dias = biometria aos 7 dias de alimentação; 14 dias = biometria aos 14 dias de alimentação; 21 dias = biometria aos 21 dias de alimentação; 28 dias = biometria aos 28 dias de alimentação.

restam no concentrado proteico de soja após os processos de confecção. Os resultados deste estudo corroboram com Bowyer et al. (2013) que encontraram redução da atividade da tripsina em juvenis de “yellowtail kingfish” (*Seriola lalandi*) quando adicionaram percentuais crescentes (10 a 30%) de derivados de soja na dieta.

Aos 28 dias de alimentação a atividade da tripsina das pós-larvas alimentadas com a dieta 15CPST e 20CPST se mantiveram mais altas que dos demais tratamentos (Tabela 1). No final do período experimental a atividade da tripsina foi mais baixa para as pós-larvas alimentadas com a dieta padrão; 25CPST e 30CPST. Para as dietas com maiores percentuais de CPS, os resultados podem estar relacionados com a inibição da atividade da enzima devido a alguns componentes ainda presente no CPS (LARSEN; DALSGAARD; PEDERSEN, 2012), como alguns fatores antinutricionais (inibidor de proteases, taninos, oligossacarídeos, saponinas, etc.) que influenciam na digestão, absorção e metabolismo dos nutrientes (HOULIHAN et al., 2001) mesmo em pequenas quantidades. Para a dieta padrão, o percentual mais baixo em relação às outras dietas pode estar relacionado com o baixo percentual de taurina, como esta ajuda a regular o metabolismo (PINTO et al., 2013), aumentando a atividade nas dietas com percentuais maiores de taurina maximizando o desenvolvimento.

A quimotripsina já estava ativa no início da alimentação exógena (Tabela 1). As larvas de pargo rosa, *Lutjanus guttatus* (MOGUEL-HERNÁNDEZ et al., 2013), apresentam baixos níveis de atividade específica da quimotripsina quando ainda possuem reservas vitelínicas, dos 5 aos 25 dias. E aumentaram sua atividade com contínuas flutuações, atingindo atividade máxima em 30 dias após eclosão. Aos sete e 14 dias de alimentação a atividade da quimotripsina nas pós-larvas de jundiá reduziu conforme o aumento da inclusão do CPS. Ao final do período de alimentação a atividade da quimotripsina foi mais baixa para as pós-larvas alimentadas com a dieta padrão; 25CPST e 30CPST.

Resultados semelhantes ao encontrado para a tripsina, onde a menor atividade nas dietas com maiores percentuais de CPS pode ser devido a existência mesmo que mínima de princípios antinutricionais (LARSEN; DALSGAARD; PEDERSEN, 2012) ou ao menor percentual de inclusão de taurina, no caso da dieta padrão (Tabela 1). A atividade da quimotripsina em pargo da cauda amarela (*Ocyurus chrysurus*) começou aos 8 dias após eclosão, mostrando pequena diminuição de 10 a 12 dias e atingindo a sua máxima atividade entre 17-32 dias, quando alimentadas com alimento vivo enriquecido (AHUMADA-HERNÁNDEZ et al., 2014). Tendo em vista que o alimento vivo contém níveis elevados de taurina (CONCEIÇÃO et al., 1997; VAN DER MEEREN et al., 2008).

Tabela 2. Atividades da lipase, amilase, maltase em pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas com dietas compostas de concentrado proteico de soja suplementadas com taurina

Tratamentos	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
Lipase				
inicial	12,27 ± 3,33			
Padrão	21,01 ^a ± 3,11	2,31 ± 0,55	3,63 ± 1,04	2,51 ^b ± 0,58
15CPST	15,35 ^b ± 3,22	2,26 ± 0,42	4,12 ± 0,69	2,42 ^b ± 0,36
20CPST	16,86 ^{ab} ± 4,09	2,58 ± 0,54	3,83 ± 0,46	2,36 ^b ± 0,29
25CPST	14,78 ^b ± 1,60	1,91 ± 0,24	3,79 ± 0,75	2,67 ^{ab} ± 0,19
30CPST	18,22 ^{ab} ± 2,43	2,33 ± 0,83	4,61 ± 1,08	3,28 ^a ± 0,74
P	0,02	0,29	0,26	0,003
Amilase				
inicial	0,1457 ± 0,042			
Padrão	0,126 ^a ± 0,09	0,014 ^b ± 0,006	0,04 ± 0,02	0,018 ± 0,006
15CPST	0,104 ^{ab} ± 0,05	0,016 ^b ± 0,01	0,048 ± 0,026	0,016 ± 0,006
20CPST	0,147 ^a ± 0,04	0,026 ^a ± 0,003	0,036 ± 0,01	0,022 ± 0,02
25CPST	0,100 ^{ab} ± 0,03	0,012 ^b ± 0,003	0,039 ± 0,004	0,023 ± 0,027
30CPST	0,040 ^b ± 0,007	0,006 ^c ± 0,003	0,048 ± 0,035	0,025 ± 0,013
P	0,005	<0,0001	0,79	0,81
Maltase				
inicial	0,29 ± 0,14			
Padrão	0,388 ± 0,16	0,063 ± 0,01	0,120 ± 0,02	0,064 ± 0,005
15CPST	0,346 ± 0,11	0,076 ± 0,02	0,122 ± 0,02	0,06 ± 0,02
20CPST	0,365 ± 0,20	0,067 ± 0,01	0,124 ± 0,01	0,071 ± 0,02
25CPST	0,292 ± 0,08	0,057 ± 0,009	0,116 ± 0,02	0,06 ± 0,01
30CPST	0,344 ± 0,08	0,056 ± 0,02	0,122 ± 0,05	0,075 ± 0,01
P	0,71	0,022	0,82	0,47

Valores expressos como média ± erro-padrão da média. Médias com letras diferentes, na coluna, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (P<0,01). Tratamentos: Dieta Padrão adaptada de Coldebella et al. (2011); 15CPST; 20CPST; 25CPST e 30CPST em substituição ao fígado de aves. CPS: concentrado proteico de soja, T: taurina. Lipase (UI/mg proteína/min), amilase (UI/mg proteína/min), maltase (UI/mg proteína/min). Inicial = biometria dia zero; 7dias = biometria aos 7 dias de alimentação; 14 dias = biometria aos 14 dias de alimentação; 21 dias = biometria aos 21 dias de alimentação; 28 dias= biometria aos 28 dias de alimentação.

A atividade da lipase já estava presente no momento da primeira alimentação. Aos sete dias de alimentação as pós-larvas que receberam as dietas padrão; 20CPST e 30 CPST foram as que apresentaram maior atividade. Aos 14 e 21 dias não foram encontradas diferenças na atividade desta enzima para as dietas em análise. Ao final do período de alimentação, as pós-larvas alimentadas com as dietas 25CPST e 30CPST apresentaram maior atividade da enzima

lipase (Tabela 2). Mas ao estudar a atividade da lipase em “common sole” (*Solea solea L.*) Parma et al. (2013), encontraram atividade crescente nas pós-larvas de 4 a 33 dias após eclosão alimentadas apenas com microdieta. A lipase, enzima importante de origem pancreática que age no intestino atuando nos lipídeos presentes no quimo, liberando ácidos graxos e glicerol, os quais desempenham importantes funções energéticas, estruturais e hormonais no organismo (MOURA; OLIVEIRA; LANNA, 2012) muito importantes no período inicial de desenvolvimento.

A atividade da amilase na biometria inicial pode ser considerada alta, com o passar do período experimental ela foi reduzindo, seguida de ligeiro aumento aos 21 dias (Tabela 2). Estes resultados corroboram com o trabalho realizado por Hauville et al. (2014), que encontrou a mesma conformação para atividade da amilase pancreática para pós-larvas de “florida pompano” (*Trachinotus carolinus*) avaliado no período de 15 a 30 dias após eclosão. Mas ao estudar o “common sole” (*Solea solea L.*), Parma et al. (2013) encontraram atividade crescente da amilase em pós-larvas de 4 a 33 dias após eclosão alimentadas apenas com microdieta. Os peixes que têm intestino curto possuem menor percentual de amilase e lipase em seu aparelho digestório que os peixes com intestino longo (CARUSO et al., 2009).

A atividade da amilase aos sete dias de alimentação foi mais alta para as pós-larvas alimentadas com as dietas padrão e 20CPST em relação às demais. Aos 14 dias a atividade das pós-larvas alimentadas com a dieta 20CPST se manteve mais alta que os demais tratamentos e as pós-larvas alimentadas com a 30CPST apresentaram a mais baixa atividade da enzima amilase. Nos demais períodos analisados não foram observadas alterações na atividade da enzima amilase em decorrência da alimentação fornecida. A atividade da maltase nas pós-larvas alimentadas com as diferentes dietas não apresentou alterações no decorrer do período experimental. A suplementação com taurina não influenciou a atividade da maltase em pós-larvas de jundiá (Tabela 2).

O perfil lipídico da dieta 15CPST pode ser considerado adequado (Tabela 3), pois o desenvolvimento dos animais foi máximo de acordo com a escala (Figura 1). A deficiência dietética de ácidos graxos essenciais podem cessar o crescimento e aumentar a mortalidade (GARCIA et al., 2012). A exigência em ácidos graxos essenciais para juvenis de “catfish” (*Ictalurus punctatus*) é de 1,0-2,0% (C18:3 n-3) (NRC, 2011), então podemos inferir que as concentrações de n-3 de todas as dietas estavam em níveis considerados adequados.

Tabela 3. Perfil lipídico das dietas utilizadas na alimentação de pós-larvas de jundiá

Ácidos Graxos*	Padrão	15CPST	20CPST	25CPST	30CPST
C16:0	25,19	25,89	26,10	25,46	25,90
C16:1	3,02	3,47	3,72	3,20	3,59
C18:0	10,48	9,25	8,10	8,64	7,43
C18:1 n-9	34,75	35,61	35,05	36,45	36,64
C18:1 n-7	1,85	2,04	2,04	1,86	2,07
C18:2 n-6	15,56	16,47	17,74	17,33	17,92
C18:3n-3	0,73	0,86	0,97	0,98	1,12
C20:4 n-6	3,64	2,54	2,35	2,08	1,56
C22:6n-3	0,79	0,55	0,64	0,47	0,44
Σsaturados	37,14	36,55	35,82	35,68	35,07
ΣInsaturados	62,86	63,45	64,18	64,32	64,93
Saturado/insaturado	0,59	0,58	0,56	0,55	0,54
ΣMonoinsaturados	40,45	41,81	41,29	42,31	43,00
ΣPoliinsaturados	22,41	21,64	22,89	22,01	21,93
Σn-3	1,74	1,56	1,75	1,56	1,62
Σn-6	20,67	20,08	21,14	20,45	20,31
n-6/n-3	11,85	12,91	12,18	13,12	12,69

Os ácidos graxos C4:0, C6:0, C11:0, C13:0, C15:1 n-5, C17:1 n-7, C18:2 n-6t, C20:0, C 21:0, C20:3 n-3, C22:0, C22:1 n-9, C 22:2 n-6, C23:0, C24:0, não foram detectados nas amostras. Os ácidos graxos C8:0; C10:0, C14:0, C14:1 n-5, C15:0, C17:0, C18:1 n-9, C 18:3 n-6, C20:1 n-9, C20:3 n-6, C22:4 n-6, C22:5 n-6, C22:5 n-3 foram encontrados em quantidade inferior a 0,5%. *Análise realizada no laboratório NIDAL/UFMS. Tratamentos: Dieta Padrão (adaptada de Coldebella et al., 2011), 15CPST (concentrado proteico de soja mais taurina); 20CPST; 25CPST e 30CPST em substituição ao fígado de aves.

Os percentuais do ácido esteárico (C18:0), ácido araquidônico (C20:4 n-6), ácido docosahexanóico (C22:6 n-3) decresceram na composição das dietas conforme aumento da inclusão do CPS (Tabela 3). O fígado de aves é reconhecido como uma valiosa fonte de nutrientes, principalmente em ácidos graxos. Segundo Ciešlik et al. (2011), o ácido graxo saturado predominante nesta fonte é o palmitato (C16:0) seguido do estearato (C18:0). O ácido poli-insaturado predominante é o linoleico (C18:2) e o araquidônico (C20:4) foi o segundo mais importante de ácidos graxos n-6. Os ácidos graxos poliinsaturados como o ácido docohexanóico (DHA), eicosapentanóico (EPA) (C20:5 n-3) e o ácido araquidônico (ARA) tem importantes funções fisiológicas como: componentes estruturais chave facilitadores de reações e processos, precursores de eicosanóides (ARA) que são substâncias ativas como hormônios (IZQUIERDO e KOVEN, 2011). Que em níveis menores podem ter contribuído para o menor desenvolvimento das pós-larvas alimentadas com as dietas com maiores níveis de inclusão de concentrado proteico de soja. A exigência em ácido graxo

essencial para a maioria das espécies na fase larval é maior que na fase juvenil e adulta (GARCIA et al., 2012).

O percentual de ácidos graxos saturados e a relação saturado/insaturado na composição da dieta foram menores conforme aumento da inclusão do CPS (Tabela 3). Os ácidos graxos essenciais têm três funções importantes nas larvas e juvenis de peixes, são fonte de energia metabólica, componentes estruturais das membranas celulares e precursores das moléculas bioativas (IZQUIERDO e KOVEN, 2011). A redução dos ácidos graxos nas dietas com maiores percentuais de CPS podem ter contribuído para estagnar o desenvolvimento das pós-larvas de jundiá.

Os pHs das dietas foram Padrão (4,73); 15CPST (5,35); 20CPST (5,42); 25 CPST (5,46); 30CPST (5,40). O pH do estômago varia entre 2,0 e 3,0 permitindo assim a desnaturação de proteínas e começo da hidrólise (SADO et al., 2014). A dieta 15CPST apresentou o menor pH, o que pode ter contribuído para o melhor desenvolvimento das pós-larvas que consumiram esta dieta.

Na análise histológica dos órgãos não se verificou diferenças para as pós-larvas alimentadas com as dietas testadas, apenas o tamanho dos órgãos foi proporcional ao maior desenvolvimento atingido pelas pós-larvas alimentadas com a dieta 15CPST. Foram analisados o estômago, fígado, intestino e pâncreas (Figura 1). Estes órgãos já estavam presentes na primeira análise das pós-larvas antes de iniciar a alimentação. Às 16 horas após eclosão estes órgãos já são evidentes nas larvas de jundiá (SILVEIRA et al., 2013).

A análise do desenvolvimento do trato digestório foi realizada, mas nenhuma anormalidade foi detectada (Figura 1). Juvenis de “egyptian sole” *Solea aegyptiaca* alimentados com dietas adicionadas de até 30% de farelo de soja (BONALDO et al., 2006) não apresentaram diferenças significativas na aparência do intestino, nem nas células da mucosa intestinal. O intestino possui as vilosidades e microvilosidades, onde ocorre a maior parte da digestão enzimática dos alimentos através de enzimas oriundas do pâncreas ou das células secretoras da parede intestinal (SADO et al., 2014).

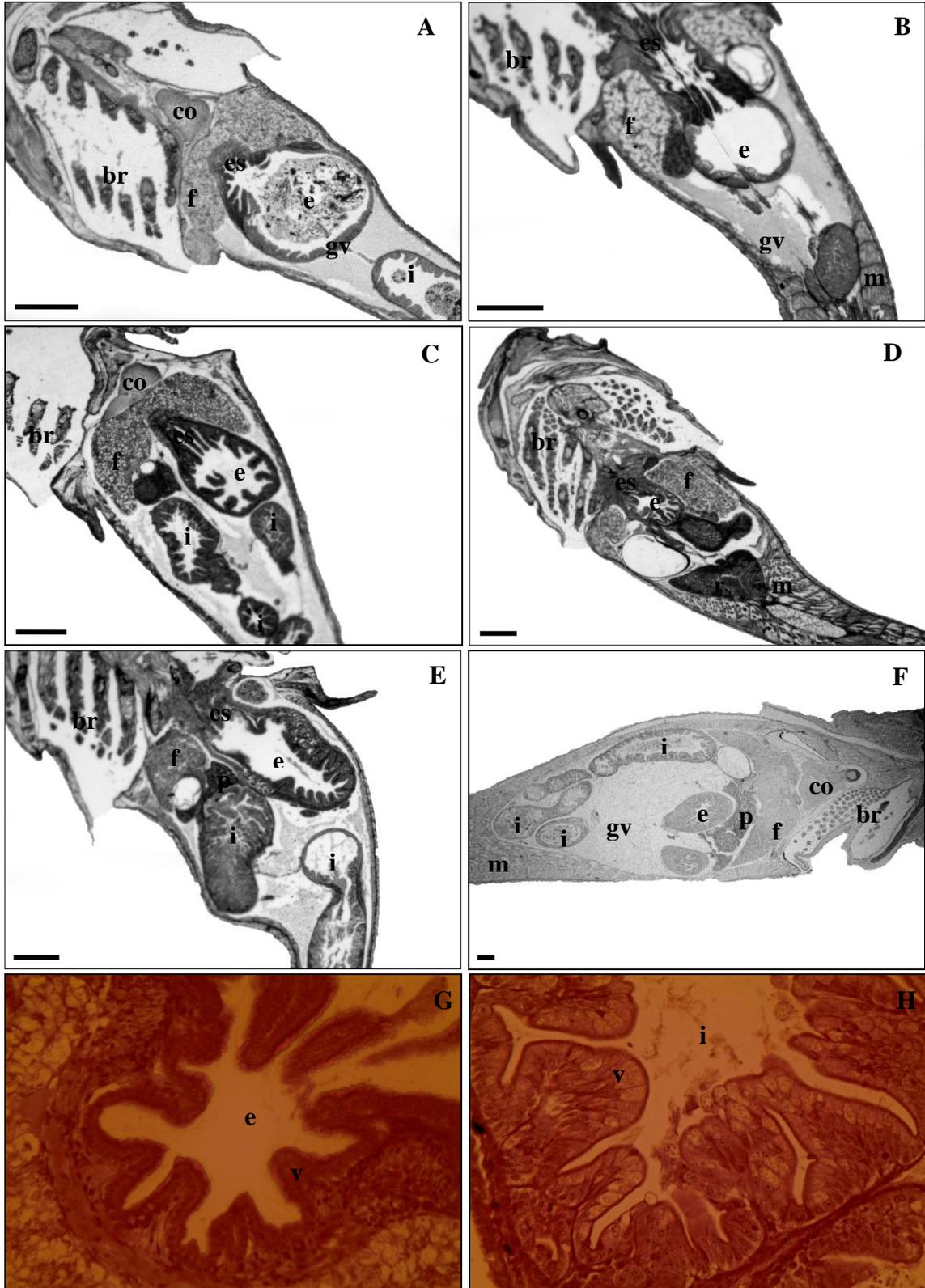


Figura 1. Exemplos de pós-larvas de jundiá alimentadas com dietas compostas de concentrado proteico de soja e suplementadas com taurina Dietas 30CPST (A, C, E) e 15CPST (B, D, F) tempos (7, 14 e 21 dias) em cortes seriados longitudinais. (G e H) cortes histológicos representativos do estômago e intestino de pós-larvas alimentadas com a dieta 15CPST aos 7 dias. (br) brânquias; (co) coração (e) estômago; (es) esôfago; (f) fígado; (gp) gordura perivisceral; (i) intestino; (m) músculo; (p) pâncreas; (r) rim. Escala: 1 mm. Coloração: Vanderbilt modificado.

As vilosidades intestinais (Figura 1H) das pós-larvas de jundiá não apresentaram alteração na altura e na quantidade de vilos em relação aos tratamentos testados. Segundo Moraes e Almeida (2014), as estruturas digestivas dos peixes refletem a variação das fontes de nutrientes do alimento ingerido, as vilosidades do intestino dos peixes não são bem diferenciadas e parecem mais com pseudo-vilosidades ou pregas.

As pós-larvas alimentadas com a dieta 15CPST apresentaram melhor desenvolvimento e conseqüentemente maior tamanho (Figura 1). Em estudo com juvenis de “yellowtail kingfish” (*Seriola lalandi*), Bowyer et al. (2013) encontraram redução das células caliciformes no intestino quando adicionaram percentuais crescentes (10 a 30%) de derivados de soja na dieta. Segundo Couto et al. (2015), o farelo de soja induz a inflamação no intestino distal de salmonídeos. Inúmeras enzimas relacionadas com os processos digestivos e absorptivos estão localizadas nas células epiteliais colunares ao longo da borda estriada, proporcionando a estas células a função de absorção de partículas alimentares e moléculas além da função digestiva (MORAES e ALMEIDA, 2014).

A inclusão da taurina melhorou o desenvolvimento das pós-larvas de jundiá, onde na dieta 15CPST pode-se observar (Figura 1) maior tamanho dos peixes e conseqüentemente maior tamanho dos órgãos, de acordo com a escala. Algumas espécies parecem se beneficiar com a suplementação de taurina, melhorias foram observadas nas taxas de crescimento e sobrevivência, bem como no desenvolvimento morfológico e atividade de enzimas digestivas (SALZE e DAVIS, 2015).

A inclusão do concentrado proteico de soja em percentuais maiores que 15% reduz a atividade da tripsina e quimotripsina; aumenta a atividade da lipase, mas não influencia no desenvolvimento do sistema digestório. Tudo isso pode ter influência de princípios antinutricionais ainda presentes no CPS ou devido à redução dos percentuais de taurina e de ácidos graxos importantes para dieta de pós-larvas de jundiás nesta fase.

7.4 Conclusão

A inclusão de 15% de CPS suplementado com taurina (0,5%) em dietas para pós-larvas de jundiá melhora a atividade enzimática sem influenciar no desenvolvimento do sistema digestório.

7.5 Agradecimentos

À Universidade Federal de Santa Maria pelas instalações e equipamentos disponibilizados para a realização dos experimentos. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo período de bolsa. À FAPERGS pela bolsa de iniciação científica. À ICC pela doação da levedura de cana. Ao IFSC (Professor Eduardo Cargnin Ferreira) pela realização das análises histológicas. À FAPERGS – Processo 11.1175/1 pelo apoio financeiro.

7.6 Referências Bibliográficas

ALBRO, P.W.; HALL, R.D.; CORBETT, J.T.; SCHROEDER, J. Activation of nonspecific lipase (EC3.1.1.) by bile salts. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.835, p.477-490, 1985.

American Veterinary Medical Association (AVMA). **Guidelines on Euthanasia** (Formerly Report of the AVMA Panel on Euthanasia). American Veterinary Medical Association (AVMA), United States of America, 2007.

AHUMADA-HERNÁNDEZ, R.I.; ALVAREZ-GONZÁLEZ, C.A.; GUERRERO-ZÁRATE, R.; MARTÍNEZ-GARCÍA, R.; CAMARILLO-COOP, S.; SÁNCHEZ-ZAMORA, A.; GAXIOLA-CORTES, M.G.; PALOMINO-ALBARRÁN, I.G.; TOVAR-RAMÍREZ, D.; GISBERT, E. Changes of digestive enzymatic activity on yellowtail snapper (*Ocyurus chrysurus*) during initial ontogeny. **International Journal of Biology**, v.6, p.110-118, 2014.

BERNFELD, P. Amylases α e β : colorimetric assay methods. In: Colowick, S.P.; Kaplan, N. O. **Methods in enzymology**, New York: Academic Press, 1955.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, p.911-917, 1959.

BOLASINA, S.; PÉREZ, A.; YAMASHITA, Y. Digestive enzymes activity during ontogenetic development and effect of starvation in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. **Aquaculture**, v.252, p.503-515, 2006.

BONALDO, A.; ROEM, A.J.; PECCHINI, A.; GRILLI, E.; GATTA, P.P. Influence of dietary soybean meal levels on growth, feed utilization and gut histology of egyptian sole (*Solea aegyptiaca*) juveniles. **Aquaculture**, v.261, p.580-586, 2006.

BOWYER, J.N.; QIN, J.G.; SMULLEN, R.P.; ADAMS, L.R.; THOMSON, M.J.; STONE, D.A. The use of a soy product in juvenile yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) feeds at different water temperatures: Solvent extracted soybean meal. **Aquaculture**, v.384, p.35-45, 2013.

BRADFORD, M.M.A. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.

CARGNIN-FERREIRA, E.; SARASQUETE REIRIZ, C. **Histofisiología de moluscos bivalvos marinos**. CSIC, Madrid, 2008, 98p.

CARUSO, G.; DENARO, M.G.; GENOVESE, L. Digestive enzymes in some teleost species of interest for mediterranean aquaculture. **Open Fish Science Journal**, v.2, p.74-86, 2009.

CHATZIFOTIS, S.; POLEMITOU, I.; DIVANACH, P.; ANTONOPOULOU, E. Effect of dietary taurine supplementation on growth performance and bile salt activated lipase activity of common dentex, *Dentex dentex*, fed a fish meal/soy protein concentrate-based diet. **Aquaculture**, v.275, p.201-208, 2008.

CIEŚLIK, E.; CIEŚLIK, I.; MOLINA-RUIZ, J.M.; WALKOWSKA, I.; MIGDAL, W. The content of fat and fatty acids composition in chicken liver. **Biotechnology in Animal Husbandry**, v.27, p.1855-1856, 2011.

COLDEBELLA, I.J.; RADÜNZ NETO, J.; MALLMANN, C.A.; VEIVERBERG, C.A.; BERGAMIN, G.T.; PEDRON, F.A.; FERREIRA, D.; BARCELLOS, L.J.G. The effects of different protein levels in the diet on reproductive indexes of *Rhamdia quelen* females. **Aquaculture**, v.312, p.137-144, 2011.

CONCEIÇÃO, L.E.C.; VAN DER MEEREN, T.; VERRETH, M.S.; EVJEN, M.S.; HOULIHAN, D.F.; FYHN, H.J. Amino acid metabolism and protein turnover in larval turbot (*Scophthalmus maximus*) fed natural zooplankton or artemia. **Marine Biology**, v.129, p.255-265, 1997.

CORRÊA, C.F.; AGUIAR, L.H.; LUNDSTEDT, L.M.; MORAES, G. Responses of digestive enzymes of tambaqui (*Colossoma macropomum*) to dietary cornstarch and metabolic inferences. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.147, p.857-862, 2007.

COSTA, M.L.; RADÜNZ NETO, J.; LAZZARI, R.; VEIVERBERG, C.A.; SUTILI, F.J.; LORO, V.L. Enzimas digestivas de juvenis de carpa capim alimentados com forragem e ração. **Archivos de Zootecnia**, v.60, p.563-570, 2011.

COUTO, A.; KORTNER, T.M.; PENN, M.; BAKKE, A.M.; KROGDAHL, Å.; OLIVA-TELES, A. Dietary saponins and phytosterols do not affect growth, intestinal morphology and immune response of on-growing european sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Aquaculture Nutrition**, 2015.

FONTINELLI, E.; RADÜNZ NETO, J. Efeito do concentrado proteico de soja em rações, com e sem suplementação em aminoácidos, para pós-larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Revista Brasileira de Agrociência**, v.13, p.225-229, 2007.

GARCIA, A.S.; GONÇALVES, L.U.; CAVALLI, R.O.; VIEGAS, E.M.M. Lipídios. In **NUTRIAQUA: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**, 2012. cap.5, p.79-99.

HARTMAN, L.; LAGO, B.C. A rapid preparation of fatty methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v.22, p.475-477, 1973.

HAUVILLE, M.R.; ZAMBONINO INFANTE, J.L.; BELL, G.; MIGAUD, H.; MAIN, K.L. Impacts of three different microdiets on florida pompano, (*Trachinotus carolinus*), weaning success, growth, fatty acid incorporation and enzyme activity. **Aquaculture**, v.422, p.268-276, 2014.

HIDALGO, M.C.; UREA, E.; SANZ, A. Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits: proteolytic and amylase activities. **Aquaculture**, v.170, p.267-283, 1999.

HOULIHAN, D.; BOUJARD, T.; JOBLING, M. **Food Intake in Fish**. Blackwell Science Ltd, 2001. p.25-48.

HUMMEL, B.C.W. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin and thrombin. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, p.1393-1399, 1959.

IZQUIERDO, M.; KOVEN, W. **Lipids**. In: Holt, I. Larval Fish Nutrition. Wiley Online Library. Oxford, 2011. p.47-82.

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

KIM, S.K.; MATSUNARI, H.; TAKEUCHI, T.; YOKOYAMA, M.; FURUITA, H.; MURATA, Y.; GOTO, T. Comparison of taurine biosynthesis ability between juveniles of japanese flounder and common carp. **Amino Acids**, v.35, p.161-168, 2008.

LARSEN, B.K.; DALSGAARD, J.; PEDERSEN, P.B. Effects of plant proteins on postprandial, free plasma amino acid concentrations in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.326-329, p.90-98, 2012.

LAZO, J.P.; DARIAS, M.J.; GISBERT, E. **Ontogeny of the digestive tract**. In: Holt, I. Larval Fish Nutrition. Wiley Online Library. Oxford, 2011. 448 p.

MOGUEL-HERNÁNDEZ, I.; PEÑA, R.; NOLASCO-SORIA, H.; DUMAS, S.; ZAVALA-LEAL, I. Development of digestive enzyme activity in spotted rose snapper, *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) larvae. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.40, p.839-848, 2013.

MORAES, G.; ALMEIDA, L.C. Nutrição e aspectos funcionais da digestão dos peixes. In: BALDISSEROTTO, B.; CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C. **Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce**. FUNEP UNESP Jaboticabal, 2014. 336 p.

MOURA, G.S.; OLIVEIRA, M.G.A.; LANNA, E.A.T. Desempenho e atividade de lipase em tilápias do Nilo. **Archivos de Zootecnia**, v.61, p.367-374, 2012.

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

PARMA, L.; BONALDO, A.; MASSI, P.; YÚFERA, M.; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, G.; GATTA, P.P. Different early weaning protocols in common sole (*Solea solea L.*) larvae: Implications on the performances and molecular ontogeny of digestive enzyme precursors. **Aquaculture**, v.414, p.26-35, 2013.

PIAIA, R.; RADÜNZ NETO, J. Avaliação de diferentes fontes protéicas sobre o desempenho inicial de larvas do jundiá *Rhamdia quelen*. **Ciência Rural**, v.27, p.319-323, 1997a.

PIAIA, R.; RADÜNZ NETO, J. Efeito de níveis crescentes de levedura de álcool em rações contendo fígado bovino sobre a performance de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência Rural**, v.27, p.313-317, 1997b.

PINTO, W.; FIGUEIRA, L.; SANTOS, A.; BARR, Y.; HELLAND, S.; DINIS, M.T.; ARAGÃO, C. Is dietary taurine supplementation beneficial for gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae? **Aquaculture**, v.384, p.1-5, 2013.

PRETTO, A.; SILVA, L.P.; RADÜNZ NETO, J.; NUNES, L.M.C.; FREITAS, I.L.; LOUREIRO, B.B.; SANTOS, S.A. Farelo de crambe nas formas in natura ou reduzida em antinutrientes na dieta do jundiá. **Ciência Rural**, v.44, p.692-698, 2014.

RODILES, A.; SANTIGOSA, E.; HERRERA, M.; HACHERO-CRUZADO, I.; CORDERO, M.L.; MARTÍNEZ-LLORENS, S.; LALL, S.P.; ALARCÓN, F.J. Effect of dietary protein level and source on digestive proteolytic enzyme activity in juvenile senegalese sole *Solea senegalensis*. **Aquaculture International**, v.20, p.1053-1070, 2012.

SADO, R.Y.; SOUSA, F.C.; DEHR, E.R.; BALDISSEROTTO, B. Anatomia de teleósteos e elasmobrânquios. In: BALDISSEROTTO, B.; CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C. **Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce**. Jaboticabal, FUNEP, UNESP, 336 p., 2014, cap.2, p.13-38.

SALZE, G.P.; DAVIS, D.A. Taurine: A critical nutrient for future fish feeds. **Aquaculture**, v.437, p.215-229, 2015.

SILVEIRA, J.; SILVA, C.P.; CARGNIN-FERREIRA, E.; ALEXANDRE, D.; ELIAS, M.A.; FRACALOSSO, D.M. Freshwater catfish jundiá (*Rhamdia quelen*) larvae are prepared to digest inert feed at the exogenous feeding onset: physiological and histological assessments. **Fish physiology and biochemistry**, v.39, p.1581-1590, 2013.

TROMBETTA, C.G.; RADÜNZ NETO, J.; LAZZARI, R. Suplementação vitamínica no desenvolvimento de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência e Agrotecnologia**, v.30, p.224-229, 2006.

TRONCO, A.P.; RADÜNZ NETO, J.; MEDEIROS, T.S.; LIMA, R.L. Alimentação de larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) com dietas semipurificadas e fontes lipídicas. **Boletim Instituto de Pesca**, v.33, p.9-17, 2007.

VAN DER MEEREN, T.; OLSEN, R.E.; HAMRE, K.; FYHN, H.J. Biochemical composition of copepods for evaluation of feed quality in production of juvenile marine fish. **Aquaculture**, v.274, p.375-397, 2008.

YANG, R.; XIE, C.; FAN, Q.; GAO, C.; FANG, L. Ontogeny of the digestive tract in yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco* larvae. **Aquaculture**, v.302, p.112-113, 2010.

ZHANG, Y.; DABROWSKI, K.; HLIWA, P.; GOMULKA, P. Indispensable amino acid concentrations decrease in tissues of stomachless fish, common carp in response to free amino acid- or peptidebased diets. **Amino Acids**, v.31, p.165-172, 2006.

Discussão geral

A utilização de diversas fontes proteicas de origem animal e vegetal combinadas podem suprir as necessidades básicas de desenvolvimento das pós-larvas de peixes. Neste estudo testamos a substituição do fígado de aves *in natura* pelo concentrado proteico de soja (CPS) ou pela farinha de peixe (ROSSATO et al., 2014) tendo como meta aprimorar a dieta para pós-larvas de jundiá. A farinha de peixe (FJ) foi confeccionada no Laboratório de Piscicultura/UFSM a partir de resíduos de filetagem e jundiás com tamanho inadequado para abate.

Foram realizados três experimentos, primeiramente testamos a substituição total (30%) e parcial (15%) do fígado por CPS ou por farinha de peixe (Capítulos 2 e 3), tendo como dieta padrão a dieta adaptada de Coldebella et al. (2011). Posteriormente (Capítulos 4 e 5) testamos níveis de substituição do fígado por farinha de peixe (padrão-0FJ); 5FJ; 10FJ; 15FJ; 20 FJ e 25FJ). E níveis de substituição do concentrado proteico de soja com suplementação de taurina (Capítulos 6 e 7) (padrão - 0CPS; 15CPST; 20CPST; 25CPST e 30CPST).

No experimento 1 (Capítulo 2) encontramos maior desempenho para os animais alimentados com a dieta 15FJ, seguido da dieta 15CPS que não diferiu da dieta padrão. As pós-larvas alimentadas com a dieta 30CPS não sobreviveram até o final do experimento, devido à ocorrência de canibalismo, onde optamos por sacrificar as pós-larvas que apresentavam tamanho muito maior e comportamento canibal, também devido às inúmeras coletas realizadas para análise enzimática. A baixa palatabilidade do concentrado proteico, a presença mesmo que em baixos níveis de fatores antinutricionais (CHATZIFOTIS et al., 2008) e a deficiência em alguns aminoácidos essenciais, como lisina e metionina (KAUSHIK et al., 1995) podem ter contribuído para o desempenho inferior das pós-larvas alimentadas com a dieta 30CPS. O desbalanço aminoacídico da dieta pode ocasionar diminuição do crescimento (SAAVEDRA et al., 2009) má formação dos tecidos piorando a qualidade da larva (FINN e FYHN, 2010).

Ao analisarmos o perfil lipídico (Capítulo 3) constatamos menor quantidade do ácido araquidônico (C20:4 n-6) e do ácido estárico (C18:0) nas dietas com substituição total do fígado (30CPS) e diminuição dos mesmos com o aumento da inclusão do CPS nas dietas 20CPST; 25CPST e 30CPST (capítulo 5). Os peixes de água doce tem maior capacidade de converter o ácido graxo C18:0 em ácidos graxos altamente insaturados (HUFAs)

(CORRAZE, 2001), o que pode ter contribuído com o maior desenvolvimento das pós-larvas alimentadas com as dietas que apresentaram maior percentual deste ácido graxo. Alguns peixes de água doce possuem enzimas (dessaturases e elongases) responsáveis pela biossíntese de AA, EPA e DHA (GARCIA et al., 2012) a partir de outros ácidos graxos como o ácido esteárico (C18:0). Os ácidos graxos são essenciais principalmente nesta fase de vida dos peixes, eles contribuem na formação das membranas e hormônios (IZQUIERDO e KOVEN, 2011), conseqüentemente aumentando o crescimento e reduzindo a mortalidade (GARCIA et al., 2012).

A dieta 15CPS foi testada no capítulo 2 com suplementação de 0,3% de taurina, não apresentando melhorias no desenvolvimento das pós-larvas, tanto que as pós-larvas alimentadas com esta dieta (15CPS) apresentaram semelhante desempenho aos animais alimentados com a dieta padrão. Mas ao adicionarmos 0,5% (Capítulo 6), à mesma dieta (15CPST), o desempenho foi máximo. Ainda não há estudos que afirmam a necessidade ou não da suplementação com taurina para jundiás, nem os níveis adequados de inclusão na dieta nas diferentes fases de crescimento. Algumas espécies de peixe não precisam da suplementação com taurina, pois possuem a enzima (L-cisteína-sulfinato descarboxilase) que transforma a metionina da dieta em taurina, por isso ela não é considerada aminoácido essencial (WILSON, 2002). No entanto, a capacidade dos peixes de sintetizar a taurina é dependente da espécie e possivelmente afetada pelo estágio de desenvolvimento (EL-SAYED, 2013). A hipótese da necessidade de suplementação com taurina surgiu da observação de que o alimento vivo (copépodos) presente no ambiente natural e utilizado para alimentação inicial das larvas de peixes contém níveis elevados de taurina (entre 15 e 26%) (CONCEIÇÃO et al., 1997; VAN DER MEEREN et al., 2008). E segundo El-Sayed (2013), mesmo que a taurina não seja um nutriente essencial, a inclusão deste na dieta é recomendada se o critério de crescimento máximo é pretendido. A suplementação com taurina deste estudo foi baseada em Chatzifotis et al. (2008) que utilizou 2 g Kg⁻¹, na dieta de peixes marinhos, proporcionando maior consumo diário de ração e conseqüentemente maior desempenho.

A farinha de peixe foi testada na alimentação de pós-larvas de jundiá visando melhorar o perfil aminoacídico da dieta. Pois a farinha de peixe contém perfil completo de aminoácidos e atende a exigência em proteína da maioria das espécies de peixes (ABOWEI e EKUBO, 2011), também pode ser utilizada para melhorar a qualidade proteica (FAO, 2014) das dietas. Mas apresenta reduzida digestibilidade para larvas de peixes devido à complexidade de sua proteína (CONCEIÇÃO et al., 2007). Por isso na dieta 30FJ encontramos resultados de crescimento inferiores à dieta 15FJ e padrão (Capítulo 2). No capítulo 4 as pós-larvas

alimentadas com a dieta 15FJ também apresentaram maior desempenho, mas não diferindo das dietas 20FJ e 25FJ para todos os parâmetros avaliados. Poderíamos inferir que a adição de 5% de fígado, seria adequado para a manutenção do desenvolvimento das pós-larvas de jundiá, se tivéssemos utilizado fígado do mesmo lote e se a composição desta matéria prima fosse constante. Analisando e comparando o perfil lipídico das duas dietas (capítulo 2 e 4) podemos inferir que a composição do fígado variou bastante, pois foi a única matéria prima usada de lote diferente devido a diferença de tempo entre os experimentos. Podemos assim inferir que a digestibilidade do fígado é maior, o perfil de aminoácidos é menor e o perfil lipídico é mais completo. A combinação das duas fontes gera uma dieta eficiente.

Para as análises histológicas do desenvolvimento muscular e sistema digestório foram coletadas pós-larvas com melhor e pior peso final durante os períodos experimentais.

As pós-larvas que apresentaram maior diâmetro da fibra muscular e maior número de fibras foram as pós-larvas alimentadas com a dieta 15CPST (Capítulo 6), mesmo ao compararmos aos 21 dias de alimentação. Tendo em vista que no experimento 1 (Capítulo 2) as análises foram realizadas até os 21 dias devido aos casos de canibalismo observados para as pós-larvas que receberam a dieta 30CPS.

Ao compararmos os experimentos entre si aos 21 dias, encontramos maior diâmetro para as pós-larvas alimentadas com a dieta 30CPS (Capítulo 2) em relação as pós-larvas alimentadas com a dieta 30CPST (Capítulo 6). E as pós-larvas alimentadas com a dieta 15FJ (Capítulo 2) apresentaram diâmetros maiores que as pós-larvas alimentadas com a dieta 15FJ (capítulo 4). A temperatura do ambiente permaneceu mais alta durante o experimento 1 (Capítulo 2), que os demais experimentos, o que pode ter contribuído para o maior diâmetro das fibras encontrado (capítulo 2). A temperatura é um fator ambiental que influencia a taxa de crescimento dos peixes e está diretamente relacionada com a plasticidade muscular e crescimento (CAMPOS et al., 2013; PAULA et al., 2014).

O desenvolvimento do sistema digestório em todos os experimentos ocorreu de forma adequada, os órgãos apresentaram desenvolvimento diferenciado, com maior tamanho nas pós-larvas que consumiram as dietas 15FJ; 15FJ e 15CPST e menor tamanho para as pós-larvas que consumiram as dietas 30CPS; Padrão e 30CPST (capítulos 3; 5 e 7, respectivamente). Não foram encontradas anormalidades na conformação e número de vilosidades dos órgãos analisados. O menor tamanho pode estar associado a menor digestibilidade (ROTILI, 2014) e palatabilidade do CPS em relação ao fígado e à farinha de peixe. Durante os períodos experimentais foi observado menor procura pelo alimento nas dietas com maiores percentuais de CPS, contribuindo para o menor desenvolvimento.

Podemos inferir que o CPS quando incluído em percentuais altos retardam o desenvolvimento das pós-larvas de jundiá. A farinha de peixe também se constitui em matéria prima de difícil digestibilidade para as pós-larvas de peixes (CONCEIÇÃO et al., 2007), por isso ela deve ser incluída em percentuais abaixo de 30%. O fígado in natura é ótima fonte de ácidos graxos importantíssimos nesta fase da vida do jundiá e contribui para a manutenção do desenvolvimento das pós-larvas por isso ele deve ser incluído, mesmo que em baixos percentuais.

Nos três experimentos foram analisadas a atividade das enzimas protease ácida, tripsina, quimotripsina, lipase, amilase e maltase. As enzimas analisadas já estavam ativas antes do início da alimentação exógena (Capítulo 3). As pós-larvas alimentadas com a dieta 15CPS apresentaram picos mais elevados para a maioria das enzimas no início da alimentação (Capítulo 3). Podemos inferir que estes picos enzimáticos podem ter contribuído para a adaptação do organismo à dieta e consequentemente melhorar o desenvolvimento das pós-larvas de jundiá. A atividade das enzimas nas pós-larvas alimentadas com diferentes percentuais de farinha de peixe (Capítulo 5) não apresentaram diferenças em sua atividade enzimática a partir da alimentação. As pós-larvas alimentadas com as dietas acrescidas de CPS mais taurina (Capítulo 7) apresentaram menor atividade da tripsina e quimotripsina com a maior inclusão do CPS. A menor atividade para as dietas com maiores percentuais de CPS pode ser devido a existência mesmo que mínima de princípios antinutricionais (LARSEN; DALSGAARD; PEDERSEN, 2012) que contribuem para reduzir a digestibilidade dos nutrientes através da redução da atividade das enzimas.

A atividade das enzimas é totalmente dependente do alimento ofertado. Na maioria das vezes as pós-larvas conseguem se adaptar ao alimento e manter o desenvolvimento. Quando ofertamos uma dieta balanceada com todos os nutrientes adequados, a atividade enzimática atua eficientemente melhorando a digestão e aumentando a absorção dos nutrientes, resultando em animais saudáveis e de qualidade.

CONCLUSÕES GERAIS

- A inclusão de 15% de farinha de peixe e concentrado proteico de soja aprimora a qualidade nutricional da dieta de pós-larvas de jundiá;
- A substituição total do fígado de aves (30%) nas dietas de pós-larvas de jundiá não é aconselhada;
- O desenvolvimento muscular foi melhorado com a combinação dos ingredientes de origem vegetal e animal;
- A atividade enzimática já está presente muito precocemente nas larvas de jundiá, facilitando o aproveitamento do alimento exógeno granulado;
- As combinações de ingredientes de origem vegetal (CPS) e animal (FJ) não prejudicaram o desenvolvimento do sistema digestório das larvas e pós-larvas de jundiá;
- A taurina incluída em 0,5% na dieta nas condições do presente estudo melhorou a utilização do concentrado proteico de soja quando incluído em 15% da dieta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOWEI, J.F.N.; EKUBO, A.T. A review of conventional and unconventional feeds in fish nutrition. **British Journal of Pharmacology and Toxicology**, v.2, p.179-191, 2011.

CAMPOS, C.; FERNANDES, J.M.O.; CONCEIÇÃO, L.E.C.; ENGROLA, S.; SOUSA, V.; VALENTE, L.M.P. Thermal conditions during larval pelagic phase influence subsequent somatic growth of Senegalese sole by modulating gene expression and muscle growth dynamics. **Aquaculture**, v.414, p.46-55, 2013.

CHATZIFOTIS, S.; POLEMITOU, I.; DIVANACH, P.; ANTONOPOULOU, E. Effect of dietary taurine supplementation on growth performance and bile salt activated lipase activity of common dentex, *Dentex dentex*, fed a fish meal/soy protein concentrate-based diet. **Aquaculture**, v.275, p.201-208, 2008.

COLDEBELLA, I.J.; RADÜNZ NETO, J.; MALLMANN, C.A.; VEIVERBERG, C.A.; BERGAMIN, G.T.; PEDRON, F.A.; FERREIRA, D.; BARCELLOS, L.J.G. The effects of different protein levels in the diet on reproductive indexes of *Rhamdia quelen* females. **Aquaculture**, v.312, p.137-144, 2011.

CONCEIÇÃO, L.E.C.; VAN DER MEEREN, T.; VERRETH, M.S.; EVJEN, M.S.; HOULIHAN, D.F.; FYHN, H.J. Amino acid metabolism and protein turnover in larval turbot (*Scophthalmus maximus*) fed natural zooplankton or artemia. **Marine Biology**, v.129, p.255-265, 1997.

CONCEIÇÃO, L.; MORAIS, S.; ARAGÃO, C. Fluxos de nutrientes em larvas de peixes: aplicação de técnicas com marcadores isotópicos e de modelação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.11-20, 2007.

CORRAZE, G. Lipid nutrition. In: GUILLAUME, J.C.; KAUSHIK, S.; BERGOT, P.; MÉTAILLER, R. **Nutrition and feeding of fish and crustaceans**. Coédition Inra-Ifremer, Springer-Praxis books in Aquaculture and fisheries, 2001, 408 p., cap.7, p.111-130.

EL-SAYED, A.F.M. Is dietary taurine supplementation beneficial for farmed fish and shrimp? a comprehensive review. **Reviews in Aquaculture**, v.5, p.1-15, 2013.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture. 2014. Roma, Italy. 244p. Disponível em: www.fao.org/3/a-i3807e.pdf. Acesso em 26 de janeiro de 2015.

FINN, R.N.; FYHN, H.J. Requirement for amino acids in ontogeny of fish. **Aquaculture Research**, v.41, p.684-716, 2010.

GARCIA, A.S.; GONÇALVES, L.U.; CAVALLI, R.O.; VIEGAS, E.M.M. Lipídios. In **NUTRIAQUA: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**, 2012. cap.5, p.79-99.

IZQUIERDO, M. e KOVEN, W. **Lipids**. In: Holt, I. Larval Fish Nutrition. Wiley Online Library. Oxford, 2011. 448 p.

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

LARSEN, B.K.; DALSGAARD, J.; PEDERSEN, P.B. Effects of plant proteins on postprandial, free plasma amino acid concentrations in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.326-329, p.90-98, 2012.

PAULA, T.G.; ALMEIDA, F.L.A.; CARANI, F.R.; VECHETTI-JÚNIOR, I.J.; PADOVANI, C.R.; SALOMÃO, R.A.S.; MARECO, E.A.; SANTOS, V.B.; DAL-PAI-SILVA, M. Rearing temperature induces changes in muscle growth and gene expression in juvenile pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v.169, p.31-37, 2014.

ROSSATO, S.; LAZZARI, R.; FREITAS I.L.; MASCHIO, D.; CORRÊIA, V.; RADÜNZ NETO, J. Diferentes níveis de incorporação de farinha de resíduos de jundiás (*Rhamdia quelen*) cultivados na dieta. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, p.894-902, 2014.

ROTILI, D.A. **Avaliação nutricional de jundiás frente a dietas contendo diferentes níveis de metionina**. 2014. 84f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria/RS, 2014.

SAAVEDRA, M.; BARR, Y.; POUÇÃO-FERREIRA, P.; HELLAND, S.; YÚFERA, M.; DINIS, M.T.; CONCEIÇÃO, L.E.C. Supplementation of tryptophan and lysine in *Diplodus sargus* larval diet: effects on growth and skeletal deformities. **Aquaculture Research**, v.40, p.1191-1201, 2009.

VAN DER MEEREN, T.; OLSEN, R.E.; HAMRE, K.; FYHN, H.J. Biochemical composition of copepods for evaluation of feed quality in production of juvenile marine fish. **Aquaculture**, v.274, p.375-397, 2008.

WILSON, R.P. Amino acids and proteins. In: HALVER, J.E.; HARDY, R.W. **Fish Nutrition**. Ed. Academic Press, 3^aed., 2002. cap.3, p.143-179.

APÊNDICES



Figura 1. Circuito experimental utilizado para larvicultura do jundiá



Figura 2. Unidade experimental com animais alojados no início e ao final do período experimental



Figura 3. Exemplos de pós-larvas de jundiá aos 7 e 28 dias experimentais