

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS
PESQUEIROS E ENGENHARIA DE PESCA**

EVANDRO BILHA MORO

L-carnitina em dietas para juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*)

Toledo

2018

EVANDRO BILHA MORO

L-carnitina em dietas para juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca – Mestrado, do Centro de Engenharias e Ciências Exatas, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Área de concentração: Aquicultura

Orientador: Prof. Dr. Altevir Signor

Toledo

2018

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Moro, Evandro Bilha

L-carnitina em dietas para juvenis de pacu
(Piaractus mesopotamicus) / Evandro Bilha Moro;
orientador(a), Altevir Signor, 2018.
21 f.

Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do
Oeste do Paraná, Campus de Toledo, Centro de
Engenharias e Ciências Exatas, Programa de Pós-
Graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de
Pesca, 2018.

1. Aquicultura. 2. Histomorfometria. 3. Nutrição.
I. Signor, Altevir. II. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

EVANDRO BILHA MORO

L-carnitina em dietas para juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca – Nível de Mestrado, do Centro de Engenharias e Ciências Exatas, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Altevir Signor
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Presidente)

Prof. Dr. Fábio Bittencourt
Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Dra. Juliana Alice Lösch Nervis
Cooperativa Agroindustrial Consolata

Aprovada em: 26 de fevereiro de 2018

Local de defesa: Sala de treinamento do GEMaQ/*Campus* de Toledo.

AGRADECIMENTOS

A Deus por todas as graças e realizações!

Aos meus pais Ademir e Dulcinéia pela ajuda, incentivo e por sempre me apoiarem em todas as decisões mesmo as vezes em que foram contrários a essas;

A minhas irmãs Gislaine e Daniele por sempre me incentivarem e por estarem sempre ao meu lado;

A Universidade Estadual do Oeste do Paraná *campus* Toledo e ao Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura;

Ao Professor e orientador e amigo Dr. Altevir Signor pelas orientações, incentivo e quem tanto me ajudou durante toda a graduação e pós-graduação;

Aos Professores Dr. Fabio Bittencourt, Dr. Wilson Rogério Boscolo e Dr. Aldi Feiden pela amizade e toda ajuda oferecida durante a graduação e pós-graduação;

A banca no Exame Geral de Qualificação Dr. José Dilson e Dra Jackeline Marcante Dallagnol e banca de defesa Prof. Dr. Fábio Bittencourt e Dra. Juliana Alice Lösch Nervis pelas correções e sugestões, as quais foram acatadas;

Aos meus amigos Jhonis Ernzen Pessini, Vanessa Lewandowski e Danielle Zanerato Damasceno pela amizade pessoal e profissional durante leituras e correções;

Aos amigos e equipe deste trabalho Mariana Lins, Milena Sanches e Ricácio Gomes na condução experimental e análise de dados;

Aos amigos e integrantes do GEMaQ, Aldo Felipe Fava, Bruno dos Santos Sosa, Glaucia Mara Rorato Maccari, Grace Kelly Goudinho, Jaina Mara Pigosso Coelho, Jaqueline Marcela Azambuja de Freitas, Joana D'Arc Maurício Rocha, Leonardo Machado Cardoso, Marjana dos Santos Cardoso, Marta Caroline Silva da Cruz, Matheus dos Santos Cardoso, Maykon Rodrigo Lecheski da Costa, Michele Zaminham, Tatiane Andressa Lui, Stefane Santos Correa, Thiago Gabriel Luczinski, pela contribuição direta ou indiretamente para realização deste trabalho, amizade e/ou auxílio durante a pós-graduação;

Aos meus Amigos, Athos, Dihego Eduardo e Rômulo pela parceria nesses anos em que morei em Toledo;

Aos amigos do Mundo das Cópias, Fran, Junior, Michelle e Rafa pela amizade e por todas as impressões durante a graduação e pós-graduação;

A Universidade Passo Fundo - RS e ao Professor Dr. Leonardo José Gil Barcellos e a Dra. Gessi Koakoski pelo auxílio e execução das análises enzimáticas realizadas neste trabalho;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio a bolsa de pós-graduação

Muito Obrigado !

Dissertação elaborada e formatada
conforme as normas da publicação
científica Boletim do Instituto de Pesca.

Disponível em:

[http://www.pesca.agricultura.sp.gov.br/
publicacoes/boletim-do-instituto-de-
pesca/instrucao-aos-autores](http://www.pesca.agricultura.sp.gov.br/publicacoes/boletim-do-instituto-de-pesca/instrucao-aos-autores)

Lista de Tabelas

- Tabela 1** - Composição percentual e química das dietas experimentais contendo diferentes níveis de L-carnitina fornecidas para juvenis de pacu. 6
- Tabela 2** - Desempenho zootécnico de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) alimentados com dietas contendo diferente níveis de L-Carnitina..... 10
- Tabela 3** - Composição centesimal de pacu alimentados com dietas contendo níveis crescentes de L-Carnitina..... 11
- Tabela 4** - Histomorfometria do intestino, quantificação de hepatócitos e, frequência do menor diâmetro das fibras musculares de pacus alimentados com dietas contendo diferentes níveis de L-carnitina. 11
- Tabela 5** - Concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, Catalase e glutathione S-transferase no fígado de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inclusão de L-carnitina. 12

Lista de Figuras

Figura 1 - Intestino de pacu alimentados com dietas contendo diferentes níveis de L-carnitina. Altura do viló (A), Altura total do viló (B), Largura do viló (C), Espessura do viló (D), Espessura da túnica (E)..... 8

SUMÁRIO

RESUMO	I
ABSTRACT	II
1. INTRODUÇÃO	3
2. MATERIAIS E MÉTODOS	4
2.1 <i>Animais e delineamento experimental</i>	4
2.2 <i>Dietas experimentais</i>	5
2.3 <i>Procedimento experimental e metodologia de coleta</i>	5
2.4 <i>Desempenho zootécnico</i>	7
2.5 <i>Análises de composição centesimal da carcaça</i>	7
2.6 <i>Análises histológicas</i>	7
2.7 <i>Estresse oxidativo</i>	8
2.8 <i>Qualidade da água</i>	9
2.9 <i>Estatística</i>	9
3. RESULTADOS	10
3.1 <i>Desempenho zootécnico</i>	10
3.2 <i>Análise de composição química da carcaça</i>	10
3.3 <i>Análises histológicas</i>	11
3.4 <i>Estresse oxidativo</i>	12
4. DISCUSSÃO	12
4.1 <i>Desempenho zootécnico</i>	12
4.2 <i>Análise de composição química</i>	14
4.3 <i>Análises histológicas</i>	15
4.4 <i>Estresse oxidativo</i>	16
5. CONCLUSÃO	17
6. REFERÊNCIAS	17

L-carnitina em dietas para juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*)

RESUMO

O presente estudo avaliou o efeito da suplementação de L-carnitina no desempenho produtivo de juvenis de pacu *Piaractus mesopotamicus*. Utilizou-se 288 pacus (peso inicial $9,62 \pm 0,74$ g), distribuídos em 24 aquários de $0,5\text{m}^3$ com sistema de recirculação de água, distribuídos ao acaso em seis tratamentos e quatro repetições. As dietas experimentais ($3.200 \text{ kcal kg}^{-1}$ de ED e 23% PD) foram suplementadas com 0; 400; 800; 1.200; 1.600; 2.000 mg de L-carnitina. kg^{-1} de ração. Os peixes foram alimentados quatro vezes ao dia até a saciedade aparente. Após 128 dias foi avaliado: desempenho produtivo, composição centesimal da carcaça, histomorfometria intestinal, muscular e hepática e, o estresse oxidativo. Os dados foram submetidos a análise estatística e ao teste de comparações de média Tukey a 5% de significância. Os índices hepatossomático e de gordura víscerosomática aumentaram com a inclusão da L-carnitina. Na composição centesimal houve alteração na umidade, proteína e extrato etéreo. A histomorfometria intestinal apresentou alterações nas vilosidades com a inclusão da L-carnitina e, aumentou a oxidação lipídica para o TBARS. A suplementação de L-carnitina não afetou o desempenho de juvenis pacus, entretanto, promoveu o aumento do índice hepatossomático, gordura visceral e corporal, alterações na histomorfometria intestinal e oxidação lipídica do tecido hepático.

Palavras-chave: amina quaternária; aquicultura; metabolismo; nutrição; peixe nativo.

L-carnitine in diets for juvenile of pacu (*Piaractus mesopotamicus*)

ABSTRACT

The present study evaluated the effect of L-carnitine supplementation on the productive performance of juveniles of pacu *Piaractus mesopotamicus*. 288 pacus (initial weight 9.62 ± 0.74 g), distributed in 24 aquaria of 0.5m³ with water recirculation system, were randomly distributed in six treatments and four replicates. Experimental diets (3,200 kcal kg⁻¹ of ED and 23% PD) were supplemented with 0; 400; 800; 1,200; 1,600; 2,000 mg of L-carnitine.kg⁻¹ of feed. The fish were fed four times daily until apparent satiety. After 128 days were evaluated: productive performance, carcass centesimal composition, intestinal histomorphometry, muscle and hepatic, and oxidative stress. The data were submitted to statistical analysis and to the Tukey average comparisons test at 5% significance. The hepatosomatic and viscerosomatic fat indexes increased with the inclusion of L-carnitine. In the centesimal composition there was alteration in moisture, protein and ethereal extract. Intestinal histomorphometry revealed changes in villi with the inclusion of L-carnitine and increased lipid oxidation to TBARS. The supplementation of L-carnitine did not affect the performance of juvenile pacus, however, it promoted the increase of the hepatosomatic rate, visceral and corporal fat, alterations in intestinal histomorphometry and lipid oxidation in the hepatic tissue.

Key words: quaternary amine; aquaculture; metabolism; nutrition; native fish.

1. INTRODUÇÃO

A produção de pescado proveniente da aquicultura tem mostrado alta capacidade e potencialidade de geração de alimentos nutritivos. Segundo a *Food and Agriculture Organization* (FAO, 2016), o consumo de pescado no mundo tem crescido significativamente nos últimos anos, com isso, há uma forte intensificação e aumento da produção, inovações em sistemas de cultivo, maior aproveitamento do pescado com redução de desperdícios de resíduos, melhor distribuição do comércio internacional, aumento da renda e da urbanização.

Um dos desafios da aquicultura tem sido melhorar a produção dos peixes reduzindo custos e mantendo a sustentabilidade ambiental. Dentre os custos durante a produção, a alimentação possui maior representatividade com aproximadamente 50% (ANDRADE *et al.*, 2005). Uma das estratégias adotadas como recurso à otimização da produção por intermédio da alimentação, tem sido a redução do teor de proteína na dieta utilizando-se o conceito de proteína ideal, a fim de se equilibrar o conteúdo de aminoácidos em rações para peixes (FURUYA, 2013).

A aquicultura brasileira tem se intensificado no cultivo de espécies exóticas, seguida de uma crescente demanda por espécies nativas. Nesse contexto, o pacu é uma das espécies nativas de maior estudo na aquicultura brasileira, sendo a sexta mais cultivada (IBGE, 2016). Características como rusticidade, adaptabilidade à alimentação artificial e seu manejo facilitado proporcionam bons resultados de produção dessa espécie e, além do mais, existem diversos trabalhos quanto à reprodução, larvicultura, produção, nutrição e parasitologia encontrados na literatura (URBINATI e GONÇALVES, 2005). Entre estes, a nutrição de peixes possui relevante importância para a cadeia produtiva aquícola, embora ainda se necessite preencher lacunas quanto ao potencial nutritivo das dietas e, assim, permitir a máxima capacidade das espécies produzidas comercialmente.

A L-carnitina, uma amina quaternária que tem sido referida por alguns pesquisadores como um aminoácido, é sintetizada a partir da lisina e metionina com o auxílio de vitamina C (REBOUCHE e SEIM, 1998). Essa molécula tem atraído interesse por se tratar de um aditivo multi-fisiológico, apresentando considerável efeito positivo no crescimento e metabolismo lipídico de algumas espécies de peixes (HARPAZ, 2005). Essa amina atua no transporte de ácidos graxos de cadeia longa através da membrana mitocondrial na oxidação e produção de ATP em tecidos periféricos, sendo mais

concentrada em tecidos como músculo esquelético e cardíaco. Quando há deficiência de L-carnitina, ocorre a redução da oxidação lipídica, desviando os ácidos graxos para a síntese de triacilglicerol no fígado (WRAY-CAHEN *et al.*, 2004).

A suplementação de L-carnitina nas dietas dos peixes pode melhorar o desempenho produtivo, apresentando efeito poupador de proteína, por meio do direcionamento dos lipídios da dieta e corporais para a manutenção energética do organismo, bem como prevenir a formação de radicais livres e, conseqüentemente, minimizar a peroxidação dos lipídios de membrana e a agressão às proteínas dos tecidos e das membranas (TONINI *et al.*, 2011; SAFARI *et al.*, 2015).

Alguns autores relatam o efeito de L-carnitina em algumas espécies de peixes como no crescimento, redução de gordura muscular, resposta contra o estresse ao confinamento e a níveis de amônia e alta variação de temperatura, contudo, há resultados contraditórios que podem estar relacionados à espécie em estudo, condições experimentais, manejo, tempo de duração experimental, densidade dos animais, níveis de suplementação, lixiviação da L-carnitina, entre outros fatores (HARPAZ, 2005; GONÇALVES *et al.*, 2010).

Assim, neste estudo objetivou-se avaliar a suplementação de L-carnitina no desempenho produtivo de juvenis de pacus (*Piaractus mesopotamicus*).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Animais e delineamento experimental

O projeto de pesquisa foi avaliado e aprovado pelo comitê de ética no uso de animais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Protocolo nº 42/17). O experimento foi conduzido no Laboratório de Aquicultura do Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura - GEMAQ, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Unioeste/Campus de Toledo. Os peixes foram distribuídos em 24 aquários de formato cilíndrico com fundo cônico e volume de 0,5m³, dotado de sistema de recirculação de água e aeração constante por meio de um soprador de ar central. Os animais foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com seis tratamentos e quatro repetições, cada unidade experimental continha 12 peixes com peso médio inicial de 9,62 ± 0,74 gramas.

2.2 Dietas experimentais

As dietas experimentais foram formuladas de forma a serem isoenergéticas (3.200 kcal kg⁻¹ de ED) e isoprotéicas (23% PD) e, com base na literatura, foram suplementadas com 0; 400; 800; 1.200; 1.600; 2.000 mg de L-carnitina Kg⁻¹ de ração (Tabela 1) e foram processadas na fábrica de ração do Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura (GEMAQ), da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, em Toledo (PR). Os ingredientes utilizados foram moídos individualmente em um triturador tipo martelo, misturados manualmente conforme as formulações, extrusados em extrusora Ex-Micro®, secas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 24 horas e, após resfriamento, acondicionadas em sacos e armazenadas em condições refrigeradas a -20°C até o fornecimento aos peixes.

2.3 Procedimento experimental e metodologia de coleta

O experimento teve duração de 128 dias, com arraçoamento de quatro vezes ao dia (8:00; 11:00; 14:00 e 17:00), até à saciedade aparente. Após o período experimental, os peixes foram mantidos em jejum por 24 horas para o esvaziamento do trato gastrointestinal e, posteriormente, insensibilizados em solução de benzocaína (100 mg.L⁻¹) diluída em água para realização das medidas individuais de peso (g), comprimento total (cm). Em seguida, três peixes de cada tanque foram eutanasiados em solução contendo 250 mg.L⁻¹ de benzocaína (GOMES *et al.*, 2001) e, acondicionados em gelo para retirada de fígado, intestino, músculo branco e gordura viscerossomática. Esses mesmos animais, após serem eviscerados, foram encaminhados ao Laboratório de Controle de Qualidade do Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura - GEMAQ para realização das análises centesimais da carcaça.

Tabela 1 - Composição percentual e química das dietas experimentais contendo diferentes níveis de L-carnitina fornecidas para juvenis de pacu.

Ingredientes (%)	Níveis de inclusão de L-Carnitina (mg.Kg ⁻¹)					
	0	400	800	1.200	1.600	2.000
Farelo de Soja 45%	32,40	32,40	32,40	32,40	32,40	32,40
Milho	31,20	31,20	31,20	31,20	31,20	31,20
Farelo de Trigo	19,55	19,55	19,55	19,55	19,55	19,55
Farinha de peixe	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Farinha de Vísceras de Aves	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Óleo de Soja	4,03	4,03	4,03	4,03	4,03	4,03
Calcário	0,72	0,72	0,72	0,72	0,72	0,72
Premix ¹	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Fosfato Bicalcico	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42	0,42
Sal Comum	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
L-lisina HCL	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26
Antifúngico (Propionato de cálcio)	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Antioxidante (BHT)	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
L-carnitina ²	0,00	0,04	0,08	0,12	0,16	0,20
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Nutrientes						
Amido (%)	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00
Arginina Total (%)	1,81	1,81	1,81	1,81	1,81	1,81
Cálcio (%)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Energia digestível (Kcal.Kg ⁻¹)	3200	3200	3200	3200	3200	3200
Fenilalanina Total (%)	1,23	1,23	1,23	1,23	1,23	1,23
Fosforo total (%)	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
Histidina total (%)	0,66	0,66	0,66	0,66	0,66	0,66
Isoleucina total (%)	1,10	1,10	1,10	1,10	1,10	1,10
Leucina total (%)	2,08	2,08	2,08	2,08	2,08	2,08
Lisina total (%)	1,64	1,64	1,64	1,64	1,64	1,64
Metionina total (%)	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41	0,41
Proteína digestível (%)	23,00	23,00	23,00	23,00	23,00	23,00
Treonina total (%)	1,01	1,01	1,01	1,01	1,01	1,01
Triptofano total (%)	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32
Valina total (%)	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25
Composição Química Analisada (Matéria natural)						
Matéria seca (%)	93,04	91,71	89,66	91,72	91,69	91,69
Proteína bruta (%)	27,11	27,12	27,93	27,76	27,06	26,92
Extrato etéreo (%)	7,98	8,12	8,37	8,58	8,07	7,29
Matéria mineral (%)	7,45	7,86	7,69	7,67	7,40	7,73
Energia bruta (Kcal.Kg ⁻¹)	4461	4459	4352	4446	4412	4356
Fibra bruta (%)	5,43	5,99	5,01	5,10	5,42	4,97

¹Níveis de garantia por quilograma do produto: vit. A - 500.000 UI; vit. D3 - 250.000 UI; vit. E - 5.000 mg; vit. K3 - 500 mg; vit. B1 - 1.500 mg; vit. B2 - 1.500 mg; vit. B6 - 1.500 mg; vit. B12 - 4.000 mg; ácido fólico - 500 mg; pantotenato de cálcio - 4.000 mg; vit. C - 10.000 mg; biotina - 10 mg; Inositol - 1.000; nicotinamida - 7.000; colina - 10.000 mg; Cobalto - 10 mg; Cobre - 1.000 mg; Ferro - 5.000 mg; Iodo - 200 mg; Manganês - 1500 mg; Selênio - 30 mg; Zinco - 9.000 mg. ² Utilizou-se uma mistura de milho triturado contendo a inclusão de L-carnitina somando-se 500g do produto.

2.4 Desempenho zootécnico

Os valores obtidos da biometria foram tabulados a fim da obtenção dos dados de desempenho produtivo: peso final médio (PF (g)); comprimento médio final (CMF (cm)); sobrevivência (SO (%)) = ((número final de peixes / número inicial de peixes) × 100); ganho em peso (GP (g)) = peso final - peso inicial; conversão alimentar aparente (CAA = alimento fornecido (g) / ganho em peso (g)); taxa de crescimento específico (TCE (%)) = 100 × [(ln peso final (g) - ln peso inicial (g)) / período experimental]; taxa de eficiência proteica (TEP (%)) = 100 × (ganho em peso / proteína bruta consumida); índice hepatossomático (IHS (%)) = (100 × (peso do fígado/peso corporal final)) e, índice de gordura viscerossomático (IGVS (%)) = 100 × (peso da gordura víscerosomática/peso corporal final)).

2.5 Análises de composição centesimal da carcaça

Para a determinação da composição centesimal dos peixes, estes foram pré-secos em estufa de ventilação forçada de ar a 55°C por 72 horas. Posteriormente, realizou-se análise da umidade por meio da secagem em estufa a 105°C por 8 horas. O conteúdo de cinzas foi determinado em mufla a 550°C, a proteína bruta determinada pelo método de Kjeldahl e o teor de extrato etéreo empregando-se extrator de Soxhlet tendo éter como solvente, todos de acordo com a metodologia descrita por AOAC (2005).

2.6 Análises histológicas

Para a coleta de músculo, com auxílio de uma lâmina retirou-se uma amostra de músculo branco do lado esquerdo do peixe, acima da linha lateral, posteriormente os peixes foram eviscerados para a coleta de intestino e fígado. Essas amostras foram acondicionadas em solução de ALFAC por 16 horas e, posteriormente, preservadas em álcool 70% até o momento da realização das análises. Posteriormente, as amostras foram desidratadas em concentrações crescentes de álcoois, diafanizadas em xilol e embebidas em parafina histológica. Para obtenção dos cortes utilizou-se um micrótomo marca Thermo Scientific (Microm HM 340E). A fotodocumentação foi obtida por microscopia de luz realizada em microscópio óptico (P1 Olympus BX 50 - Manila, Filipinas) acoplado a uma câmera (Olympus PMC 35 B - Berlim, Alemanha), utilizando-se objetiva de 40X para as análises do músculo e do fígado, e objetiva de 20X para as análises do intestino. As mensurações foram realizadas com o auxílio do *software* de imagens computadorizado CellSens Standard 1.15®

Para o preparo das amostras de músculo, foram realizados cortes de 7µm de espessura, corados pelo método de Hematoxilina-Eosina (HE) conforme descrito por

BEHMER *et al.*, (1976) e, posteriormente verificado o menor diâmetro de pelo menos 200 fibras de cada peixe, totalizando 1.600 fibras medidas para cada tratamento, as quais foram classificadas de acordo com sua morfometria e mensuração do menor diâmetro: menor que 20 μm ; 20,01 a 50 μm e, maiores que 50 μm .

Para a análise de histomorfometria intestinal, foram recolhidas porções de aproximadamente 5 cm de comprimento do intestino medial e inseridas em cassete histológico, abertas longitudinalmente. Foram realizados cortes de 7 μm de espessura, corados pelo método de Hematoxilina-Eosina (HE). A morfometria da mucosa intestinal foi realizada em 10 vilos por animal, perfazendo um total de 120 medidas (μm) por tratamento, onde foi mensurada à altura do vilão, altura total de vilão, largura do vilão e espessura do vilão e espessura da túnica (Figura 1).

Para quantificação de hepatócitos do fígado, foram cortados em secções de 5 μm e fixados em lâmina, coradas por técnica de hematoxilina-eosina (HE). Para análise da quantificação do número de hepatócitos por área foram examinados dois cortes de cada fígado, totalizando 144 mensurações.

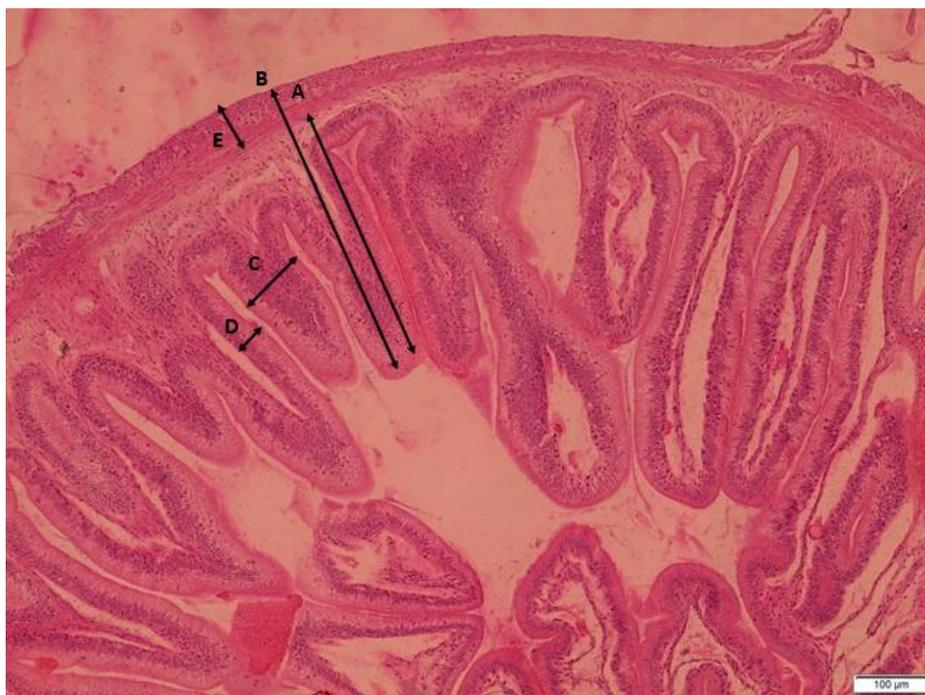


Figura 1 - Intestino de pacu alimentados com dietas contendo diferentes níveis de L-carnitina. Altura do vilão (A), Altura total do vilão (B), Largura do vilão (C), Espessura do vilão (D), Espessura da túnica (E).

2.7 Estresse oxidativo

Para as análises de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), glutathione S-transferase (GST) e catalase (CAT), dois peixes de cada aquário foram

acondicionados em gelo para retirar uma amostra de fígado que foi armazenada em nitrogênio líquido para análise posterior.

Ao ser descongelado, o fígado foi homogeneizado em 9,0 mL de tampão fosfato de sódio 0,3M (KCl 140mM, pH 7,4) por grama de tecido pesado. Acrescentou-se a mistura, composta por: inibidor das proteases (para não degradar as enzimas) e fluoreto de fenilmetilsulfonila (PMSF) na concentração 100nM diluído em isopropanol (0,03484g de PMSF em 2mL de álcool isopropílico). Para cada mL de tampão foi adicionado 10 µL de PMSF.

A determinação do TBARS foi realizada conforme BUEGE e AUST (1978), e os resultados foram expressos em $\eta\text{mol MDA.mg}^{-1}$ proteína. A avaliação da atividade da catalase (CAT) foi determinada de acordo com NELSON *et al.* (1982), em um comprimento de onda de 240 nm, e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol.mg}^{-1}$ proteína.min⁻¹. A atividade da glutathione S- Transferase (GST) foi realizada de acordo com o método de ELLMAN (1959), utilizando Ácido Tricloroacético 20% (TCA 20% = 20g de TCA em 100mL de água destilada) na proporção de 0,2g de tecido:1 ml de TCA. A leitura é realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 412 nm e a atividade foi expressa em $\mu\text{moles.mg}^{-1}$ proteína.

2.8 Qualidade da água

Os parâmetros físicos e químicos da água, como pH ($7,03\pm 0,11$), condutividade elétrica ($80,7\pm 0,68 \mu\text{S.cm}^{-1}$) e oxigênio dissolvido ($8,54\pm 0,50 \text{mg.L}^{-1}$), foram mensurados semanalmente através de um multiparâmetro YSI 556 e a temperatura ($22,5\pm 1,6^\circ\text{C}$) foi mensurada diariamente através de um termômetro digital. Os valores para os parâmetros de qualidade de água estão de acordo com a faixa de conforto para a espécie, contudo, a temperatura se manteve no limite mínimo recomendado por URBINATI e GONÇALVES (2005).

2.9 Estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de normalidade e homocedasticidade e, atendendo a esses pressupostos, foram submetidos à análise de variância a 5% de significância e, em caso de diferença significativa, foi aplicado o teste de Tukey de comparação de médias, com o auxílio do software Statistica 7.0® (Statsoft, 2004).

3. RESULTADOS

3.1 Desempenho zootécnico

Não houve influência da inclusão de L-carnitina na suplementação da dieta para os juvenis de pacu para as variáveis de CMF, GP, SOB, CAA, TCE e TEP. O IHS apresentou menor valor para o tratamento controle e foi maior para os tratamentos com níveis de inclusão de 800; 1.200 e 2.000 mg.kg⁻¹ de L-carnitina (P<0,05). O IGVS foi maior nos peixes alimentados com dietas contendo 2.000mg.kg⁻¹ e menor valor foi observado para os tratamentos 0 e 400 mg.kg⁻¹ (P<0,05) (Tabela 2).

Tabela 2 – Desempenho zootécnico de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) alimentados com dietas contendo diferente níveis de L-Carnitina.

Variável	Níveis de L-Carnitina (mg.kg ⁻¹)						P
	0	400	800	1.200	1.600	2.000	
PIM ¹ (cm)	9,90 ± 0,74	9,52 ± 0,80	9,87 ± 0,95	9,27 ± 0,35	9,68 ± 0,54	9,48 ± 0,62	-
CMF ² (cm)	13,19 ± 0,63	13,38 ± 0,55	13,25 ± 0,94	12,97 ± 8,33	12,92 ± 0,71	12,87 ± 0,37	0,92
GP ³ (g)	31,45 ± 4,71	32,71 ± 3,64	33,13 ± 6,99	31,17 ± 5,83	30,21 ± 5,13	30,08 ± 2,91	0,96
SOB ⁴ (%)	87,50 ± 12,50	83,33 ± 11,78	85,42 ± 10,82	91,67 ± 8,33	97,92 ± 3,61	97,92 ± 3,61	0,27
CAA ⁵	2,15 ± 0,27	2,20 ± 0,58	2,03 ± 0,40	2,08 ± 0,18	1,79 ± 0,28	2,09 ± 0,15	0,75
TCE ⁶ (%)	1,19 ± 0,09	1,24 ± 0,05	1,22 ± 0,08	1,22 ± 0,10	1,17 ± 0,08	1,19 ± 0,09	0,92
TEP ⁷ (%)	0,18 ± 0,03	0,19 ± 0,02	0,20 ± 0,05	0,18 ± 0,04	0,18 ± 0,03	0,18 ± 0,02	0,96
IHS ⁸ (%)	1,74±0,14a	2,02±0,05ab	2,24±0,34b	2,15±0,16b	2,03±0,05ab	2,24±0,22b	0,00 3
IGVS ⁹ (%)	2,36±1,04a	2,49±0,62a	2,83±0,45ab	3,21±0,72ab	3,20±0,64ab	3,96±0,43b	0,00 4

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. ¹Peso inicial médio; ²Comprimento médio final; ³Ganho em peso; ⁴Sobrevivência; ⁵Conversão alimentar aparente; ⁶Taxa de crescimento específico; ⁷Taxa de eficiência proteica, ⁸ Índice Hepatosomático, ⁹Índice de Gordura Viscerosomática. Letras diferentes representam diferenças significativas (P<0,05). Para P>0,05 não há diferença significativa.

3.2 Análise de composição química da carcaça

A porcentagem de proteína bruta na carcaça foi maior para o tratamento controle, apresentando menores valores para os tratamentos contendo 400 e 1.200 mg.kg⁻¹ L-carnitina de inclusão na dieta. Os peixes alimentados com o nível de 2.000 mg.kg⁻¹ de L-carnitina obtiveram maior porcentagem de extrato etéreo e o nível de 1.600 mg.kg⁻¹ de L-carnitina resultou em menor porcentagem. Os resultados para a umidade e para a matéria mineral não apresentaram diferença significativa (P>0,05) entre os tratamentos (Tabela 3).

Tabela 3 - Composição centesimal de pacu alimentados com dietas contendo níveis crescentes de L-Carnitina.

Variável (%)	Níveis de L-Carnitina (mg.kg ⁻¹)						P
	0	400	800	1.200	1.600	2.000	
Um ¹	70,13±1,09	69,75±0,75	69,52±0,67	69,47±1,67	69,87±0,88	68,56±0,42	0,59
PB ²	18,73±0,75a	16,37±0,75b	17,65±0,24ab	16,91±0,43b	17,28±0,46b	17,75±0,29ab	0,00
E. E. ³	10,16±0,50ab	10,61±0,50ab	10,23±0,04ab	9,90±0,29ab	9,62±0,60a	10,76±0,30b	0,04
M. M. ⁴	3,01±0,10	2,98±0,04	3,10±0,17	3,16±0,05	3,14±0,07	3,15±0,13	0,21

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. ¹ Umidade, ² Proteína Bruta, ³ Extrato Etéreo, ⁴ Matéria Mineral. Letras diferentes representam diferenças significativas (P<0,05). Para P>0,05 não há diferença significativa.

3.3 Análises histológicas

A histomorfometria intestinal apresentou maior altura do vilos para os peixes alimentados com 2.000mg.kg⁻¹ de L-carnitina, os quais também apresentaram vilos mais espessos, enquanto a túnica foi menor para o tratamento controle. A altura total dos vilos e largura não apresentaram diferenças significativas (P>0,05). As análises de quantificação de hepatócitos e histomorfometria do músculo não apresentaram diferença significativa para os peixes alimentados com dietas contendo níveis de suplementação de L-carnitina e a dieta controle (Tabela 4).

Tabela 4 - Histomorfometria do intestino, quantificação de hepatócitos e, frequência do menor diâmetro das fibras musculares de pacus alimentados com dietas contendo diferentes níveis de L-carnitina.

	Níveis de L-Carnitina (mg.kg ⁻¹)						P
	0	400	800	1.200	1.600	2.000	
Intestino							
Altura (µm)	399,31 ± 92,01ab	312,65 ± 106,70a	466,66 ± 90,83ab	477,78 ± 50,42ab	478,62 ± 38,48ab	539,67 ± 48,35b	0,01
Altura total (µm)	450,49 ± 106,81	416,15 ± 142,99	507,69 ± 91,26	528,85 ± 41,38	537,55 ± 23,94	592,86 ± 49,47	0,10
Largura (µm)	121,97 ± 12,20	110,49 ± 3,26	122,76 ± 18,83	108,98 ± 3,19	120,42 ± 14,11	111,25 ± 14,29	0,29
Espessura (µm)	52,27 ± 0,81ab	56,61 ± 6,22ab	57,60 ± 9,45ab	60,93 ± 0,98ab	63,72 ± 5,14b	50,05 ± 4,96a	0,02
Túnica (cm)	40,34 ± 2,66a	53,90 ± 3,36c	44,17 ± 5,79ab	44,42 ± 2,24ab	57,34 ± 2,71c	51,28 ± 2,62bc	0,00
Fígado							
Hepatócitos (n ^o)*	140,50 ± 7,57	156,17 ± 34,43	131,00 ± 19,28	125,00 ± 9,18	134,83 ± 11,79	132,33 ± 9,14	0,28
Músculo (%)							
<20µm	30,00±4,43	34,75±9,00	33,50±6,49	35,63±3,94	38,00±11,11	30,50±4,71	0,60
20 - 50µm	66,75±4,70	65,00±8,40	66,00±6,42	61,75±2,53	61,12±11,02	65,50±4,43	0,79
>50µm	0,83±1,44	0,50±0,86	0,66±1,15	1,67±1,75	1,17±1,15	3,00±1,32	0,12

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. Letras diferentes representam diferenças significativas (P<0,05). Para P>0,05 não há diferença significativa.

*Número médio de hepatócitos em um campo de 2.000µm².

3.4 Estresse oxidativo

O tratamento com inclusão de 2.000 mg.kg⁻¹ de L-carnitina apresentou maior concentração de TBARS, enquanto que para os demais níveis de inclusão não diferiram estatisticamente (P>0,05). Para a avaliação da CAT e GST não houve diferença significativa entre os níveis de inclusão de L-carnitina (Tabela 5).

Tabela 5 - Concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, Catalase e glutathione S-transferase no fígado de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inclusão de L-carnitina.

Variável	Níveis l-carnitina (mg.kg ⁻¹)						P
	0	400	800	1.200	1.600	2.000	
CAT	0,58±0,14	0,57±0,18	0,58±0,18	0,52±0,39	0,46±0,20	0,59±0,14	0,96
GST	0,87±0,17	0,90±0,06	0,82±0,18	0,90±0,11	0,97±0,17	0,88±0,14	0,85
TBARS	1,50 ± 0,59a	1,69 ± 1,09ab	1,83 ± 0,38ab	1,50 ± 1,29a	1,00 ± 0,37 ^a	3,57 ± 1,26b	0,02

CAT (μmol.mg⁻¹ proteína.min⁻¹); GST (μmol GS-DNB.min⁻¹ .mg proteína⁻¹); TBARS (ηmol.mg⁻¹.proteína). Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. Letras diferentes representam diferenças significativas (P<0,05). Para P>0,05 não há diferença significativa.

4. DISCUSSÃO

4.1 Desempenho zootécnico

O efeito promotor de crescimento pela inclusão de L-carnitina na dieta para peixes pode fomentar a utilização mais eficiente da energia dos ácidos graxos, resultado do aumento da oxidação lipídica pela mitocôndria (PEREIRA, 2009). Estudos realizados com a suplementação de L-carnitina em dietas para diferentes espécies de peixes têm demonstrado efeito benéfico, nos quais tem se destacado para as fases iniciais de desenvolvimento dos peixes, em que a síntese endógena da L-carnitina está menos desenvolvida, havendo, portanto, a necessidade da suplementação deste composto na dieta (OZÓRIO, 2009). Neste estudo não foi observada diferença significativa para os parâmetros de desempenho produtivo avaliados. Contudo, há uma gama de variações quanto aos efeitos e conclusões, podendo haver divergência quanto aos resultados de acordo com diferentes condições experimentais, espécie estudada, fase de desenvolvimento, composição da dieta, condições de estresse, entre outros fatores que podem influenciar no desenvolvimento dos peixes (GONÇALVES *et al.*, 2010).

Segundo PEREIRA (2009) a L-carnitina pode atuar contra o estresse proveniente de diversidades que podem ser encontradas no ambiente durante o cultivo, tais como a variação da temperatura e níveis reduzidos de oxigênio dissolvido. Durante o período experimental não houve variação drástica para esses parâmetros, contudo, a

temperatura se manteve no limite mínimo recomendado para o cultivo de pacu, o que pode ter ocasionado o baixo desenvolvimento nessa fase, como apresentam os índices (Tabela 2) de ganho em peso e taxa de crescimento específico em relação ao encontrado por FARIAS (2017), FRANÇA (2015) e SANCHEZ *et al.* (2016).

Apesar de não haver diferença significativa entre os níveis de inclusão, a CAA apresentou um valor elevado com relação ao relatado para a espécie na literatura, o que representa o alto consumo do alimento e baixo ganho em massa corporal. No mesmo sentido, os valores obtidos para o IGVS foram elevados em comparação ao descrito para a espécie por FARIAS (2017) e SANCHEZ *et al.* (2016), pois os peixes alimentados com o nível de inclusão de 2.000 mg.kg⁻¹ de L-carnitina apresentaram maior porcentagem de IGVS, enquanto o tratamento controle e o de 400 mg.kg⁻¹ apresentaram índices reduzidos. Nos peixes redondos em geral, o excesso de gordura é depositado na cavidade abdominal, resultando no baixo rendimento da carcaça ao ser processado e, o que pode ocasionar esse excesso de gordura visceral é o desbalanço nutricional (KUBITZA, 2004). Contudo, neste estudo, os valores para a PB e ED estavam de acordo com o proposto para a fase de cultivo para a espécie conforme URBINATI e GONÇALVES (2005).

Por meio do IHS é possível verificar o estado de higidez do animal, o qual provém das taxas de glicogênio e lipídeos depositados no fígado (DIETERICH *et al.*, 2013). Os níveis de inclusão de L-carnitina neste trabalho também promoveram aumento no IHS, o qual é influenciado pela alimentação e representa maiores taxas de reserva energética e, deposição de gordura e glicogênio no fígado, indicando um aumento no peso neste órgão (TAVARES-DIAS *et al.* 2000; SOUZA *et al.*, 2002). Segundo TAVARES-DIAS *et al.* (2000), valores elevados para o IHS ocorrem quando o peixe se prepara para o período de estiagem, quando os animais se alimentam menos, influenciando na relação hepatossomática. Durante o período experimental, a temperatura média se manteve no mínimo recomendado para a espécie, o que pode ter ocasionado tais alterações somáticas.

Resultados semelhantes ao de desempenho deste estudo foram observados por outros autores, os quais também não encontraram influência da inclusão de L-carnitina na dieta para outras espécies de peixes, como observado por SABZI *et al.* (2017) em estudo com a carpa comum (*Cyprinus carpio*). OZÓRIO *et al.* (2001), avaliando a suplementação de L-carnitina para duas fases de vida do bagre africano (*Clarias*

gariepinus) relataram que, para os peixes com 60g de peso final, houve melhoria na taxa de crescimento específico e na conversão alimentar desses animais e para os peixes com peso final de 160g não houve essa mesma interação. Esses autores avaliaram ainda a interação da L-carnitina em dietas com baixa relação energia:proteína e concluíram que a exigência de L-carnitina na dieta é mais evidente em peixes nas fases iniciais de vida e em dietas em que a proteína é escassa, diferentemente do que ocorreu neste estudo.

Quanto à avaliação da suplementação de L-carnitina para juvenis de truta arco íris (PEREIRA, 2009), não houve influência nos índices de crescimento diário e conversão alimentar, contudo, notou-se um aumento do ganho em peso nos peixes alimentados com os níveis mais elevados de L-carnitina (530mg de L-carnitina.kg⁻¹), concordando com outros estudos nos quais a L-carnitina afetou o crescimento dos peixes avaliados.

4.2 Análise de composição química

Com a inclusão da L-carnitina na dieta, ocorre aumento da oxidação lipídica no metabolismo, reduzindo o acúmulo de gordura e, conseqüentemente eleva o conteúdo de proteína corporal (YANG *et al.*, 2012), assim como em estudo relatado por SABZI *et al.* (2017) no qual a carpa comum alimentada com 1.000 mg.kg⁻¹ de L-carnitina apresenta maior conteúdo de proteína, menor conteúdo de gordura e matéria mineral, embora ainda não sejam conhecidos quais mecanismos levam a L-carnitina a promover esse efeito. Em estudo com o kutum (*Rutilus firsii kutum*) NEKOUBIN *et al.* (2012) observaram maior porcentagem de lipídeo quando suplementaram com 2.000 mg de L-carnitina.kg⁻¹ na dieta, enquanto menores níveis de inclusão não diferenciaram da dieta controle, assim como para a proteína, onde o mesmo nível de inclusão apresentou a menor porcentagem de proteína.

No presente estudo, observou-se redução do teor de lipídeos no nível de inclusão de 1.600 mg.kg⁻¹ de L-carnitina, sugerindo ação da amina até este nível, já que com a inclusão de 2.000 mg.kg⁻¹ a não amina promoveu essa redução. Entretanto, para os pacus do presente estudo, a porcentagem de proteína na carcaça foi maior nos peixes alimentados com a dieta controle, divergindo dos valores observados pelos autores citados acima. Contudo, os valores obtidos para a composição centesimal da carcaça estão próximos ao relatado na literatura para os juvenis de pacu (FARIAS *et al.*, 2017).

OZÓRIO *et al.* (2001) avaliaram o efeito da suplementação de L-carnitina e a relação proteína:lipídeos em dietas para juvenis de bagre africano (*Clarias gariepinus*), para o qual relatam que para as fases iniciais (até 60g) os peixes não apresentaram diferenças significativas na composição corporal, entretanto, para os peixes de até 160g,

observaram que houve menor acúmulo de gordura e, conseqüentemente, pode haver redução na excreção de nitrogênio do peixe ao ambiente aquático.

4.3 Análises histológicas

Após ser sintetizada, a L-carnitina é transportada para os tecidos, sendo mais elevada nos organismos que usam o ácido graxo como fonte primária energética. Portanto, após a sintetização no fígado e rins, ela é transportada para o músculo onde é utilizada na β -oxidação, sendo convertida de L-carnitina-livre a éteres de L-carnitina esterificada (OZÓRIO *et al.*, 2002).

A histologia do fígado é considerada como um bom indicador e inevitável em estudos de nutrição, devido à sua função na metabolização de produtos provenientes do trato digestivo (RAŠKOVIĆ *et al.*, 2011). Segundo estes autores, quando o alimento fornecido ao peixe não for adequado, podem ser frequentemente observadas alterações como vacuolização de hepatócitos, degeneração gordurosa no fígado, alterações na atividade metabólica, alterações no parênquima hepático e necrose. Neste estudo, a quantificação de hepatócitos não apresentou diferença estatística entre os animais alimentados com diferentes níveis de suplementação de L-carnitina e o tratamento controle, portanto, não houve alterações histológicas nesse tecido com a inclusão da L-carnitina na dieta.

Os diâmetros das fibras musculares foram classificados em classes de acordo com a mensuração. Fibras musculares com diâmetro menor que 20 μm são classificados como hiperplasia e, fibras musculares com diâmetro acima de 50 μm são classificados como hipertrofia (ROWLERSON e VEGGETTI, 2001). ALMEIDA *et al.* (2008) relatam que em juvenis de pacu, a hiperplasia possui grande frequência no desenvolvimento muscular, e para a fase adulta, a hipertrofia é mais frequente. Assim como observado neste estudo, diâmetros menores que 20 μm representaram entre 30 e 38% do diâmetro das fibras avaliadas, havendo maiores fibras em normalidade seguida de hiperplasia, isso demonstra atividade no processo de crescimento do músculo durante o estágio de desenvolvimento, o que concorda com a porcentagem de fibras que apresentaram hipertrofia sendo pouco frequentes (menos de 3%).

O intestino, é o órgão de principal digestão e absorção de nutrientes nos peixes, no pacu, é classificado como de tamanho médio e, em seu interior, há distribuição das dobras no sentido longitudinal, sendo maiores e mais complexas na porção mediana, a qual possivelmente é a parte em que ocorre maior absorção (CORREA, 2016). Essa estrutura varia conforme a dieta, dependendo ainda da espécie e do estágio de vida

(RAŠKOVIĆ *et al.*, 2011). Segundo YUAN *et al.* (2011), a L-carnitina pode proteger a parede intestinal de lesões e prevenções bacterinas devido à ação de melhora na absorção de nutrientes. No presente estudo, os peixes alimentados com 2.000 mg.kg⁻¹ de L-carnitina apresentaram vilos mais altos e menos espessos com relação aos demais níveis de inclusão, característica que segundo HISANO *et al.* (2018) representa uma adaptação do tecido ao alimento, sugerindo que possa melhorar a área superficial de absorção de nutrientes.

4.4 Estresse oxidativo

A L-carnitina atua na β -oxidação como transportadora de ácidos graxos de cadeia longa, apresenta função regulatória no metabolismo energético de animais, e pode ainda agir na resistência ao estresse em mamíferos devido a β -oxidação de ácidos graxos mitocondrial (LI *et al.*, 2017). Esses autores comprovam que a síntese limitada de carnitina na tilápia-do-Nilo inibiu significativamente a atividade da β -oxidação de ácidos graxos mitocondrial, diminuiu a resistência a patógenos e amônia nitrogenada, contudo não induziu ao estresse oxidativo, afirmando que a carnitina é necessária para a β -oxidação de ácidos graxos mitocondrial para essa espécie, assim como para os mamíferos. Embora existam estudos que comprovem a atividade da L-carnitina como antioxidante, não se sabe claramente os mecanismos específicos e, ou derivados, que exercem essa função (CALÒ *et al.*, 2006).

O estresse oxidativo ocorre devido ao desequilíbrio entre concentrações pró-oxidantes, tais como as espécies reativas de oxigênio, que incluem o íon superóxido (O_2^-), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o radical hidroxil (OH) e o oxigênio singlete (O_1), os quais reagem com concentrações antioxidantes, tais como lipídios, proteínas, carboidratos ou ácidos nucleicos, causando danos às macromoléculas, produzindo derivados de mau funcionamento responsáveis por diversas lesões bioquímicas (CUNHA BASTOS *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2017). A atividade da peroxidase de algumas isoenzimas de alfa-glutationa S-transferase (alfa-GST) é considerada uma defesa enzimática contra lesão oxidativa (CUNHA BASTOS *et al.*, 2007). Enzimas de baixo peso molecular, tais como a catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase e glutathione S-transferase são conhecidas por terem uma grande atividade antioxidante, as quais formam complexas redes de defesa contra o estresse oxidativo (SILVA *et al.*, 2017).

A enzima catalase não age diretamente nos produtos de peroxidação lipídica, contudo, pode afetar a fase inicial de peroxidação, diminuindo as concentrações de peróxido de hidrogênio (LUSHCHAK e BAGNYUKOVA 2006). Pode se afirmar que não

houve influência da L-carnitina nessa enzima, assim como para a GST, uma importante enzima que é desintoxicante, frequentemente induzida sob condições adversas, tais como o envenenamento (SALBEGO *et al.*, 2017).

A intensidade da peroxidação lipídica é avaliada como níveis de produtos primários, dienos conjugados e peróxidos lipídicos e/ou produtos finais de peroxidação lipídica, tais como malondialdeído e outros aldeídos, que são ensaiados com ácido tiobarbitúrico e expressos como substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (LUSHCHAK e BAGNYUKOVA 2006). O TBARS é um dos parâmetros fisiológicos mais populares na determinação da peroxidação no tecido (YU *et al.*, 2017). Com a inclusão da L-carnitina na dieta para o pacu, observou-se um aumento significativo deste parâmetro para o nível de 2.000 mg.kg⁻¹ de L-carnitina na dieta, sugerindo que até o nível de 1.600 mg.kg⁻¹ de L-carnitina na dieta não há alteração na peroxidação lipídica do tecido hepático.

5. CONCLUSÃO

A suplementação de L-carnitina, para os níveis de inclusão empregados nas dietas experimentais neste trabalho, não afeta o desempenho de pacus, entretanto, promove o aumento do índice hepatossomático, gordura visceral e corporal, alterações na morfometria intestinal e a partir de 2.000mg.kg⁻¹ pode causar peroxidação lipídica no tecido hepático. Não há necessidade de inclusão de L-carnitina em dietas para juvenis de Pacu.

6. REFERÊNCIAS

ANDRADE, R. L. B.; WAGNER, R. L.; MAHL, I.; MARTINS, R. S. 2005. Custos de produção de tilápias (*Oreochromis niloticus*) em um modelo de propriedade da região oeste do Estado do Paraná, Brasil. *Ciência Rural*, 35 (1): 198-203.

AOAC 2005. *Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists*. 18^a ed. Gaithersburg, Maryland.

ALMEIDA, F.L.A.; CARVALHO, R.F.; PINHAL, D.; PADOVANI, C.R.; MARTINS, C.; DAL PAI-SILVA, M. 2008. Differential Expression of Myogenic Regulatory Factor MyoD in Pacu Skeletal Muscle (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887: Serrasalminae, Characidae, Teleostei) during Juvenile and Adult Growth Phases. *Micron* 39 (8): 1306-1311. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2008.02.011>.

BEHMER, O.A.; TOLOSA, E. M. C.; NETO, A. G. F. 1976. *Manual de técnicas para histologia normal e patológica*. São Paulo : Edart/Edusp. 240p.

BUEGE, J.A.; AUST, S. D. 1978. Microsomal lipid peroxidation, *Methods in Enzymology*. 52: 302-309.

CALÒ, L. A.; PAGNIN, E.; DAVIS, P. A.; SEMPLICINI, A.; NICOLAI, R.; CALVANI, M.; PESSIMA, A. C. 2006. Antioxidant effect of L-carnitine and its short chain esters Relevance for the protection from oxidative stress related cardiovascular damage. *International Journal of Cardiology*, 107(1): 54-60. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2005.02.053>.

CORREA, R. O. 2016. *Substituição da farinha de peixe pelo concentrado proteico de soja em dietas para pacus (*Piaractus mesopotamicus*) e dourados (*Salminus brasiliensis*), Piracicaba, Brasil*. (Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"). Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11139/tde-15042016-183723/en.php>> Acessado em: 14 fev. 2018.

CUNHA BASTOS, V. L. F.; SALLES, J. B.; VALENTE, R. H.; LEÓN, I. R.; PERALES, J.; DANTAS, R.F.; ALBANO, R. M.; BASTOS, F. F.; CUNHA BASTOS, J. 2007. Cytosolic glutathione peroxidase from liver of pacu (*Piaractus mesopotamicus*), a hypoxia-tolerant fish of the Pantanal. *Biochimie* 89(11): 1332-1342. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2007.04.003>.

DIETERICH, T. G.; POTRICH, F. R.; LORENZ, E. K.; SIGNOR, A. A.; FEIDEN, A.; BOSCOLO, W. R. 2013. Parâmetros zootécnicos de juvenis de pacu alimentados a diferentes frequências de arraçoamento em tanques-rede. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48 (8): 1043-1028. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2013000800033>.

ELLMAN, G. L. 1959. Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82 (1): 70-77.

FARIAS, C. V. T. 2017. *Efeito das Características Estruturais do Amido no Metabolismo e Crescimento do Pacu *Piaractus mesopotamicus**. Dracena, Brasil. (Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas – FCAT – Unesp). Disponível em:< <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/150333>> Acesso em: 10 jan. 2018.

FAO. 2016. Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação. *The state of world fisheries and aquaculture*. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/a-i5555e.pdf>> Acesso em: 5 out. 2017.

FRANÇA, W. G. 2015. *Avaliação do uso da fitase em dietas à base de fontes vegetais na alimentação do pacu (*Piaractus mesopotamicus*)*. Palotina, Brasil. (Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná). Disponível em: <<http://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/41270>> Acesso em: 20 nov. 2017.

FURUYA, W. M. 2013. Nutrição de tilápias no Brasil. *Revista Varia Scientia Agrárias*, 03 (01): 133-150.

GOMES, L. C.; CHIPARI-GOMES, A. R.; LOPES, N. P.; ROUBACH, R.; ARAUJO-LIMA, C. A. R. M. 2001. Efficacy benzocaine as anesthetic in Juvenile tambaqui *Colossoma*

macropomum. *Journal of the World Aquaculture Society*, 32 (4): 426-431. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2001.tb00470.x>.

GONÇALVES, J. F. M.; TURINI, B. G. D.; OZÓRIO, O. A. 2010. Performance of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) fed varying dietary L-carnitine levels at different stocking densities. *Scientia Agricola*, 67 (2): 151-157. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-90162010000200004>.

HARPAZ, S. 2005. L-carnitine and its attributed functions in fish culture and nutrition - a review. *Aquaculture*, 249 (1-4): 3-21. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.04.007>.

HISANO, H.; SOARES, M. P.; LUIGGI, F. G.; ARENA, A. C. 2018. Dietary β -glucano and mannanoligosaccharides improve growth performance and intestinal morphology of juvenile pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887). *Aquaculture International*, 26 (1): 213-223. <https://doi.org/10.1007/s10499-017-0210-6>.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Produção da Pecuária municipal*. 2016. Rio de Janeiro, 43: 1-51.

KUBITZA, F. 2004. Coletânea de informações aplicadas ao cultivo do tambaqui, do pacu e de outros peixes redondos. Parte 2. *Panorama da Aquicultura*, 14(83): 13-23.

LI, JM.; LI, LY.; QIN, X.; NING, LJ.; LU, DL.; LI, DL.; ZHANG, ML.; WANG, X.; DU, ZY. 2017. Systemic regulation of L-carnitine in nutritional metabolism in zebrafish, *Danio rerio*. *Scientific Reports* 7:40815. Doi:10.1038/srep40815.

LUSHCHAK, V. I. e BANGNYUKOVA, T. V. 2006. Effects of different environmental oxygen levels on free radical processes in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 144(3): 283-289. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2006.02.014>.

NEKOUBIN, H.; HATEFI, S.; JAVEHERI, S.; SUDAGAR, M. 2012. Effects of Dietary L-Carnitine Supplementation on Body Composition and Growth Performance in Caspian Sea Kutum (*Rutilus firsii kutum*). *Global Veterinaria*, 8 (3): 276-279.

NELSON, D.P.; KIESOW, L.A. 1972. Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25 degrees C (with molar extinction coefficients of H₂O₂ solutions in the UV). *Analytical Biochemistry*, 49 (2): 474-478. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(72\)90451-4](https://doi.org/10.1016/0003-2697(72)90451-4).

OZÓRIO, R. O. A.; VAN EEKEREN, T. H. B.; HUISMAN, E. A.; VERRETH, J. A. J. 2001. Effects of dietary carnitine and protein energy:nonprotein energy ratios on growth, ammonia excretion and respiratory quotient in African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell) juveniles. *Aquaculture Research*, 32 (1): 406-414. <https://doi.org/10.1046/j.1355-557x.2001.00031.x>.

OZÓRIO, R. O. A.; BOOMS, G. H. R.; HUISMAN, E. A.; VERRETH, J. A. J. 2002. Changes in amino acid composition in the tissues of African catfish (*Clarias gariepinus*) as a consequence of dietary L-carnitine supplements. *Journal of Applied Ichthyology*, 18 (3): 140-147. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0426.2002.00317.x>.

OZÓRIO R. O. A. 2009. Dietary L-Carnitine Supplementation to Cultivated Fish: A Mini-Review. *Current Nutrition & Food Science*, 5 (1): 40-48. <https://doi.org/10.2174/157340109787314758>.

PEREIRA, C. F. E. 2009. *Suplementação de L-carnitina na dieta de trutas arco-íris (Oncorhynchus-mykiss): Estudo comparativo entre indivíduos diplóides e triploides*. Porto – Portugal. (Dissertação de Mestrado em Ciências do Mar – Recursos Marinhos). Disponível em: < <https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/18727/2/Tese%20Mestrado.pdf> > Acesso em: 12 nov. 2017.

RAŠKOVIĆ, B. S.; STANKOVIĆ, M. B.; MARKOVIĆ, Z. Z.; POLEKSIĆ, V. D. 2011. Histological methods in the assessment of different feed effects on liver and intestine of fish. *Journal of Agricultural Sciences*, 56 (1): 87-100. <https://doi.org/10.2298/JAS1101087R>.

ROWLERSON, A.; VEGGETTI, A. 2001. *Cellular Mechanisms of Post-Embryonic Muscle Growth in Aquaculture Species*. In: Johnston, I.A., Ed., *Muscle Development and Growth*. Academic Press, San Diego, p. 103-140.

REBOUCHE, C.J.; SEIM, H. 1998. Carnitine metabolism and its regulation in microorganisms and mammals. *Annual Review of Nutrition*, 18: 39-61. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.18.1.39>.

SABZI, E.; MOHAMMADIAZARM, H.; SALATI, A. P. 2017. Effect of dietary l-carnitine and lipid levels on growth performance, blood biochemical parameters and antioxidant status in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*, 480: 89-93. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.08.013>.

SAFARI, O.; ATASH, M. M. S.; PAOLUCCI, M. 2015. Effects of dietary L-carnitine level on growth performance, immune responses and stress resistance of juvenile narrow clawed crayfish, *Astacus leptodactylus leptodactylus* Eschscholtz, 1823. *Aquaculture*, 439: 20-28. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.01.019>.

SALBEHO, J.; TONI, C.; BECKER, A. G.; ZEPPENFELD, C. C.; MENEZES, C. C.; LORO, V. L.; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B. 2017. Biochemical parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*) after transport with eugenol or essential oil of *Lippia alba* added to the water. *Brazilian Journal of Biology* 77(4): 696-702. <http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.16515>.

SANCHEZ, M. S. dos S.; NASCIMENTO, M. S.; HISANO, H. 2016. Substituição do milho pelo sorgo em dietas para juvenis de pacu. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 51 (1): 1-8. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2016000100001>.

SOUZA, V. L.; URBINATI, E. C.; GONÇALVEZ, D. C.; SILVA, P. C. 2002. Composição corporal e índices biométricos do pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes, Characidae) submetido a ciclos alternados de restrição alimentar e realimentação. *Acta Scientiarum*, 24 (2): 533-540. <http://dx.doi.org/10.4025/actascibiols.v24i0.2355>.

SILVA, T. V. N.; BARBAS, L. A. L.; TORRES, M. F.; SAMPAIO, L. A.; MONSERRAT, J. M. 2017. Lipid peroxidation and antioxidant capacity in *Peckoltia oligospila* (Günther, 1864) submitted to transport under different concentration of dissolved oxygen. *Aquaculture* 481: 72-78. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.08.024>.

STATSOFT, Inc. 2005. *Statistica* (data analysis software system), version 7.1. STATSOFT, Inc. www.statsoft.com.

URBINATI, E.C.; GONÇALVES, F. D. 2005. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). In: BALDISSEROTTO B. & GOMES L.C. *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. Santa Maria: ED. da UFSM. 468p.

TAVARES-DIAS, M.; MARTINS, M. L.; MORAES, F. R. 2000. Relação hepatossômática e esplenossômática em peixes teleósteos de cultivo intensivo. *Revista Brasileira de Zoologia*, 17, (1): 273-281. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-81752000000100024>.

TONINI, W. C. T.; MENDONÇA, P. P.; POLESE, M. F.; ABREU, M. L. C.; MATOS, D. C.; VIDAL JR. M. V.; ANDRADE, D. R. 2011. Níveis de carnitina na ração no desempenho corporal de tricogáster léri (*Trichogaster leeri* Bleeker, 1852). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 63 (6): 1526-1532. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352011000600033>.

WRAY-CAHEN, D.; FERNÁNDEZ-FÍGARES, I.; VIRTANEN, E.; STEELE, N. C.; CAPERNA, T. J. 2004. Betaine improves growth, but does not induce whole body or hepatic palmitate oxidation in swine (*Sus scrofa domestica*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 137 (1): 131-140. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2003.09.015>.

YANG, S. D.; LIU, F. G.; LIOU, C. H. 2012. Effects of dietary L-carnitine, plant proteins and lipid levels on growth performance, body composition, blood traits and muscular carnitine status in juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture*, 342-343 (15): 48-55. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.02.002>.

YU, DH.; CHANG, JZ.; DONG, GF.; LIU, J. 2017. Replacement of fish oil with soybean oil in diets for juvenile Chinese sucker (*Myxocyprinus asiaticus*): effects on liver lipid peroxidation and biochemical composition. *Fish Physiology and Biochemistry*, 43(5): 1413-1420. <https://doi.org/10.1007/s10695-017-0381-0>.

YUAN, Y.; GUO, H.; ZHANG, Y.; ZHOU, D.; GAN, P.; LIANG, D. M.; CHEN, J. Y. 2011. Protective effects of L-carnitine on intestinal ischemia/reperfusion injury in a rat model. *Journal of Clinical Medicine Research*, 3 (2): 78-84, 2011. <https://doi.org/10.4021/jocmr540w>.