

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

**MILENA SOUZA DOS SANTOS SANCHEZ**

**SUPLEMENTAÇÃO DE L-CARNITINA E BETAÍNA PARA TILÁPIAS DO NILO**

Toledo

2018

MILENA SOUZA DOS SANTOS SANCHEZ

SUPLEMENTAÇÃO DE L-CARNITINA E BETAÍNA PARA TILÁPIAS DO NILO

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

Sanchez, Milena Souza dos Santos  
Suplementação de L-carnitina e Betaína para tilápias do Nilo : Suplementação de L-carnitina para tilápias do Nilo / Comportamento produtivo e metabólico de tilápias do Nilo suplementadas com Betaína / Milena Souza dos Santos Sanchez; orientador(a), Altevir Signor; coorientador(a), Wilson Rogério Boscolo, 2018.  
80 f.

Tese (doutorado), 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. Nutrição. 2. Tilápia do Nilo. 3. L-carnitina. 4. Betaína. I. Signor, Altevir. II. Boscolo, Wilson Rogério. III. Título.

## FOLHA DE APROVAÇÃO

**MILENA SOUZA DOS SANTOS SANCHEZ**

### SUPLEMENTAÇÃO DE L-CARNITINA E BETAÍNA PARA TILÁPIAS DO NILO

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

---

Prof. Dr. Wilson Rogério Boscolo  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná

---

Prof. Dr. Jakeline Marcela Azambuja de Freitas  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná

---

Prof. Dr. Juliana Alice Lösch Nervis  
Cooperativa Agroindustrial Consolata - COPACOL

Aprovada em:

Local de defesa: Auditório da Unioeste/*Campus* de Toledo.

Albert Einstein escreveu: Todo mundo é um gênio. Mas se você julgar um peixe por sua habilidade de escalar uma árvore viverá sua vida inteira acreditando que é estúpido. A pergunta que tenho para você neste momento de nossa jornada juntos é:

*“Qual é o seu gênio?”*

*Ao meu sobrinho Arthur, exemplo de superação, força e amor...*

*Ofereço!*

*Aos meus pais, Benevides e Francisca e aos meus irmãos Misael e Mirella, por serem os meus exemplos e maiores incentivadores de minhas conquistas, pela luta, pelo amor e por serem a essência de tudo que sou...*

*Ao meu companheiro, amigo, eterno namorado e esposo Djonathan, fonte de inspiração, amor, felicidade e humildade...*

*Dedico!*

## **Agradecimentos**

*A Deus por sustentar minha fé nas caminhadas dessa vida, por mais essa graça concedida e por todas as outras conquistas que me permitiu realizar!!!*

*Ao PRONEM – Programa de Apoio a Núcleos Emergentes (Chamada Pública 23/2012) pela concessão da bolsa de DTI – Desenvolvimento Tecnológico Industrial, ao CASADINHO/PROCAD (Processo 552224/2011-5) pela concessão da bolsa de SWP – Doutorado Sanduiche no País e ao CNPq pelo auxílio financeiro. Obrigada!*

*Aos meus pais Benevides e Francisca, aos meus irmãos Misael e Mirella e ao meu esposo Djonathan, fonte de todo incentivo, inspiração e amor, obrigada pela paciência, pelas jornadas incansáveis que percorremos juntos, por me apoiarem em todas as minhas decisões sempre e por toda felicidade que me permitem sentir ao fazerem parte da minha vida. Amo vocês!*

*A Universidade Estadual do Oeste do Paraná e ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca, pela oportunidade de realização do Doutorado.*

*Ao meu estimado orientador e amigo Altevir, obrigada pela orientação, amizade, paciência, conhecimento e por me enxergar como profissional em todos os momentos. Foi um imenso prazer trabalhar com o senhor.*

*Aos meus queridos professores e amigos Fábio Bittencourt e Wilson Boscolo pelas orientações junto ao meu orientador, bem como pelas experiências compartilhadas, paciência e amizade, obrigada!*

*Aos queridos amigos e parceiros de pesquisa Mari e Jhonis obrigada por participarem de todas as etapas desse estudo, também aos professores Fábio Bittencourt, Wilson Boscolo e Altevir Signor, pelo apoio prático e financeiro, sem vocês essa conquista não seria possível. Também a empresa Copacol pela doação das tilápias.*

*Aos meus amados amigos que sempre estiveram na torcida por mim e que indiretamente e diretamente estiveram envolvidos nessa conquista, Mateus, Juliana N., Mariana, Raissa e Danielle, obrigada por estarem juntos comigo em todas as minhas decisões e me apoiarem em todas as minhas caminhadas, vocês são a prova de que para estar junto, não é preciso estar perto. Amo vocês!*

*Aos meus queridos amigos que a pós-graduação e a vida me proporcionou, Kattia, Lara, Jakeline, Jhonis, Juliana A., Gláucia, Luiz Fernando, Micheli, Diego, Marcelo, Guilherme e Delcio, obrigada por fazerem meus dias mais felizes, foi uma grande satisfação conhece-los e será um grande prazer reencontra-los sempre.*

*Ao GEMAg e aos professores Aldi Feiden, Wilson Boscolo, Altevir Signor e Fábio Bittencourt, obrigada pela acolha, amizade e parceria durante os experimentos, reuniões profissionais e/ou pessoais. Aprendi muito com vocês, fiz grandes amigos, e sou muito feliz e grata por fazer parte desse grupo.*

*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 todos, muito Obrigada!*

Tese 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>

## LISTA DE TABELAS

### CAPITULO I

<b>Tabela 1</b> - Composição percentual e química das dietas experimentais.....	18
<b>Tabela 2</b> - Desempenho zootécnico de tilápias suplementadas com diferentes níveis de inclusão de L-Carnitina.....	24
<b>Tabela 3</b> - Índices hepatossomático (IHS), gordura-víscero-somática (IGVS), taxa de retenção proteica (TRP) e taxa de retenção energética (TRE) de tilápias alimentadas com diferentes níveis de L-Carnitina.....	25
<b>Tabela 4</b> - Composição centesimal de filés de tilápias alimentadas com diferentes níveis de L-Carnitina.....	25
<b>Tabela 5</b> - Histomorfometria do intestino, altura e largura dos vilos, e espessura da túnica de tilápias suplementadas com diferentes níveis de L-Carnitina.....	26
<b>Tabela 6</b> - Frequência do menor e maior diâmetro das fibras musculares de tilápias suplementadas com diferentes níveis de L-Carnitina.....	26
<b>Tabela 7</b> - Variáveis Eritrocitárias de tilápia suplementadas com diferentes níveis de L-Carnitina.....	27
<b>Tabela 8</b> - Parâmetros Bioquímicos de tilápias suplementadas com diferentes níveis de L-Carnitina.....	27
<b>Tabela 9</b> - Concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), Catalase (CAT) e glutatona S-transferase (GST) no fígado de tilápias suplementadas com diferentes níveis de L-carnitina.....	28

### CAPITULO II

<b>Tabela 1</b> - Composição percentual e química das dietas experimentais.....	51
<b>Tabela 2</b> - Desempenho zootécnico de tilápias suplementadas com diferentes níveis de Betaína.....	56
<b>Tabela 3</b> - Índices hepatossomático (IHS), gordura-víscero-somática (IGVS), taxa de retenção proteica (TRP) e taxa de retenção energética (TER) de tilápias alimentadas com diferentes níveis de Betaína.....	57
<b>Tabela 4</b> - Composição centesimal de filés de tilápias alimentadas com diferentes níveis Betaína.....	57
<b>Tabela 5</b> - Histomorfometria do intestino, altura e largura dos vilos, e espessura da túnica de tilápias alimentadas com diferentes níveis de Betaína.....	58
<b>Tabela 6</b> - Frequência do menor e maior diâmetro das fibras musculares de tilápias suplementadas com diferentes níveis de Betaína.....	58
<b>Tabela 7</b> - Variáveis Eritrocitárias de tilápia suplementadas com diferentes níveis de Betaína.....	59
<b>Tabela 8</b> - Parâmetros Bioquímicos de tilápias suplementadas com diferentes níveis de Betaína.....	59
<b>Tabela 9</b> - Concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), Catalase (CAT) e glutatona S-transferase (GST) no fígado de tilápias suplementadas com diferentes níveis de Betaína.....	60



## LISTA DE FIGURAS

### CAPITULO I

Figura 1 - Secção transversal de músculo esquelético branco de tilápias, com padrão normal de crescimento de fibras musculares com diâmetros maiores e menores (padrão de crescimento em mosaico). .....	21
Figura 2 – Intestino de tilápia com indicações das medidas realizadas. Altura do viló (A), Largura do viló (B) e Espessura da túnica (C).....	22

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO I .....</b>	<b>12</b>
Suplementação de L-carnitina para tilápias do Nilo.....	12
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>16</b>
2.1. Delineamento e procedimento experimental .....	16
2.2. Dietas experimentais.....	17
2.3. Qualidade d'água .....	17
2.4. Procedimentos analíticos .....	18
2.5. Desempenho zootécnico .....	19
2.6. Análise morfológica.....	19
2.7. Composição química dos filés e das rações experimentais .....	20
2.8. Análise histológica.....	20
2.9. Análise hematológica e bioquímica.....	22
2.10. Análise enzimática .....	23
2.11. Análise estatística.....	23
<b>3. RESULTADOS.....</b>	<b>24</b>
3.1. Desempenho zootécnico .....	24
3.2. Análise morfológica.....	24
3.3. Composição química dos filés .....	25
3.4. Análise histológica.....	25
3.5. Análise hematológica e bioquímica.....	26
3.6. Análise enzimática.....	27
<b>4. DISCUSSÃO.....</b>	<b>28</b>
4.1. Desempenho zootécnico .....	28
4.2. Análise morfológica.....	29
4.3. Composição química dos filés .....	30
4.4. Análise histológica.....	31
4.5. Análise hematológica e bioquímica.....	33
4.6. Análise enzimática.....	35
<b>5. CONCLUSÃO .....</b>	<b>37</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>38</b>
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>45</b>
Comportamento produtivo e metabólico de tilápias do nilo suplementadas com Betaína.....	45
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>48</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>49</b>
2.1. Delineamento e procedimento experimental .....	49
2.2. Dietas experimentais.....	50
2.3. Qualidade d'água .....	50
2.4. Procedimentos analíticos .....	51
2.5. Desempenho zootécnico .....	52
2.6. Análise morfológica.....	52
2.7. Composição química dos filés e das rações experimentais .....	53

2.8.	Análise histológica.....	53
2.9.	Análise hematológica e bioquímica.....	54
2.10.	Análise enzimática.....	55
2.11.	Análise estatística.....	55
<b>3.</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>56</b>
3.1.	Desempenho zootécnico.....	56
3.2.	Análise morfológica.....	56
3.3.	Composição química dos filés.....	57
3.4.	Análise histológica.....	57
3.5.	Análise hematológica e bioquímica.....	58
3.6.	Análise enzimática.....	59
<b>4.</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>60</b>
4.1.	Desempenho zootécnico.....	60
4.2.	Análise morfológica.....	61
4.3.	Composição química dos filés.....	61
4.4.	Análise histológica.....	62
4.5.	Análise hematológica e bioquímica.....	64
4.6.	Análise enzimática.....	65
<b>5.</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>67</b>
<b>6.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>68</b>
	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>74</b>
	<b>NORMAS DO BOLETIM DO INSTITUTO DE PESCA (23/08/2018).....</b>	<b>75</b>
	<b>INSTRUÇÃO AOS AUTORES.....</b>	<b>75</b>

## **CAPÍTULO I**

### **Suplementação de L-carnitina para tilápias do Nilo**

## Suplementação de L-carnitina para tilápias do Nilo

**Resumo:** Esse estudo teve por objetivo avaliar o desempenho produtivo, características morfológicas e centesimais, histologia do intestino, músculo e fígado, hematologia, bioquímica e atividade enzimática de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) suplementadas com L-carnitina. Para isso, foram utilizadas 144 tilápias com peso médio de  $27,76 \pm 1,31$ g, distribuídas ao acaso em três tratamentos, constituídos por três níveis de L-carnitina (500, 1000 e 2000 mg Kg<sup>-1</sup> de ração) e um grupo controle. Os peixes foram distribuídos em 12 tanques de 0,45m<sup>3</sup>, adaptados à um sistema de recirculação, com temperatura controlada e aeração constante. As dietas experimentais foram calculadas para serem isoenergéticas (3200 kcal kg<sup>-1</sup> ED) e isoprotéicas (28% PD). Durante o período experimental de 105 dias os peixes foram alimentados quatro vezes ao dia e, ao final do experimento tiveram suas variáveis de desempenho: ganho em peso (GP), ganho em peso diário (GPD), conversão alimentar aparente (CAA), taxa de crescimento específico (TCE), taxa de eficiência proteica (TEP), taxa de retenção proteica (TRP), taxa de retenção energética (TRE), rendimento de filé (RF) e sobrevivência (SO). Morfológicas: índices hepatossomático (IHS) e índice de gordura víscero-somática (IGVS). Centesimais: umidade, proteína, lipídios e cinzas. Histológicas: intestino, músculo e fígado. Hematológicas, bioquímicas e enzimáticas. Aplicou-se ANOVA para se avaliar o melhor nível de inclusão dos micronutrientes e quando significativas, as médias foram comparados pelo teste de Tukey (P<0,05). Peixes suplementados com 500 mg Kg<sup>-1</sup> de L-carnitina apresentaram aumento do GP, GPD, TCE, RF e menor custo da ração por quilo de peixe produzido, além disso, também apresentou aumento do IHS, IGHS, lipídios do filé, triglicerídeos, número de hepatócitos e maior atividade da enzima catalase (CAT). Todos os níveis de suplementação reduziram as microvilosidades dos peixes, porém não afetaram o número de fibras musculares. Assim, conclui-se que a suplementação de L-carnitina 500 mg Kg<sup>-1</sup> de ração L-carnitina melhora o desempenho e as funções metabólicas de tilápias.

**Palavras-chave:** histologia; *Oreochromis niloticus*; catalase; rendimento de filé

## Supplementation of L-carnitine in diets for Nile tilapia

**Abstract:** The objective of this study was to evaluate the productive, morphological and chemical composition, histology of the intestine, muscle and liver, hematology, biochemistry and enzymatic activity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) supplemented with L-carnitine. For this purpose, 144 tilapia with a mean weight of  $27.76 \pm 1.31$ g were randomly distributed in three treatments, consisting of three levels of L-carnitine (500, 1000 and 2000 mg Kg<sup>-1</sup> of feed) and control group. The fish distributed in 12 tanks of 0.45m<sup>3</sup>, adapted to a recirculation system, with controlled temperature and constant aeration. Experimental diets calculated to be isoenergetic (3200 kcal kg<sup>-1</sup> ED) and isoproteic (28% PD). During the experimental period of 105 days the fish were fed four times a day and at the end of the experiment had their performance variables: weight gain (GP), daily weight gain (GPD), apparent feed conversion (CAA), rate (TEP), protein retention rate (TRE), protein retention rate (TRE), fillet (RF) yield and survival (SO). Morphological: hepatosomatic index (IHS) and fat somatic index (IGVS). Centesimal: moisture, protein, lipids and ashes. Histological: intestine, muscle and liver. Hematological, biochemical and enzymatic. ANOVA was applied to evaluate the best level of micronutrients inclusion and, when significant, the means were submitted to the Tukey test (P<0.05). Fish supplemented with 500 mg Kg<sup>-1</sup> of L-carnitine presented increase of GP, GPD, TCE, RF and lower feed cost per kilogram of fish produced. In addition, fish also increased IHS, IGHS, fillet lipids, triglycerides, number of hepatocytes and greater activity of the enzyme catalase (CAT). Supplementation levels reduced fish microvilli, but did not affect the number of muscle fibers. Thus, it was determined that the supplementation of L-carnitine in proportions of 500 mg kg<sup>-1</sup> of ration improves the performance and metabolic functions of tilapia.

**Keywords:** histology; *Oreochromis niloticus*; catalase; fillet yield

## 1. INTRODUÇÃO

No Brasil, a tilápia tornou-se a espécie aquícola mais produzida, principalmente por se adaptar as diferentes condições ambientais (IBGE, 2016) sem renunciar seu desenvolvimento e por apresentar facilidade de criação, processamento, e aceitabilidade, quando comparada a outras espécies. Além disso, a espécie não apresenta espinhas em Y e é de fácil filetagem (Boscolo *et al.*, 2001; Souza, 2002) o que permite maior aproveitamento de sua carne pela indústria e maior aceitabilidade pelo mercado consumidor, fator condicionante para que a espécie ganhe cada vez mais espaço no mercado interno e externo.

Porém, essa intensificação promissora da atividade só será possível com o aumento da produtividade, o que implica no desenvolvimento tecnológico da cadeia produtiva, exigindo avanços em relação à nutrição, melhoramento genético, biosseguridade, sanidade e manejo. Dentre essas, a nutrição desempenha importante papel quando a finalidade é alcançar o aumento da produtividade com custos reduzidos, sem deixar que o produto perca seus atributos para comercialização.

A eficiência da produção depende principalmente do alimento fornecido aos animais, por meio dele e do manejo, os animais serão capazes de expressar seu potencial produtivo. Assim, para melhorar o aproveitamento dos aminoácidos da dieta, muitos estudos vêm sendo realizados com o uso de fontes energéticas, considerando principalmente a relação lipídeo : proteína, de modo a maximizar a utilização dos lipídios e conseqüentemente poupar proteína (Li *et al.*, 2013; Sousa *et al.*, 2013). Entretanto, o uso desse método é limitado, pois a ingestão de lipídeos em excesso pode levar a redução do consumo da dieta e afetar o crescimento dos peixes (Haji-Abadi *et al.*, 2010).

Com isso, o uso de aditivos alimentares tem sido uma alternativa, pois atuam como promotores de crescimento, capazes de influenciar a eficiência do uso dos nutrientes dietéticos para peixes (NRC, 2011) proporcionando maior aproveitamento dos nutrientes e poupando proteína (Godoi *et al.*, 2008). Porém, a incorporação dessas substâncias nas dietas comerciais ainda é um entrave, pois sua inclusão antes do processo de extrusão pode acarretar na inativação dos mesmos.

No entanto, algumas substâncias como, coenzima Q10, ácidos orgânicos, colina, taurina, L-carnitina e betaína vem sendo incluídas nas dietas com intuito de melhorar o aproveitamento dos nutrientes (Prates e Mateus, 2002; Freitas *et al.*, 2016),

sem que sejam verificadas inativação após passar pelo processo de extrusão. Sendo assim, a inclusão dos nutrientes orgânicos em dietas, como a L-carnitina, podem ser considerados pela fácil manipulação e inclusão, além da alta solubilidade em água e estabilidade a altas temperaturas apresentadas por este micronutriente (Holmstrom *et al.*, 2000).

A L-carnitina (ácido 3-hidroxi-4-N–trimetil-amino-butírico) é uma amina quaternária que desempenha uma função indispensável no metabolismo dos ácidos graxos, atuando principalmente no transporte de ácidos graxos para dentro da mitocôndria, onde serão oxidados a adenosina trifosfato (ATP) no processo de  $\beta$ -oxidação (Wray Cahen *et al.*, 2004). E, de forma secundária prevenindo o acúmulo de acil-CoA no interior da mitocôndria, que ocorre quando o percentual de formação de acetil-CoA excede a taxa de reciclagem da CoA reduzida pelo ciclo de Krebs (Poorthuis *et al.*, 1993; Bertolini, 2004).

Dessa forma, objetivou-se avaliar a produtividade, fisiologia, morfologia, hematologia, bioquímica e atividade enzimática de tilápias alimentadas com dietas suplementadas com diferentes níveis de L-carnitina.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Delineamento e procedimento experimental**

Adotou-se delineamento inteiramente casualizado com três níveis de inclusão de L-carnitina (500, 1000 e 2000 mg Kg<sup>-1</sup> de ração) e um grupo controle. Foram utilizadas 160 tilápias (masculinizadas) com peso médio de 27,76 ± 1,31g, sendo 16 delas utilizadas na coleta de amostras iniciais para determinação da composição centesimal e posterior cálculos de retenção. As demais, 144, foram distribuídas aleatoriamente em 12 tanques com capacidade útil de 0,45 m<sup>3</sup>, adaptados a um sistema de recirculação de água, com temperatura controlada e aeração constante, totalizando quatro tratamentos com três repetições, sendo cada unidade experimental composta por 12 peixes.

Durante 105 dias de experimento, os peixes receberam as dietas experimentais quatro vezes ao dia, 8:00, 11:00, 14,00 e 17:00 horas, sendo os primeiros cinco dias destinados à adaptação dos peixes as dietas.



## 2.2. Dietas experimentais

As dietas experimentais utilizadas no experimento foram formuladas a partir de alimentos de origem vegetal e animal, as mesmas apresentaram-se isoenergéticas (3200 kcal kg<sup>-1</sup> de ED) e isoprotéicas (28% PD) as quais foram suplementadas com diferentes níveis de inclusão de L-carnitina em mg Kg<sup>-1</sup> de ração (Tabela 1).

O custo por quilo de peixe produzido (R\$ kg<sup>-1</sup> de ganho de peso) foi estimado pelo custo dos ingredientes da ração formulada, multiplicado pela conversão alimentar. Os valores dos ingredientes foram obtidos em consulta aos fabricantes de rações do Estado do Paraná, com base nos preços vigentes em setembro de 2018.

## 2.3. Qualidade d'água

Durante o estudo, foram aferidos os parâmetros de qualidade de água como: temperatura ( $27,36 \pm 0,92$  °C) por meio de termómetro digital, oxigênio dissolvido ( $7,94 \pm 0,82$  mg L<sup>-1</sup>), pH ( $7,5 \pm 0,50$ ) e condutividade elétrica ( $80,22 \pm 0,71$  µS cm<sup>-1</sup>) com multiparâmetro portátil (YSI 556). Os teores de amônia e nitrito foram aferidos com kits colorimétricos (LabconTest), porém não ultrapassaram 0ppm. De acordo com KUBITZA (2000) as variáveis aferidas estão de acordo com a faixa de conforto da espécie.

**Tabela 1** - Composição percentual e química das dietas experimentais.

Ingredientes	Níveis de inclusão mg kg <sup>-1</sup>			
	Controle		L-Carnitina	
	0-0	500-0	1000-0	2000-0
Farelo de Soja	44,74	44,72	44,70	44,65
Milho Grão	21,93	21,92	21,91	21,89
Farelo de Trigo	20,00	19,99	19,98	19,96
Farinha de Peixe (Tilápia)	5,00	5,00	5,00	4,99
Farinha de Vísceras (Aves)	5,00	5,00	5,00	4,99
Óleo de Soja	1,29	1,29	1,29	1,29
Calcário	1,21	1,21	1,21	1,21
Premix vitamínico e mineral <sup>1</sup>	0,50	0,50	0,50	0,50
Cloreto de Sódio (NaCl)	0,30	0,30	0,30	0,30
Butil-hidroxi-Tolueno	0,02	0,02	0,02	0,02
Propionato de Cálcio	0,01	0,01	0,01	0,01
L-Carnitina	0,00	0,05	0,10	0,20
Betaína	0,00	0,00	0,00	0,00
TOTAL	100	100,00	100,00	100,00
Custo da formulação (R\$/Kg)	1,24	1,32	1,40	1,56
Composição Calculada				
Proteína Digestível (%)	28	28	28	28
Energia Digestível Kcal.Kg <sup>-1</sup>	3200	3200	3200	3200
Composição Determinada (%)				
Proteína Bruta	33,35	33,80	34,82	33,80
Energia Bruta Kcal.Kg <sup>-1</sup>	4255	4205	4230	4292
Fibra Bruta	7,27	6,42	7,25	5,28
Matéria Mineral	9,88	8,44	8,93	8,70

<sup>1</sup> Níveis 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. <sup>1</sup> Níveis 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.

#### 2.4. Procedimentos analíticos

Após o período experimental foram adotados os procedimentos analíticos, dos quais, para as análises morfológicas, químicas, histológicas, eritrocitárias e bioquímicas três peixes de cada repetição foram avaliados. A colheita do material biológico utilizados nessas análises procedeu de acordo com o pico de concentração metabólica sanguínea apresentada pela tilápia do Nilo. Assim, no dia da finalização do experimento os peixes foram alimentados de forma esquemática, respeitando o tempo

metabólico de três horas para essa espécie (Figueiredo-Silva *et al.*, 2003), então, após esse período os peixes foram destinados para colheita do material biológico.

Para isso, os peixes foram anestesiados com benzocaína a 100 mg.L<sup>-1</sup>, tiveram seu peso mensurado e seu sangue colhido para avaliação hematológica e bioquímica. Posteriormente sofreram super dosagem anestésica com benzocaína a 200 mg.L<sup>-1</sup>, seguida de secção medular, e tiveram seus tecidos (fígado, gordura, intestino médio e músculo) colhidos e armazenados para quantificação dos índices somáticos e histologia dos demais tecidos. Esses peixes, também tiveram os filés retirados para determinação da composição centesimal e rendimento de filé.

Posteriormente mais três peixes por repetição sofreram secção medular, e tiveram seus tecidos hepáticos colhidos e armazenados em nitrogênio líquido para determinação da concentração das enzimas do estresse oxidativo. Para a determinação das variáveis produtivas todos os peixes foram ponderados.

## 2.5. Desempenho zootécnico

A partir da quantificação das dietas consumidas e peso final dos peixes foram calculadas as variáveis produtivas de ganho em peso (GP (g) = peso final (g) - peso inicial (g)); ganho em peso diário (GPD (g) = ganho em peso (g) / dias de experimento); conversão alimentar aparente (CAA = alimento fornecido (g) / ganho em peso (g)); taxa de crescimento específico (TCE (%) = 100 x [(ln peso final (g) - ln peso inicial (g)) / período experimental]); taxa de eficiência proteica (TEP (%) = 100 x (ganho de peso (g) / proteína bruta consumida (g)); Rendimento de filé (RF (%) = (peso do filé/peso dos animal) x 100 e; sobrevivência.

## 2.6. Análise morfológica

Os índices somáticos foram determinados a partir do peso do peixe, do fígado e dos tecidos adiposos, os cálculos utilizados foram: índices hepatossomático (IHS (%) = 100 x [peso do tecido hepático (g) / peso corporal (g) ]) e índice de gordura-víscero-somático (IGVS (%) = 100 x [peso da gordura visceral (g) / peso corporal (g)]).

A partir da determinação dos valores de proteína e energia bruta determinados por meio da composição química dos filés, foram calculados a Taxa de Retenção Proteica (%) (TRP) = 100 x [(Pf x PBCf) - (Pi x PBCi)] / PB ingerida e Taxa de Retenção

Energética (%) (TER) =  $100 \times [(Pf \times EBCf) - (Pi \times EBCi)] / EB$  ingerida, em em que: Pf = peso final; Pi = peso inicial; PBCf = proteína corporal final; PBCi = proteína corporal inicial; EBCi = energia corporal inicial; EBCf = energia corporal final.

## 2.7. Composição química dos filés e das rações experimentais

A composição centesimal dos filés foi determinada a partir do filé pré-seco em estufa a 55 °C por 72 horas e triturados em moinho. Posteriormente, realizou-se análise da umidade por meio da secagem em estufa a 105°C por 8 horas. O conteúdo de cinzas foi determinado 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 (AOAC, 2005). Os mesmos procedimentos foram adotados para a determinação da composição química das rações experimentais.

## 2.8. Análise histológica

Com auxílio de uma lâmina retirou-se as amostras de músculo branco do lado esquerdo dos peixes, acima da linha lateral. Essas, acondicionadas em solução de ALFAC por 24 horas e, posteriormente, preservadas em álcool 70% até o momento da realização das análises. Para isso, as amostras foram desidratadas em concentrações crescentes de álcoois, diafanizadas em xilol, embebidas em parafina histológica e após emblocadas, cortadas com auxílio de um micrótomo (Thermo Scientific - Microm HM 340E).

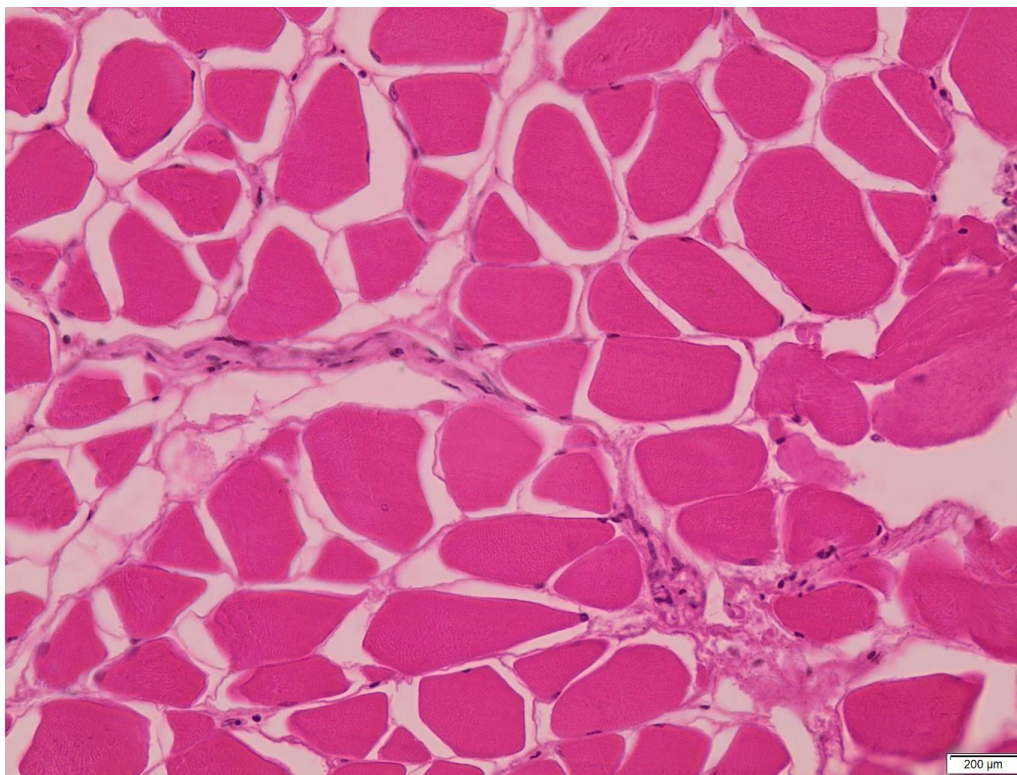
Para o preparo das amostras de músculo, foram realizados cortes de 7µm de espessura, corados pelo método de Hematoxilina-Eosina (HE) descrito por Behmer et al. (1976) e, posteriormente verificado o menor diâmetro de pelo menos 200 fibras de cada peixe, totalizando 2.000 fibras medidas para cada tratamento, as quais foram classificadas em três classe de acordo com sua morfometria e mensuração do menor diâmetro: menor que 20µm; 20,01 a 50µm e, maiores que 50µm (Figura 1).

A foto documentação 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. As mensurações foram realizadas com o auxílio do software de imagens computadorizado CellSens Standard 1.15®

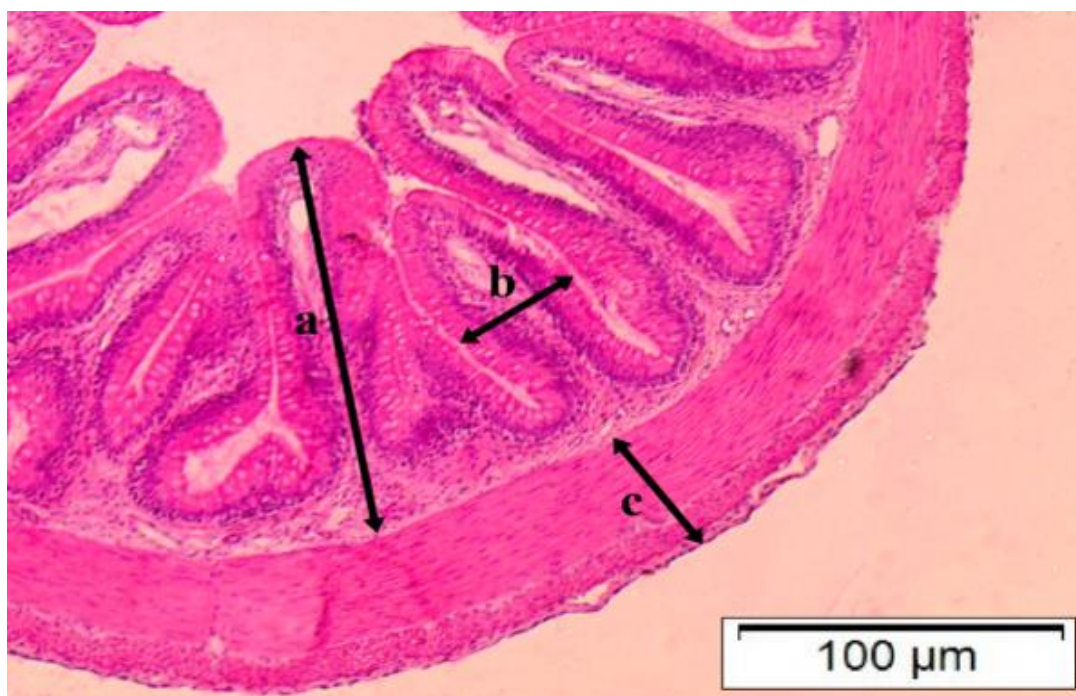
Para a análise histológica intestinal, foram colhidos porções de aproximadamente 5 cm de comprimento do intestino medial. As amostras foram colocadas em placa de isopor, abertas longitudinalmente, lavadas em solução salina, fixadas em solução de formol 10% por 12 horas. Para obtenção de cortes histológicos as amostras foram desidratadas em séries ascendentes de álcool, diafanizadas em xilol, e embebidas em parafina. Foram realizados cortes de 7 $\mu$ m de espessura, corados pelo método de Hematoxilina-Eosina (HE).

A foto documentação foi realizada em fotomicroscópio em objetiva de 20X, com o auxílio do software de imagens computadorizado CellSens Standard 1.15®. A morfometria da mucosa intestinal foi realizada em 10 vilos por animal, perfazendo um total de 90 medidas ( $\mu$ m) por tratamento, onde foi mensurada à altura do vilos, largura do vilos e espessura da túnica (Figura 2).

Para quantificação de hepatócitos do fígado, os mesmos foram cortados em secções de 5 $\mu$ m e fixados em lâmina, coradas por técnica de hematoxilina-eosina (HE). O número de hepatócitos foi quantificado por meio de dois cortes de cada fígado, totalizando 144 mensurações.



**Figura 1** - Secção transversal de músculo esquelético branco de tilápias, com padrão normal de crescimento de fibras musculares com diâmetros maiores e menores (padrão de crescimento em mosaico).



**Figura 2** - Intestino de tilápia com indicações das medidas realizadas. Altura do vilão (A), Largura do vilão (B) e Espessura da túnica (C).

### 2.9. Análise hematológica e bioquímica

As variáveis hematológicas compostas somente pela série vermelha dos peixes foram analisadas a partir da colheita sanguínea. O sangue foi colhido por punção da veia caudal, por meio de seringas e agulhas banhadas em EDTA a 3%. A contagem do número de eritrócitos foi realizada por meio de câmara Neubauer, utilizando-se líquido de Hayen, na proporção de 1:200. A taxa de hemoglobina foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Collier (1944) e o percentual de hematócrito seguindo a metodologia de Goldenfarb *et al.* (1971). E, com base nos resultados obtidos, foram calculados os índices hematimétricos: volume corpuscular médio [VCM = (Hematócrito x 10) / eritrócitos] e concentração de hemoglobina corpuscular média [CHCM = (Taxa de hemoglobina x hematócrito) x 100], conforme Wintrobe (1934).

Para a determinação dos parâmetros bioquímicos os peixes tiveram o sangue colhido por punção da veia caudal com seringas ausentes de anticoagulante. Posteriormente, as amostras de sangue foram centrifugadas a 2500 rpm por 5 minutos e, a partir do soro foram determinadas a concentração de glicose (mg dL<sup>-1</sup>), colesterol total (mg dL<sup>-1</sup>), triglicerídeos (mg dL<sup>-1</sup>) e proteína plasmática total (g dL<sup>-1</sup>) por meio de

“kits” específicos “Gold Analisa Diagnóstica®”, procedidos conforme as instruções do fabricante, sendo a leitura processada em espectrofotômetro.

#### 2.10. Análise enzimática

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 9mL 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 $\mu$ L de PMSF.

A determinação do TBARS foi realizada conforme Buege e Aust (1978), e os resultados foram expressos em nmol MDA.mg<sup>-1</sup> proteína. A avaliação da atividade da catalase (CAT) foi determinada de acordo com Nelson *et al.* (1982), em um comprimento de onda de 240nm, e os resultados foram expressos em  $\mu$ mol/mg proteína/min. 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 412nm e a atividade foi expressa em  $\mu$ moles.mg<sup>-1</sup> proteína.

#### 2.11. Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos aos testes de normalidade e homocedasticidade e quando constatada distribuição normal, as médias obtidas para cada micronutriente foram avaliadas por meio de ANOVA, a 5% de significância com auxílio do software Statistica 7.0® (Statsoft, 2004). E, as médias quando significativas foram comparadas pelo teste de médias de tukey (P<0,05), com o auxílio do software Statistica 7.0® (Statsoft, 2004). Os resultados são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão para variáveis.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Desempenho zootécnico

Pode-se observar que os diferentes níveis de suplementação de L-carnitina aumentaram ( $P<0,05$ ) o GP, GPD e TCE dos peixes, exceto o nível de 2000 mg Kg<sup>-1</sup> de inclusão que apresentou similaridade aos peixes do grupo controle (Tabela 2). Além disso, constatou-se a redução da CAA dos peixes suplementados com os diferentes níveis de L-carnitina, porém, maior redução ( $P<0,05$ ) foi evidenciada em peixes submetidos ao nível de inclusão de 500 mg Kg<sup>-1</sup> quando comparados aos animais do grupo controle, os demais níveis de suplementação não diferiram entre si. O RF demonstrou-se superior em peixes suplementados com 500 e 2000 mg Kg<sup>-1</sup> de L-carnitina, no entanto, não diferiu do tratamento controle. Os níveis de inclusão de L-carnitina não alteraram ( $P>0,05$ ) a TEP e a SOB dos peixes.

**Tabela 2** - Desempenho zootécnico de tilápias suplementadas com diferentes níveis de inclusão de L-Carnitina.

Variáveis	L-Carnitina mg Kg <sup>-1</sup> de ração				P-valor
	0	500	1000	2000	
GP <sup>1</sup>	208,45±5,75 <sup>B</sup>	242,99±6,75 <sup>A</sup>	242,65±6,25 <sup>A</sup>	214,74±4,65 <sup>B</sup>	<0,05
GPD <sup>2</sup>	1,99±0,05 <sup>B</sup>	2,31±0,06 <sup>A</sup>	2,31±0,05 <sup>A</sup>	2,06±0,04 <sup>B</sup>	<0,05
CAA <sup>3</sup>	1,25±0,06 <sup>B</sup>	1,07±0,02 <sup>A</sup>	1,13±0,05 <sup>AB</sup>	1,11±0,07 <sup>AB</sup>	<sup>8</sup> ns
TCE <sup>4</sup>	2,04±0,01 <sup>B</sup>	2,18±0,05 <sup>A</sup>	2,19±0,02 <sup>A</sup>	2,04±0,02 <sup>B</sup>	<0,01
TEP <sup>5</sup>	2,60±0,13	3,03±0,06	2,87±0,12	2,94±0,19	ns
RF <sup>6</sup>	31,97±0,80 <sup>AB</sup>	33,02±0,41 <sup>A</sup>	30,21±0,53 <sup>B</sup>	32,50±0,43 <sup>A</sup>	<0,05
SOB <sup>7</sup>	97,22±3,70	97,22±3,70	91,67±0,00	94,44±7,40	ns

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão; <sup>1</sup>Ganho em Peso; <sup>2</sup>Ganho em Peso Médio Diário; <sup>3</sup>Conversão Alimentar Aparente; <sup>4</sup>Taxa de Crescimento Específico; <sup>5</sup>Taxa de Eficiência Proteica; <sup>6</sup>Rendimento de Filé; <sup>7</sup>Sobrevivência; Letras diferentes na mesma linha apresentam diferença estatística entre os níveis de suplementação ( $P<0,05$ ); <sup>8</sup>Não Significativo ( $P>0,05$ ).

#### 3.2. Análise morfológica

Verificou-se o incremento ( $P<0,05$ ) do IGVS de peixes suplementados com 500 mg kg<sup>-1</sup> e 2000 mg.kg<sup>-1</sup> de ração de L-carnitina. Para todos os níveis de suplementação os peixes apresentaram aumento da massa hepática ( $P<0,05$ ), porém a suplementação de 2000 mg kg<sup>-1</sup> não diferiu do controle ( $P>0,05$ ). A TRE também foi maior ( $P<0,05$ ) para peixes alimentados com 500 mg kg<sup>-1</sup> de L-carnitina, a partir desse nível foi evidenciada a redução da TRE (Tabela 3).



**Tabela 3** - Índices hepatossomático (IHS), gordura-víscero-somática (IGVS), taxa de retenção proteica (TRP) e taxa de retenção energética (TRE) de tilápias alimentadas com diferentes níveis de L-Carnitina.

Variáveis	L-Carnitina mg Kg <sup>-1</sup> de ração				P-valor
	0	500	1000	2000	
IGVS <sup>1</sup>	1,68±0,22 <sup>AB</sup>	2,03±0,37 <sup>CD</sup>	1,10±0,23 <sup>A</sup>	2,65±0,69 <sup>D</sup>	<0,01
IHS <sup>2</sup>	1,38±0,21 <sup>A</sup>	1,90±0,47 <sup>B</sup>	1,80±0,46 <sup>B</sup>	1,42±0,63 <sup>AB</sup>	<0,01
TRP <sup>3</sup>	30,67±0,45	22,74±6,26	23,48±3,94	20,97±3,23	<sup>5</sup> ns
TRE <sup>4</sup>	7,45±0,01 <sup>B</sup>	7,80±0,01 <sup>A</sup>	6,77±0,01 <sup>C</sup>	6,48±0,01 <sup>D</sup>	<0,01

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão; <sup>1</sup>Índice gordura-víscero-somática; <sup>2</sup>Índice hepatossomático; <sup>3</sup>Taxa de Retenção Proteica; <sup>4</sup>Taxa de retenção energética; Letras diferentes na mesma linha apresentam diferença estatística entre os níveis de suplementação (P<0,05); <sup>5</sup>Não Significativo (P>0,05);

### 3.3. Composição química dos filés

A partir do nível de suplementação de 1000 mg kg<sup>-1</sup> de L-carnitina houve a redução (P<0,05) do nível de lipídios no filé dos peixes, porém o nível de 2000 mg kg<sup>-1</sup> de suplementação não diferiu (P>0,05) dos demais (Tabela 4).

**Tabela 4** - Composição centesimal de filés de tilápias alimentadas com diferentes níveis de L-Carnitina.

Variáveis	L-Carnitina mg Kg <sup>-1</sup> de ração				P-valor
	0	500	1000	2000	
Umidade	79,21±0,52	78,85±0,09	79,34±0,46	79,70±0,68	<sup>1</sup> ns
Proteína	19,29±0,83	19,66±0,67	19,37±0,67	19,03±0,41	ns
Lipídio	1,68±0,28 <sup>B</sup>	1,89±0,14 <sup>B</sup>	1,13±0,08 <sup>A</sup>	1,44±0,09 <sup>AB</sup>	<0,05
Cinzas	1,28±0,57	2,53±4,22	1,48±0,78	1,20±0,72	ns

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha apresentam diferença estatística entre os níveis de suplementação (P<0,05); <sup>1</sup>Não Significativo (P>0,05);

### 3.4. Análise histológica

Observou-se que peixes alimentados com dietas suplementadas com L-carnitina tiveram seus vilos reduzidos (P<0,05), pois apresentaram redução da altura, largura e espessura dos vilos (Tabela 5).

**Tabela 5** - Histomorfometria do intestino, altura e largura dos vilos, e espessura da túnica de tilápias suplementadas com diferentes níveis de L-Carnitina.

Variáveis	L-Carnitina mg Kg <sup>-1</sup> de ração				P-valor
	0	500	1000	2000	
Altura dos Vilos (µm)	358,68±71,17 <sup>A</sup>	213,33±62,91 <sup>B</sup>	172,89±42,67 <sup>B</sup>	176,48±20,01 <sup>B</sup>	<0,01
Largura dos Vilos (µm)	214,16±61,15 <sup>A</sup>	69,71±17,50 <sup>C</sup>	124,41±26,71 <sup>B</sup>	109,36±28,14 <sup>B</sup>	<0,01
Espessura da Túnica (µm)	70,14±12,20 <sup>A</sup>	44,72±12,02 <sup>B</sup>	17,81±04,78 <sup>C</sup>	24,97±05,50 <sup>C</sup>	<0,01

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão; Letras diferentes na mesma linha apresentam diferença estatística entre os níveis de suplementação (P<0,05);

A frequência do menor e maior diâmetro das fibras musculares não foi influenciada pelos diferentes níveis de L-carnitina suplementados nas dietas de tilápias (Tabela 6). Para o número de hepatócitos observados no fígado dos peixes, evidenciou-se que peixes suplementados com 1000 mg kg<sup>-1</sup> de L-carnitina, apresentam redução (P<0,05) do número de hepatócitos, enquanto que, peixes suplementados com 500 e 2000 mg kg<sup>-1</sup> apresentam aumento (P<0,05) dessas células, porém o nível de 500 mg kg<sup>-1</sup> não difere do grupo controle (P>0,05) (Tabela 6).

**Tabela 6** - Frequência do menor e maior diâmetro das fibras musculares de tilápias suplementadas com diferentes níveis de L-Carnitina.

Variáveis (%)	L-Carnitina mg Kg <sup>-1</sup> de ração				P-valor
	0	500	1000	2000	
<20µm	0,07±0,24	0,17±0,22	0,19±0,23	0,11±0,17	<sup>1</sup> ns
20 - 50µm	10,43±2,49	9,08±4,75	7,88±3,13	7,83±4,04	ns
>50µm	89,50±2,57	90,75±4,9	92,06±3,31	92,06±4,05	ns
Hepatócitos (n°)	256,67±08,89 <sup>B</sup>	280,00±02,00 <sup>AB</sup>	193,67±12,44 <sup>C</sup>	299,33±06,89 <sup>A</sup>	<0,01

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão; Letras diferentes na mesma linha apresentam diferença estatística entre os níveis de suplementação (P<0,05); <sup>1</sup>Não Significativo (P>0,05);

### 3.5. Análise hematológica e bioquímica

As variáveis eritrocitárias observadas, número de eritrócitos, percentagem de hematócrito, concentração de hemoglobina, volume corpuscular médio e concentração de hemoglobina corpuscular média, não foram diferentes (P>0,05) em peixes suplementados com diferentes níveis de L-carnitina (Tabela 7).

**Tabela 7** – Variáveis Eritrocitárias de tilápia suplementadas com diferentes níveis de L-Carnitina.

L-Carnitina mg Kg <sup>-1</sup> de ração	Variáveis				
	Eritrócito (x10 <sup>6</sup> µL <sup>-1</sup> )	Hematócrito (%)	Hemoglobina (g dL <sup>-1</sup> )	<sup>1</sup> VCM (fL)	<sup>2</sup> CHCM (%)
0	2,17±0,13	40,89±5,46	8,44±0,72	18,84±1,95	4,87±0,53
500	2,15±0,10	38,29±6,61	8,49±1,42	18,70±3,78	4,95±6,61
1000	2,06±0,12	38,38±5,72	8,37±0,54	18,54±4,34	4,72±5,72
2000	2,09±0,16	35,78±4,20	8,13±0,64	17,29±2,21	4,40±4,20
P-valor	<sup>3</sup> ns	ns	ns	ns	ns

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão; <sup>1</sup>Volume Corpuscular Médio; <sup>2</sup>Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; <sup>3</sup>Não Significativo (P>0,05).

Os níveis de suplementação de L-carnitina aumentaram os níveis de triglicerídeos séricos dos peixes simultaneamente ao incremento do micronutriente, sendo este superior (P<0,05) para o nível de suplementação de 2000 mg kg<sup>-1</sup>. Níveis inferiores, não diferiram entre si e foram similares (P>0,05) ao grupo controle (Tabela 8). Quantidades dos demais elementos séricos, colesterol e proteínas totais não foram alteradas com a suplementação do micronutriente.

**Tabela 8** – Parâmetros Bioquímicos de tilápias suplementadas com diferentes níveis de L-Carnitina.

L-Carnitina mg Kg <sup>-1</sup> de ração	Variáveis			
	Glicose (mg dL <sup>-1</sup> )	Colesterol (mg dL <sup>-1</sup> )	Triglicerídeos (mg dL <sup>-1</sup> )	Proteínas Totais (g dL <sup>-1</sup> )
0	49,82±3,20	80,01±18,06	94,60±17,86 <sup>A</sup>	3,16±0,48
500	61,99±7,01	87,19±8,96	108,11±10,14 <sup>AB</sup>	2,99±0,24
1000	67,99±8,67	89,01±8,54	122,02±36,60 <sup>AB</sup>	2,58±0,14
2000	53,44±6,70	89,98±13,09	154,45±11,58 <sup>B</sup>	2,65±0,21
(P<0,05)	<sup>1</sup> ns	ns	<0,05	ns

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão; Letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença estatística entre os níveis de suplementação (P<0,05); <sup>1</sup>Não Significativo (P>0,05);

### 3.6. Análise enzimática

Observou-se, maior atividade catalítica da CAT em peixes suplementados com 500 e 2000 mg Kg<sup>-1</sup> de ração de L-carnitina (P<0,05). Para as TBARS e GST não houve diferença significativa (Tabela 9).

**Tabela 9** - Concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), Catalase (CAT) e glutatona S-transferase (GST) no fígado de tilápias suplementadas com diferentes níveis de L-carnitina.

Variáveis	L-Carnitina mg Kg <sup>-1</sup> de ração				P-valor
	0	500	1000	2000	
TBARS (η mol.mg <sup>-1</sup> .proteína)	2,46±0,44	2,40±0,72	1,60±0,47	2,28±1,32	<sup>1</sup> ns
CAT (μmol.mg <sup>-1</sup> .proteína.min <sup>-1</sup> )	0,28±0,06 <sup>B</sup>	0,60±0,18 <sup>A</sup>	0,54±0,05 <sup>A</sup>	0,66±0,11 <sup>A</sup>	<0,01
GST (μmol GS-DNB.min <sup>-1</sup> .mg proteína <sup>-1</sup> )	0,90±0,16	0,89±0,05	0,91±0,16	0,83±0,05	ns

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão; Letras diferentes na mesma linha apresentam diferença estatística entre os níveis de suplementação (P<0,05); <sup>1</sup>Não Significativo (P>0,05);

## 4. DISCUSSÃO

### 4.1. Desempenho zootécnico

Nesse estudo observou-se um efeito claro da L-carnitina como promotor de crescimento para tilápias. Houve uma tendência de crescimento à medida que se aumentou a suplementação desse micronutriente nas dietas, evidenciada pelo aumento do GP, GPD, TCE e redução da CAA. Peixes alimentados com 500 e 1000 mg Kg<sup>-1</sup> de L-carnitina apresentaram incremento no GP de 16,57% e 16,41%, respectivamente. Além disso, a CAA foi menor para todos os níveis de suplementação de L-carnitina, porém, somente os peixes suplementados com 500 mg Kg<sup>-1</sup> apresentaram menor CAA em relação aos peixes do grupo controle.

Na produção intensiva de tilápia, as variáveis determinantes para a finalização do ciclo produtivo da espécie é o GP e TCE, porque estão ligados à redução do tempo de cultivo. Ainda, a eficácia das dietas na conversão em peso é imprescindível para garantir a viabilidade da atividade (Nogueira, 2007). Por meio desse estudo, pode-se avaliar que além do nível de inclusão de 500 mg Kg<sup>-1</sup> de L-carnitina ter aumentado o GP em 16,57%, reduziu o custo da ração por quilo de ganho de peso em 9,03%, porque, mesmo apresentando maior valor agregado ao quilo da ração, esse nível de inclusão apresentou menor CAA pelos peixes.

Tanto o GP e a TCE superiores e a CAA inferior, podem ser decorrentes da capacidade da L-carnitina em atuar no transporte de ácidos graxos de cadeia longa

para dentro da mitocôndria, para serem oxidados a adenosina trifosfato (ATP) no processo de  $\beta$ -oxidação (Wray-Cahen *et al.*, 2004). Assim, acredita-se que a suplementação de L-carnitina nas concentrações de 500 e 1000 mg Kg<sup>-1</sup> de ração proporcionaram maior aproveitamento dos ácidos graxos presentes na dieta para concepção de energia (Lovell, 1989; Moyes e West, 1995).

Essa melhora na utilização de energia não proteica pode ter influenciado a retenção de proteína e reduzido às perdas nitrogenadas, poupando a degradação das proteínas e direcionando os aminoácidos para síntese muscular (Kaushik e Seilez, 2010; NRC, 2011). Já que, a L-carnitina é sintetizada a partir de dois aminoácidos essenciais, lisina e metionina, também, três vitaminas, ácido ascórbico, piridoxina e a niacina e íons de ferro (Fe<sup>2+</sup>) (Rebouche e Seim, 1998).

Então, sua suplementação na dieta pode ter direcionado a metionina e a lisina para síntese proteica, possibilitando uma economia da proteína e permitindo a incorporação desta na produção de tecido muscular (Corduk *et al.*, 2008; Yeste *et al.*, 2010), comportamento este evidenciado pelo RF, uma vez que a inclusão do micronutriente aumentou significativamente o RF dos peixes em 3,28% e 1,66% quando suplementados com 500 e 2000 mg Kg<sup>-1</sup> de L-carnitina, respectivamente. E, embora a TEP não tenha apresentado diferença significativa, apresentou uma tendência numérica de aumento principalmente para esses níveis de suplementação do nutriente, confirmando que houve um maior aproveitamento da proteína ingerida nessas dietas.

#### 4.2. Análise morfológica

Evidentemente, a inclusão de L-carnitina nas dietas aumentou o IGVS dos peixes quando alimentados com dietas contendo 500 e 2000 mg Kg<sup>-1</sup>. De acordo com Brown *et al.* (1992) há uma relação direta entre os índices hepatossomático com o peso corporal, comportando-se de forma similar, sugerindo que os peixes suplementados com 500 mg Kg<sup>-1</sup> de L-carnitina apresentaram maior GP e conseqüentemente incremento de gordura visceral diretamente proporcional. Já, peixes suplementados com o nível de inclusão de 2000 mg Kg<sup>-1</sup> além de apresentarem maior acúmulo de gordura visceral quando comparado ao grupo controle, não apresentou GP superior, insinuando que níveis superiores de L-carnitina podem não ser metabolizados e conseqüentemente excretados pelo organismo por meio da urina.

No entanto, peixes suplementados com 1000 mg Kg<sup>-1</sup> apresentaram menor

redução do IGVS quando comparado aos outros níveis de suplementação, o que nos leva a crer que houve uma relação positiva entre a menor deposição de gordura e maior GP e TCE proporcionada pela ação da L-carnitina, que possivelmente aumentou o transporte de ácidos graxos presente na dieta para o interior da matriz mitocondrial das células e possibilitou maior oxidação dos mesmos (Gulçin, 2006). Assim, esse nível de suplementação, foi capaz de suprir a demanda energética dos peixes e reduzir o catabolismo dos aminoácidos, direcionando estes para o crescimento. Porém, o índice de gordura visceral observado nos peixes de todos os tratamentos está de acordo com os encontrados para a espécie, que podem chegar até 5% (Caula *et al.*, 2008).

Os peixes suplementados com L-carnitina apresentaram aumento do IHS. A inclusão de 500 mg Kg<sup>-1</sup>, aumentou consideravelmente a massa hepática bem como maior TRE dos peixes, sugerindo que possivelmente esse nível de suplementação proporcionou maior acúmulo de glicogênio no fígado, é provável que o suprimento de energia fornecido pela oxidação dos ácidos graxos tenha exercido controle sobre a via glicolítica, estocando o carboidrato presente na dieta como gordura abdominal e glicogênio no fígado (Sá *et al.*, 2014).

#### 4.3. Composição química dos filés

A inclusão da L-carnitina nas dietas dos peixes na concentração de 1000 mg Kg<sup>-1</sup> de ração, além de reduzir IGVS e a TRE também reduziu significativamente a composição lipídica do filé. Essa mesma redução também foi observada em peixes que receberam 2000 mg Kg<sup>-1</sup> do micronutriente, porém este não diferiu dos níveis de 500 mg Kg<sup>-1</sup> e do grupo controle. Provavelmente esta redução esteja relacionada a atuação efetiva da L-carnitina no metabolismo dos lipídios, uma vez que, esta tem influência sobre as características de composição da carcaça dos peixes por conta de sua atuação sobre o transporte de ácidos graxos para o metabolismo de  $\beta$ -oxidação (Ozório *et al.* 2001; Burkert, 2007).

Acredita-se que na via metabólica da  $\beta$ -oxidação, a suplementação de L-carnitina nas dietas aumenta a capacidade das células em oxidar os lipídios, o que pode levar ao menor acúmulo de gordura e, conseqüentemente elevar o conteúdo de proteína corporal (Ozório *et al.* 2001), como evidenciado nos peixes suplementados com 500 mg Kg<sup>-1</sup> de L-carnitina, que não tiveram alteração no conteúdo lipídico dos filés, porém apresentaram maior RF quando comparado ao grupo controle. Esse mesmo

efeito foi observado para os peixes suplementados com 2000 mg Kg<sup>-1</sup> do micronutriente.

Esse transporte de ácidos graxos para o metabolismo de  $\beta$ -oxidação realizado pela L-carnitina pode afetar diretamente o uso da proteína contida na ração, uma vez que a produção de energia fica por conta das moléculas de carboidratos e ácidos graxos, direcionando a proteína da dieta para formar outros tecidos, principalmente músculos (Mendonça, 2011). Também, o metabolismo das gorduras pode acarretar em uma melhoria no desempenho e modificação das concentrações de proteína e gordura no corpo dos peixes, uma vez que os carboidratos quando não necessários para produção de energia, são armazenados na forma de tecido adiposo, podendo influenciar o conteúdo de gordura visceral, hepática ou intramuscular (Burkert, 2007).

Os valores da composição centesimal dos filés observados nesse estudo estão de acordo com os esperados pela espécie de acordo com Caula *et al.* (2008), sugerindo que a suplementação da L-Carnitina pode ou não influenciar as características de composição dos filés, e mesmo assim, melhorar o desempenho dos peixes e modificar o perfil dos ácidos graxos provenientes da dieta depositando-os na carcaça (Mendonça, 2011), porém estudos ainda são necessários para comprovar que a suplementação de L-carnitina possa alterar o perfil dos ácidos graxos (Bilinski e Jonas, 1970).

#### 4.4. Análise histológica

A histologia é uma importante ferramenta para se verificar a integridade física dos tecidos. O intestino é o órgão com funções fisiológicas importantes, além de atuar na digestão dos alimentos, também é responsável pela absorção dos nutrientes por meio das microvilosidades intestinais (Caballero *et al.* 2003). Os vilos são compostos por epitélio que possui uma camada de células especializadas na secreção de muco (células caliciformes), absorção de nutrientes (enterócitos de absorção) e secreção de hormônios (células enteroendócrinas), porém, a capacidade absorptiva da membrana dos enterócitos é favorecida na presença das microvilosidades, que proporcionam aumento de 30 vezes a área de superfície de absorção (Dibner e Richards, 2004).

Neste estudo, os peixes suplementados com L-carnitina, independente dos níveis de suplementação, apresentem redução das microvilosidades intestinais, no entanto, o desempenho dos animais não foi afetado. De acordo com Silva e Nörnberg (2003) o uso de aditivos na dieta de peixes é comum, e, em sua maioria, possuem a

capacidade de interferir nas características anatômicas do trato gastrointestinal, promovendo o aumento do tamanho dos vilos e conseqüentemente da superfície de absorção da mucosa intestinal proporcionando melhor desempenho.

A suplementação de L-carnitina não alterou a frequência do menor e maior diâmetro de fibras musculares das tilápias. De acordo com Yang *et al.* (2012) a L-carnitina pode modificar a estrutura ou a textura do músculo, quando relacionadas com os níveis elevados de natação, em outras condições essas alterações não são evidenciadas.

A frequência de fibras com diâmetro  $<20 \mu\text{m}$  são classificadas como hiperplasia, pois nesse momento ocorre o aumento do número de células, já a frequência de fibras com diâmetros  $>50 \mu\text{m}$  são classificadas como hipertrofia, visto que acontece o aumento do tamanho celular (Rowlerson e Veggetti, 2001). De acordo com Aguiar *et al.* (2005) a hiperplasia e hipertrofia apresentada pelos peixes variam de acordo com as espécies, fase de crescimento e tipo do músculo.

Nos peixes ocorrem dois tipos de crescimento muscular (hiperplasia e hipertrofia), durante toda a fase de crescimento. Porém, a hiperplasia é um processo de crescimento mais evidente durante a fase juvenil e o crescimento hipertrófico mais intenso e evidente durante a fase adulta (Almeida *et al.*, 2010). Considerando a faixa de peso final dos peixes analisados nesse estudo ( $<200\text{g}$ ), observou-se predominância da hipertrofia da musculatura, pois apresentaram maiores frequências de fibras  $<50 \mu\text{m}$  em todos os tratamentos, corroborando com a literatura.

A histologia do fígado é considerada uma das técnicas imprescindíveis nos estudos de nutrição, pois o órgão é responsável por metabolizar os produtos provenientes da absorção digestiva, assim, peixes alimentados com dietas nutricionalmente inadequadas podem apresentar alterações nos hepatócitos, degeneração gordurosa no fígado, variações na capacidade metabólica, necroses e alterações no parênquima hepático (Rašković *et al.*, 2011).

O número de hepatócitos encontrados no fígado de peixes suplementados com  $1000 \text{ mg kg}^{-1}$  de L-carnitina foi significativamente reduzido, enquanto que, peixes suplementados com  $500$  e  $2000 \text{ mg kg}^{-1}$  apresentam aumento ( $P<0,05$ ) dessas células. Os hepatócitos estão entre as células mais versáteis do organismo, pois realizam inúmeras funções metabólicas importantes, entre elas, o armazenamento de glicogênio e glicose (Peragón *et al.*, 2001), além disso, compõe cerca de 90% da massa hepática e podem ser influenciados por inúmeros hormônios, principalmente pelos hormônios do



crescimento. Sugerindo, que o aumento do número de hepatócitos dos peixes esteja ligado a maior regeneração dessas células, estimulada pelos hormônios insulina e glucagon, responsáveis pelo aumento da glicogênese e glicogenólise (Jesus *et al.*, 2000), respectivamente. Porém, ainda são necessários, estudos que comprovem a influência desses micronutrientes sobre estes hormônios.

Aliado a isso, acredita-se que os níveis de inclusão de L-Carnitina, não são tóxicos aos peixes, pois nessa situação, os hepatócitos são as células mais afetadas, já que, são responsáveis também por transformar e neutralizar substâncias tóxicas, produzir ureia, armazenar vitaminas, sintetizar proteínas do sangue como albumina, protrombina, fibrinogênio e as lipoproteínas, também, participam da oxidação dos ácidos graxos excedentes, quebrando peróxidos de hidrogênio gerados na oxidação e purinas em excesso (Cavichiolo, 2009). Além disso, participa da síntese de colesterol dos ácidos biliares e alguns lipídios, bem como, secreta os sais biliares, responsáveis pela digestão e absorção dos lipídios e vitaminas lipossolúveis (Cavichiolo, 2009).

#### 4.5. Análise hematológica e bioquímica

A hematologia é uma importante ferramenta para se avaliar o quadro homeostático e de saúde dos peixes, pois funciona como um meio de transporte dos nutrientes desde o trato digestivo até os tecidos, exceto o epitelial e o cartilaginoso (Satake *et al.*, 2009). Tanto as respostas hematológicas quanto bioquímicas são importantes na avaliação das dietas experimentais, pois permitem avaliar não somente o atendimento nutricional destas, bem como as condições de saúde dos peixes (Bicudo *et al.*, 2009).

Nesse estudo, foram observados somente os parâmetros eritrocitários, pois estão diretamente ligados aos processos anêmicos, enquanto que a série branca está mais direcionada aos diagnósticos de processos infecciosos (Tavares-Dias e Moraes, 2004). Sendo assim, observou-se que, as variáveis eritrocitárias de peixes alimentados com dietas contendo diferentes níveis de L-cartinina (500, 1000 e 2000 mg kg<sup>-1</sup>), não apresentaram mudanças no número de eritrócitos, hematócrito, hemoglobina, VCM e CHCM, evidenciando que não houve carência de nenhum nutriente essencial nas dietas experimentais e que nenhum dos níveis de inclusão ocasionou intoxicação dos animais.

Segundo Tavares-Dias e Moraes (2004) a hemoglobina é a responsável pelo

transporte de oxigênio e gás carbônico por meio do ferro que a compõe e sua redução pode estar ligada a intoxicações que afetam as lamelas branquiais e conseqüentemente reduz a absorção de oxigênio (Vosyliéné, 1999). Além disso, a quantificação dos eritrócitos e hematócrito podem determinar o grau de anemia dos peixes, quando reduzidos. Nesse estudo, o hemograma dos peixes e os valores observados mantiveram-se dentro do intervalo de referência estabelecido para espécie (Hrubec e Smith, 2010).

Além da eritropoiese a composição bioquímica do sangue pode auxiliar a explicar o quadro de saúde dos peixes (Agrahari *et al.*, 2007), o que possibilita a identificação de alterações no funcionamento dos órgãos e a adaptação dos animais diante aos desafios fisiológicos e desequilíbrios metabólicos, específicos ou de origem nutricional (González e Scheffer, 2003) e manipulações sofridas pelos peixes (Velisek *et al.*, 2011).

Peixes alimentados com diferentes níveis de L-carnitina apresentaram aumento dos níveis de triglicérides conforme o nível de inclusão do micronutriente, sugerindo que houve maior atividade da L-carnitina em produzir energia a partir dos ácidos graxos presentes na dieta, sendo o excedente de carboidratos transformado em triglicérides e armazenado no tecido adiposo e conseqüentemente maior circulação de triglicérides no sangue. Os triglicérides são formados no fígado e transportados ao tecido adiposo pelas lipoproteínas contendo concentrações moderadas de colesterol e fosfolipídeos (Guyton e Hall, 2011), o que pode alterar as concentrações de colesterol no sangue, porém o mesmo não sofreu alterações.

Os níveis de glicose e proteínas totais observados nesse estudo estão próximos aos observados por Bittencourt *et al.* (2003), que ao avaliarem tilápias em fase de crescimento cultivadas em sistema semi intensivo, relatam uma concentração média de glicose de 60 mg dL<sup>-1</sup> e 3 g dL<sup>-1</sup> de proteínas totais. Já, Hrubec *et al.* (2000) ao avaliar tilápias alimentadas com rações comerciais, observaram valores médios de colesterol superiores aos observados nesse estudo 189 mg dL<sup>-1</sup>. Segundo Baldisserotto (2002) o maior acúmulo de colesterol sanguíneo reduz o crescimento dos peixes, pois o colesterol é formador de hormônios esteróis, responsáveis pelo crescimento dos peixes.

As proteínas plasmáticas são compostas por albuminas, globulinas e fibrinogênio, as quais por meio de diminuição de sua concentração podem indicar alterações hepáticas ou que a ração não é balanceada, estas, são consideradas fontes disponíveis de aminoácidos (Guyton e Hall, 2011), podendo ser alteradas em relação à

deficiência nutricional de aminoácidos na dieta. As concentrações de proteínas totais observadas nesse estudo são consideradas normais para tilápias saudáveis, de acordo com Chen *et al.* (2009), indicando que possivelmente não houve deficiência de aminoácidos em função a composição das dietas utilizadas nesse estudo.

#### 4.6. Análise enzimática

A peroxidação lipídica pode favorecer a oxidação e a modificação das lipoproteínas de baixa densidade (Slyper, 1994), proporcionando a formação de radicais livres como produto final dessa oxidação e conseqüentemente causar alterações celulares (Panzetta *et al.*, 1995). As espécies reativas de oxigênio (EROs) e nitrogênio (ERNs) podem danificar não só os componentes celulares, mas também o DNA (Wagner *et al.*, 1994). Porém os alvos mais susceptíveis a oxidação são os ácidos graxos poli-insaturados, devido à sua abundância nas células (Wagner *et al.*, 1994).

Os oxidantes reagem com a bicamada lipídica (Howard, 1973), principalmente nas membranas das células e organelas que contém grandes quantidades de ácidos graxos poliinsaturados, essa oxidação, pode ser enzimática ou não-enzimática, porém desencadeiam uma cascata autocatalítica que gera numerosas substâncias genotóxicas (Marnett e Plataras, 2001), responsáveis por grandes alterações na integridade do DNA (Bartsch *et al.*, 1999).

As lesões causadas nas camadas lipídicas das células, tendem a diminuir a fluidez da membrana, permitindo maior ataque de algumas (EROs), as quais abstraem um átomo de hidrogênio do grupo metileno das cadeias de ácidos graxos poliinsaturados, dando início ao processo de peroxidação lipídica (Halliwell e Gutteridge, 1991). As (EROs) e outras formas de radicais livres se originam constantemente durante os processos metabólicos, porém, as células desenvolvem um sistema de defesa para limitar a exposição a estes agentes que recebem o nome de antioxidantes (Yu, 1994). O desequilíbrio entre o desafio oxidativo e a capacidade de defesa antioxidante do organismo é denominado de estresse oxidativo (Machado *et al.*, 2009).

A lipoperoxidação é responsável por aumentar a produção de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e malondialdeído (MDA), provocando perda de seletividade na troca iônica e liberação do conteúdo de organelas, como as enzimas hidrolíticas dos lisossomos, e formação de produtos citotóxicos, culminando com a

morte celular (Ferreira e Matsubara, 1997). Os peixes observados nesse estudo não tiveram as concentração de (TBARS) alteradas, o que pode estar relacionado a capacidade da L-carnitina em reduzir a quantidade de ácidos graxos livres pelo metabolismo de  $\beta$ -oxidação (Rebouche, 1992).

As enzimas que atuam nos processos antioxidantes agem prevenindo e controlando a formação de radicais livres e espécies não radicais (Yonar e Sakin, 2011). Já, o sistema de defesa não enzimático é composto por antioxidantes de origem dietética, como a vitamina C, precursores vitamínicos e minerais (Yonar e Sakin, 2011). Peixes suplementados com L-carnitina não apresentaram atividade da GST alteradas, confirmando que os níveis utilizados dos micronutrientes não foram tóxicos. Segundo Salbego *et al.*, 2017 a GST é uma importante enzima que atua na desintoxicação do organismo, frequentemente induzida sob condições adversas, tais como o envenenamento ou intoxicação. Embora a GST não tenha apresentado atividade, a CAT demonstrou-se superior nos peixes para todos os níveis de suplementação de L-carnitina.

A CAT facilita a remoção do peróxido de hidrogênio, que é transformado em água e oxigênio molecular, e a redução de sua atividade nos peixes está relacionada à presença de fatores estressantes xenobióticos que provocam aumento dos radicais superóxidos (Toni *et al.*, 2010). A L-carnitina exerce o seu potencial antioxidante, reduzindo a produção de espécies reativas de oxigênio e eliminando os radicais livres (Izgüt-Uysal *et al.*, 2003, Li *et al.*, 2012), a mesma também possui a capacidade de reduzir a hipóxia intermitente induzida pelo estresse oxidativo e, assim, melhorar o desempenho muscular esquelético, resultando em retardar a fadiga muscular mediada pela redução do dano oxidativo induzido por radicais livres devido à atividade radical antioxidante e anti-livre de L-carnitina (Bin e Hussain, 2012).

Esse efeito já foi observado em ratos expostos a chumbo e suplementados com L-carnitina, que tiveram o mesmo aumento da atividade da CAT observado nesse estudo (El-Sherbini *et al.*, 2017). Além disso, a suplementação de L-carnitina pode ter direcionado a vitamina C, que por sua vez, age contra os radicais livres e o oxigênio singlet, e também, participa da regeneração da forma reduzida e antioxidante da vitamina E (Halliwell e Gutteridge, 1998) que tem a capacidade de destruir a cadeia de lipoperoxidação nas membranas sendo consumido e convertido em forma de radical.

## 5. CONCLUSÃO

Conclui-se que, a suplementação de L-carnitina para tilápias no nível de 500 mg kg<sup>-1</sup> de ração não alteram a capacidade metabólica e fisiológica dos peixes, ainda, proporcionam maior GP, TCE, RF e menor CAA, bem como menor custo por quilo de peixe produzido.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agrahari, S.; Pandey, K. C.; Gopal, K. Biochemical alteration induced by monocrotophos in the blood plasma of fish, *Channa punctatus* (Bloch) Pesticide Biochemistry and Physiology, v. 88, n.3, p. 268-272, 2007.

Aguiar, D. H., Barros, M. M., Padovani, C. R., Pezzato, L. E., e Dal Pai-Silva, M. 2005. Growth characteristics of skeletal muscle tissue in *Oreochromis niloticus* larvae fed on a lysine supplemented diet. *Journal of Fish Biology*, 67(5), 1287-1298.

Almeida, F. L. A., Pessotti, N. S., Pinhal, D., Padovani, C. R., Leitão, N. J., Carvalho, R. F., Martins, C., et al. 2010. Quantitative expression of myogenic regulatory factors MyoD and myogenin in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) skeletal muscle during growth. *Micron*, 41(8), 997-1004. Elsevier.

AOAC 2005. *Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists*. 18<sup>a</sup> ed. Gaithersburg, Maryland.

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.

Bertolini, G. L.; Carnitina - Metabolismo, funções e potencial terapêutico. *Revista Uningá*, N<sup>o</sup> 01, p.15-34, jan./jun.2004.

Bilinski E and Jonas REE. (1970). Effect of coenzyme A and carnitine on fatty acid oxidation by rainbow trout mitochondrial. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*. 27: 857-864.

Bittencourt NLR, Molinari LM, Scoaris DO et al. Haematological and biochemical values for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in semi-intensive system. *Acta Sci., Biol. Sci.* 2003; 25 (2):385-89.

BOSCOLO, W.R.; HAYASHI, C.; SOARES, C.M. Desempenho e características de carcaça de machos revertidos de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), linhagens tailandesa e comum, nas fases inicial e de crescimento. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.30, n.5, p.1391-1396, 2001.

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

BURKERT DENILSON (2007). Avaliação do uso de carnitina e de duas fontes de metionina no desempenho e na composição corporal do pacu, *piaractus mesopotamicus* holmberg, 1887. Tese da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 49pg.

Caballero M.J., Izquierdo M.S., Kjørsvik E., Socorro D.J.M., Fernandez A.J. & Rosenlund G. 2003. Morphological aspects of intestinal cells from gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed diets containing different lipid sources. *Aquaculture* 225:325-340.

CAULA, F. C. B.; OLIVEIRA, M. P.; MAIA, E. L. Teor de colesterol e composição centesimal de algumas espécies de peixes do Estado do Ceará. *Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas*, v. 28, n. 4, p. 157-163, out./dez. 2008.

Cavichiolo, F. 2009. Histology: relevant tool for studies in cultured fish = Histologia: ferramenta relevante para estudos em peixes cultivados. p. 602-324. In: Tavares-Dias, M., ed. *Management of Health and Safety in Fish Farming = Manejo e Sanidade de Peixes em Cultivo*. EMBRAPA, Macapá, AP, Brazil (in Portuguese).

CHEN, G.; ZHANG, M.H.; ZHANG, J.D.; DONG, H.B.; ZHOU, H.; TANG, B.G.; HUANG, J.S.; SHI, G.; JIANG, L. e WU, Z.H. The effects of different levels of dietary protein and L-carnitine on blood sugar and lipids of the new GIFT strain of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *The Scientific World Journal*, v.9, p.1197-1205, 2009.

CHEN, G.; ZHANG, M.H.; ZHANG, J.D.; DONG, H.B.; ZHOU, H.; TANG, B.G.; HUANG, J.S.; SHI, G.; JIANG, L.; WU, Z.H. e GU, B.H. Effects of L-carnitine and dietary protein on body composition and liver lipid content in juvenile new GIFT strain Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Applied Animal Research*, v.37, p.141-144, 2010.

Collier, H. B. The standardizations of blood hemoglobin determinations. *Canadian Medical Association Journal, Ottawa*, v. 50, p. 550-552, 1994.

CORDUK, M.; SARICA, S.; CALIKOGLU, E., e KIRALAN, M. Effects of L-carnitine supplementation to diets with different fat sources and energy levels on fatty acid composition of egg yolk of laying hens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.88, p.2244-2252, 2008.

Dias, J., Arzel, J., Corraze, G., Kaushik, S.J., 2001. Effects of dietary L-carnitine supplementation on growth and lipid metabolism in European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquac. Res.* 32, 206- 215.

DIKEL, S.; ALEV, M.V.; KIRIS, G.A. e CELIK, M. Effects of supplemental dietary L-carnitine on the growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in cage conditions. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, v.27, p.663-669, 2003.

DIKEL, S.; ÜNALAN, B.; EROLDUĞAN, O.T.; HUNT, A. Ö. Effects of Dietary L-carnitine Supplementation on Growth, Muscle Fatty acid Composition and Economic Profit of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v.10, p.173-180, 2010.

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

Ferreira, A. L. A.; Matsubara, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa estresse oxidativo. *Revista de Associação Médica Brasileira*, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

FOCKEN, U.; BECKER, K.; LAWRENCE, P. (1997). A note on the effects of L-carnitine on the energy metabolism of individually reared carp, *Cyprinus carpio* L. *Aquaculture Nutrition*, 3, 261-264.

Freitas, M. L., Bouéres, C. S., Pignataro, T. A., Gonçalves de Oliveira, F. J., de Oliveira Viu, M. A., & de Oliveira, R. A. (2016). Quality of fresh, cooled and frozen semen from stallions supplemented with antioxidants and fatty acids. *Journal of Equine Veterinary Science*, 46, 1-6.

Godoi, M. J. S.; ALBINO, L. F. T.; RISTAGNO, H. S.; GOMES, P. C.; BARRETO, S. L. T.; VARGAS JR, J. G. Utilização de aditivos em rações formuladas com milho normal e de baixa qualidade para frangos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*. V. 37, n. 6, p. 1005-1011, 2008.

Goldenfarb, P.B.; Bowyer, F.P.; Hall, E.; Brosious, E. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determinations. *American Journal of Clinical Pathology*, v.56, p.35-39, 1971.

Gonçalves José Fernando Magalhães; Turini Bruno Graziano da Silva; Ozório Rodrigo Otávio de Almeida (2010). Performance of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) fed varying dietary L-carnitine levels at different stocking densities. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*, v.67, n.2, p.151-157, March/April.

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.

GULCIN, I., Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. **Life Sciences**, v.78, p.803-811, 2006.

HAJI-ABADI, S.M.A.J.; SOOFIANI, N. M.; SADEGHI, A. A.; CHAMANI, M. e RIAZI, G.H. Effects of supplemental dietary L-carnitine and ractopamine on the performance of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Research*, v.41, p.1582-1591, 2010.

HARPAZ, S. 2005. L-carnitine and its attributed functions in fish culture and nutrition - a review. *Aquaculture*, 249 (1-4): 3-21.

HATHCOCK J.N.; SHAO, A. 2006. Risk Assessment for Carnitine. *Regul Toxicol Pharmacol*. 46:23-28.

Holmstrom, K.O.; Somersalo, S.; Mandal, A.; Palva, T. E; Welin, G. Improved tolerance to salinity and low temperature in transgenic tobacco producing glycine betaine. *Journal of Experimental Botany*, London, v. 51, p. 177-185, 2000.

HONORATO, C. A.; ALMEIDA, L. C.; NUNES, C. S.; CARNEIRO, D. J.; MORAES, G. Effects of processing on physical characteristics of diets with distinct levels of carbohydrates and lipids: the outcomes on the growth of pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Aquaculture Nutrition*, Oxford, v. 15, n. 1, p. 1 - 9, 2009.



Hrubec TC, Cardinale JL, Smith SA. Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured tilapia (*Oreochromis hybrid*). *Veterinary Clinical Pathology*. 2000;29:7-12.

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

KUBITZA, F. *Tilápia - Tecnologia e Planejamento na Produção Comercial*. Jundiaí: Fernando Kubitz. 2000. 289p.

LEIBOVITZ, B. e MUELLER, J. Carnitine. *J. Optimal Nutr.*, n. 2, 90-109, 1993.

Lever M, Slow S. The clinical significance of betaine, an osmolyte with a role in methyl group metabolism. *Clin Biochem*. 2010. Jun. 43 (9): 732-44.

LI, Y.; BORDINHON, A. M.; DAVIS, D.A.; ZHANG, W.; ZHU, X. Protein:energy ratio in practical diets for Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture International*, v.21, p.1109-1119, 2013.

MA J.J., Z.R. XU, Q.J. SHAO, J.Z. XU, SILAS S. O. HUNG, W.L. HU & L.Y. ZHUO (2008). Effect of dietary supplemental L-carnitine on growth performance, body composition and antioxidant status in juvenile black sea bream, *Sparus macrocephalus*. *Aquaculture Nutrition*.

McDevitt, R.M.; Mack, S. and Wallis, I.R. 2000. Can betaine partially replace or enhance the effect of methionine by improving broiler growth and carcass characteristics? *Brit Poultry Sci*, 41: 473-480.

McDowell LR. 1989. Vitamin-like substances. In: McDowell LR, (Ed), *Vitamins in Animal Nutrition Comparative Aspects to Human Nutrition*. Academic Press Inc. New York. p. 388-399.

MENDONÇA, P. P. Suplementação alimentar de fitase e L-carnitina para alevinos de tambaqui (*Colossoma macropomum*). 2011. Universidade Estadual do Norte Fluminense. Centro de Ciências e Tecnologia Agropecuárias. Campos dos Goytacazes - RJ, Aprovado em 2011. <http://uenf.br/posgraduacao/ciencia-animal/wp-content/uploads/sites/5/2016/10/Tese-Pedro-Pierro.pdf> . Acesso em: 23 de abril de 2018.

METZLER-ZEBELI, B. U.; EKLUND, M.; MOSENTHIN, R. Impact of osmoregulatory and methyl donor functions of betaine on intestinal health and performance in poultry. *World's Poultry Science Journal*, v.65, p.419-441, 2009.

MOECKEL, G. W.; SHADMAN R, FOGEL JM, SADRZADEH SMH. Organic osmolytes betaine, sorbitol and inositol are potent inhibitors of erythrocyte membrane ATPases. *Life Sciences*; v. 71, p.2413-2424, 2002.

Moro, E. B. L-carnitina em dietas para juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (2017)

NELSON, D.P.; KIESOW, L.A. 1972. Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25 degrees C (with molar extinction coefficients of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solutions in the UV). *Analytical Biochemistry*, 49 (2): 474-478.

Niang, T. M. S. Suplementação de Betaína em Rações de Frangos de Corte Infectados Experimentalmente com *Eimeria acervulina* (TYZZER, 1929). (2005). Dissertação. Instituto de Zootecnia UFRRJ. Seropédica, RJ.

NRC -National Research Council (2011) Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. National Academy Press (Washington, D.C).

OZÓRIO R. O. A. 2009. Dietary L-Carnitine Supplementation to Cultivated Fish: A Mini-Review. *Current Nutrition & Food Science*, 5 (1): 40-48.

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.

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.

PANIZ, C.; GROTTTO, D.; SCHMITT, G. C.; VALENTINI, J.; SCHOTT, K. L.; POMBLUM, V. J.; GARCIA, S. C. Fisiopatologia da deficiência de vitamina B12 e seu diagnostico laboratorial. *Jornal Brasileiro de Patologia Médica*, v. 41, n. 5, p. 323-34, 2005.

Pelicano E.R.L., Souza P.A., Souza H.B.A., Oba A., Norkus C.E.A., Kodawara L.M. & Lima T.A. 2003. Morfometria e ultra-estrutura da mucosa intestinal de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes probióticos. *Revta Port. Ciênc. Vet.* 98:125-134.

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.

POORTHUIS, BEN J. H. M.; JILLE-VLCKOVÁ, T. e WILLEM, O. Determination of acylcarnitines in urine of patients with inborn errors of metabolism using high-performance liquid chromatography after derivatization with 4'-bromophenacylbromide. *Clin. Chim. Acta*, n. 216, 53-61, 1993.

PRATES, J. A. M.; MATEUS, C. M. R. Componentes com atividade fisiológica dos alimentos de origem animal. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, v. 97, n. 541, p. 3-12, 2002.

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.

Ratriyanto, A., Mosenthin, R., Bauer, E., Eklund, M. (2009) Metabolic, Osmoregulatory and Nutritional Functions of Betaine in Monogastric Animals. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 22 (10), 1461-1476.

REBOUCHE, C.J.; SEIM, H. 1998. Carnitine metabolism and its regulation in microorganisms and mammals. *Annual Review of Nutrition*, 18: 39-61.

Rodrigues, R.; Meurer, F.; Boscolo, W. R.; Aditivos na Nutrição de Peixes. 2015. Ver. *Colombiana Ciência Animal*. 7 (2):228-236.

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.

SÁ, M.V.C. e FRACALOSSO, D.M. Exigência proteica e relação energia:proteína para alevinos de piracanjuba (*Brycon bigyanus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, p.1-10, 2002.

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.

Santulli A, Puccia E, D'Amelio V. 1990. Preliminary study on the effect of short-term carnitine treatment on nucleic acids and protein metabolism in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) fry. *Aquaculture*. 87: 85-89.

Santulli, A. e D'Amelio, V., 1986. Effects of supplemental dietary carnitine on the growth and lipid metabolism of hatchery-reared sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture* 59, 177-186.

Schlechtriem, C., Bresler, V., Fishelson, L., Rosenfeld, M., Becker, K., (2004). Protective effects of dietary L-carnitine on tilapia hybrids (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*) reared under intensive pond-culture conditions. *Aquac. Nutr.* 10, 55- 63.

Silva L.P. & Nörnberg J.L. 2003. Prebióticos na nutrição de não ruminantes. *Ciência Rural* 33:983- 990.

SOUSA, S.M.N.; FRECCIA, A.; SANTOS, L.D.; MEURER, F. TESSARO, L., BOMBARDELLI, R.A. Growth of Nile tilapia post-larvae from broodstock fed diet with different levels of digestible protein and digestible energy. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v, 42, n.8, p.535-540, 2013.

SOUZA, M. L. R. Comparação de seis métodos de filetagem, em relação ao rendimento de filé e de subprodutos do processamento da Tilápia-do-Nilo

(*Oreochromis niloticus*). Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v. 31, n. 3, p. 1076-1084, 2002.

STATSOFT, Inc. 2005. *Statistica* (data analysis software system), version 7.1. STATSOFT, Inc. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).

Tavares-dias, M. Moraes, F. R. Hematologia de peixes teleósteos. Ribeirão Preto: Ed. Eletrônica e Arte Final, 2004. 144p.

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.

Torreale, E., Van Der Sluiszen, A., Verreth, J., (1993). The effect of dietary L-carnitine on the growth performance in fingerlings of the African catfish (*Clarias gariepinus*) in relation to dietary lipid. *Br. J. Nutr.* 69, 289- 299.

Turini Bruno Graziano da Silva (2008). Os efeitos da carnitina no crescimento e na composição corporal do pregado (*Scophthalmus maximus*) mantido sobre diferentes densidades de estabulação. Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, Universidade do Porto. 76 pg.

Vieira, I. Cyrino, J. E. P.; Pezzato, L. E. Colina e Betaína em rações purificadas na nutrição da tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Scientia Agricola*, v.58, n.4, p.675-680, out./dez.2001.

Vosylienė, M. Z. The effects of heavy metals on hematological indices of fish (Survey). *Acta Zoologica Lituanica*, v.9, p. 76 - 82, 1999.

Wintrobe, M. M. Variation in the science and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. *Folia Haematologica*, v.51, p.32-49, 1934.

WOOLLARD, D.C., INDYK, H.E. e WOOLLARD, G.A. (1999). Carnitine in milk: a survey of content, distribution and temporal variation. *Food Chemistry*, 66, 121-127.

YANG, S.D.; LIU, F.G.; LIU, 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*, v.342-343, p.48-55, 2012.

YESTE, M.; SANCHO, S.; BRIZ, M.; PINART, E.; BUSSALEU, E.; BONET, S. A diet supplemented with L-carnitine improves the sperm quality of Piétrain but not of Duroc and Large White boars when photoperiod and temperature increase. *Theriogenology*, v.73, p.577-586, 2010.

## **CAPÍTULO II**

### **Comportamento produtivo e metabólico de tilápias do nilo suplementadas com Betáina**

## **Comportamento produtivo e metabólico de tilápias do Nilo suplementadas com betaína**

**Resumo:** O estudo teve por objetivo avaliar o desempenho produtivo, características morfológicas e centesimais, histologia do intestino, músculo e fígado, hematologia, bioquímica e atividade enzimática de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) suplementadas com betaína. Para isso, foram utilizadas 144 tilápias com peso médio de  $27,76 \pm 1,31$ g, distribuídas ao acaso em quatro tratamentos, constituídos por três níveis de betaína (500, 1000 e 2000 mg Kg<sup>-1</sup> de ração) e um grupo controle. Os peixes foram distribuídos em 12 tanques de 0,45m<sup>3</sup>, adaptados à um sistema de recirculação, com temperatura controlada e aeração constante. As dietas experimentais foram calculadas para serem isoenergéticas (3200 kcal kg<sup>-1</sup> ED) e isoprotéicas (28% PD). Durante o período experimental de 105 dias os peixes foram alimentados quatro vezes ao dia e, ao final do experimento tiveram suas variáveis de desempenho: ganho em peso (GP), ganho em peso diário (GPD), conversão alimentar aparente (CAA), taxa de crescimento específico (TCE), taxa de eficiência proteica (TEP), taxa de retenção proteica (TRP), taxa de retenção energética (TRE), rendimento de filé (RF) e sobrevivência (SO); Morfológicas: índices hepatossomático (IHS) e índice de gordura-víscero-somática (IGVS); Centesimais: umidade, proteína, lipídios e cinzas; Histológicas: intestino, músculo e fígado; Hematológicas, bioquímicas e enzimáticas, avaliadas. Aplicou-se ANOVA para se avaliar o melhor nível de inclusão dos micronutrientes e quando significativas, as médias foram submetidos ao teste de Tukey (P<0,05). A inclusão de betaína em 500 mg Kg<sup>-1</sup> de ração, aumentou o GP, GPD, TCE, TRE, número de hepatócitos e atividade da catalase. Porém, reduziram as microvilosidades dos peixes, mas não afetaram o número de fibras musculares. Assim, notou-se que a suplementação de betaína nas proporções de 500 mg Kg<sup>-1</sup> de ração melhora o desempenho e as funções metabólicas de tilápias.

**Palavras-chave:** histologia; *Oreochromis niloticus*; catalase; rendimento de filé

## Productive and metabolic behavior of Nile tilapia supplemented with betaine

**Abstract:** The objective of this study was to evaluate the productive, morphological and chemical composition, histology of the intestine, muscle and liver, hematology, biochemistry and enzymatic activity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) supplemented with betaine. For this purpose, 144 tilapia with a mean weight of  $27.76 \pm 1.31$ g were randomly distributed in seven treatments, consisting of three levels of betaine (500, 1000 and 2000 mg Kg<sup>-1</sup> of feed) and control group. The fish distributed in 12 tanks of 0.45m<sup>3</sup>, adapted to a recirculation system, with controlled temperature and constant aeration. Experimental diets calculated to be isoenergetic (3200 kcal kg<sup>-1</sup> ED) and isoproteic (28% PD). During the experimental period of 105 days the fish were fed four times a day and at the end of the experiment had their performance variables: weight gain (GP), daily weight gain (GPD), apparent feed conversion (CAA), rate (TEP), protein retention rate (TRE), protein retention rate (TRE), fillet (RF) yield and survival (SO); Morphological: hepatosomatic index (IHS) and fat somatic index (IGVS); Centesimal: moisture, protein, lipids and ashes; Histological: intestine, muscle and liver; Hematological, biochemical and enzymatic, evaluated. ANOVA was applied to evaluate the best level of micronutrients inclusion and, when significant, the means were submitted to the Tukey test ( $P < 0.05$ ). The inclusion of betaine in 500 mg kg<sup>-1</sup> of diet also improved GP, GPD, TCE, TRE, number of hepatocytes and activity of catalase. Supplementation levels of betaine reduced fish microvilli, but did not affect the number of muscle fibers. Thus, it was determined that the supplementation of betaine in the proportions of 500 mg kg<sup>-1</sup> of ration improves the performance and metabolic functions of tilapia.

**Keywords:** histology; *Oreochromis niloticus*; catalase; fillet yield

## 1. INTRODUÇÃO

O consumo mundial de pescado tem crescido significativamente nos últimos anos (FAO, 2018), influenciando a intensificação da aquicultura, uma vez que a produção pesqueira está estagnada e com previsão de declínio. Cenário este, estabelecido em todos os continentes, principalmente nas áreas tropicais, condição que favorece a produção de uma das espécies mais difundidas no mundo, a tilápia (*Oreochromis niloticus*).

Atualmente, a tilápia é produzida em mais de 140 países (Fitzsimmons, 2015), e sua abrangência, deve-se as suas qualidades zootécnicas de rápido crescimento, alta prolificidade, resistência a altas densidades e diferentes temperaturas (Kubitza, 2000). Esse amplo crescimento, conseqüentemente está relacionado aos avanços no melhoramento genético e nutrição, sanidade e manejo. A nutrição desempenha importante papel quando a finalidade é alcançar o aumento da produtividade com custos reduzidos, sem deixar que o produto final perca seus atributos para comercialização.

A eficiência da produção depende principalmente do alimento fornecido aos animais, por meio dele e do manejo, os animais serão capazes de expressar seu potencial produtivo. Dentro deste contexto, a ração ocupa a posição mais onerosa do investimento, devido principalmente pela proteína ser o nutriente mais caro na formulação das dietas (Ferreira *et al.*, 2013). Assim, é necessário se estabelecer estratégias que possibilitem o maior aproveitamento deste nutriente primordial (Cho *et al.*, 2005).

Atualmente o uso de aditivos vem sendo utilizados como forma de potencializar o aproveitamento dos nutrientes das dietas (NRC, 2011). Os aditivos são ingredientes nutritivos com finalidades diversas, pois podem tanto complementar os nutrientes quanto atuarem como palatabilizantes, conservantes, quimioterápicos, imunostimulantes, antioxidantes, probióticos e prébióticos (Rodrigues *et al.*, 2015).

Um entrave quanto à utilização de alguns aditivos diz respeito a sua incorporação nas dietas comerciais, pois a inclusão destes antes do processo de extrusão pode acarretar na inativação dos mesmos. No entanto, algumas substâncias como, coenzima Q10, ácidos orgânicos, colina, taurina, L-carnitina e betaína vem sendo incluídas nas dietas com intuito de melhorar o aproveitamento dos nutrientes (Prates e Mateus, 2002; Freitas *et al.*, 2016), sem que sejam verificadas inativação após passar



pelo processo de extrusão. Sendo assim, a inclusão dos nutrientes orgânicos em dietas, como betaína, podem ser considerados pela fácil manipulação e inclusão, além da alta solubilidade em água e estabilidade a altas temperaturas apresentadas por estes micronutrientes (Holmstrom *et al.*, 2000).

A betaína (trimetilglicina), é uma amina quaternária derivada do aminoácido glicina com três grupos de metila ligados ao átomo de nitrogênio desta molécula (Holmstrom *et al.*, 2000). Sua principal função é fornecer grupos metil que são necessários para a síntese de inúmeras substâncias como os aminoácidos sulfurados e a carnitina. Assim, atua indiretamente no metabolismo lipídico e proteico (Eklund *et al.*, 2005; Ratriyanto *et al.*, 2009; Lever e Slow, 2010). Além disso, tem ação efetiva sobre o equilíbrio osmótico por ser uma molécula polar, capaz de reter água no interior das células, facilitando a função das bombas iônicas (Moeckel *et al.*, 2002) e também melhoram a manutenção das estruturas intestinais, beneficiando a digestibilidade dos nutrientes (Eklund *et al.*, 2005).

Dessa forma, objetivou-se avaliar a produtividade, fisiologia, morfologia, hematologia, bioquímica e atividade enzimática de tilápias alimentadas com dietas suplementadas com diferentes níveis de betaína.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Delineamento e procedimento experimental**

Adotou-se delineamento inteiramente casualizado com três níveis de inclusão de betaína (500, 1000 e 2000 mg Kg<sup>-1</sup> de ração) e um grupo controle. Foram utilizadas 160 tilápias (masculinizadas) com peso médio de 27,76 ± 1,31g, sendo 16 delas utilizadas na coleta de amostras iniciais para determinação da composição centesimal e posterior cálculos de retenção. As demais, 144, foram distribuídas aleatoriamente em 12 tanques com capacidade útil de 0,45 m<sup>3</sup>, adaptados a um sistema de recirculação de água, com temperatura controlada e aeração constante, totalizando quatro tratamentos com três repetições, sendo cada unidade experimental composta por 12 peixes.

Durante 105 dias de experimento, os peixes receberam as dietas experimentais quatro vezes ao dia, 8:00, 11:00, 14,00 e 17:00 horas, sendo os primeiros cinco dias destinados à adaptação dos peixes as dietas.

## 2.2. Dietas experimentais

As dietas experimentais utilizadas no experimento foram formuladas a partir de alimentos de origem vegetal e animal, as mesmas apresentaram-se isoenergéticas (3200 kcal kg<sup>-1</sup> de ED) e isoprotéicas (28% PD) as quais foram suplementadas com diferentes níveis de betaína em mg Kg<sup>-1</sup> de ração (Tabela 1).

O custo por quilo de peixe produzido (R\$ kg<sup>-1</sup> de ganho de peso) foi estimado pelo custo dos ingredientes da ração formulada, multiplicado pela conversão alimentar. Os valores dos ingredientes foram obtidos em consulta aos fabricantes de rações do Estado do Paraná, com base nos preços vigentes em setembro de 2018.

## 2.3. Qualidade d'água

Durante o estudo, foram aferidos os parâmetros de qualidade de água como: temperatura ( $27,36 \pm 0,92$  °C) por meio de termómetro digital, oxigênio dissolvido ( $7,94 \pm 0,82$  mg L<sup>-1</sup>), pH ( $7,5 \pm 0,50$ ) e condutividade elétrica ( $80,22 \pm 0,71$  µS cm<sup>-1</sup>) com multiparâmetro portátil (YSI 556). Os teores de amônia e nitrito foram aferidos com kits colorimétricos (LabconTest), porém não ultrapassaram 0ppm. De acordo com KUBITZA (2000) as variáveis aferidas estão de acordo com a faixa de conforto da espécie.

**Tabela 1** - Composição percentual e química das dietas experimentais.

Ingredientes	Níveis de inclusão mg Kg <sup>-1</sup> de ração			
	Controle	Betaína		
	0-0	0-500	0-1000	0-2000
Farelo de Soja	44,74	44,72	44,70	44,65
Milho Grão	21,93	21,92	21,91	21,89
Farelo de Trigo	20,00	19,99	19,98	19,96
Farinha de Peixe (Tilápia)	5,00	5,00	5,00	4,99
Farinha de Vísceras (Aves)	5,00	5,00	5,00	4,99
Óleo de Soja	1,29	1,29	1,29	1,29
Calcário	1,21	1,21	1,21	1,21
Premix vitamínico e mineral <sup>1</sup>	0,50	0,50	0,50	0,50
Cloreto de Sódio (NaCl)	0,30	0,30	0,30	0,30
Butil-hidroxi-Tolueno	0,02	0,02	0,02	0,02
Propionato de Cálcio	0,01	0,01	0,01	0,01
L-Carnitina	0,00	0,00	0,00	0,00
Betaína	0,00	0,05	0,20	0,20
TOTAL	100	100	100	100
Custo da formulação <sup>3</sup> (R\$/Kg)	1,24	1,24	1,25	1,25
Composição Calculada				
Proteína Digestível (%)	28	28	28	28
Energia Digestível Kcal.Kg <sup>-1</sup>	3200	3200	3200	3200
Composição Determinada (%)				
Proteína Bruta	33,35	33,64	34,39	32,37
Energia Bruta Kcal.Kg <sup>-1</sup>	4255	4239	4291	4236
Fibra Bruta	7,27	7,13	6,75	6,33
Matéria Mineral	9,88	8,90	8,92	8,59

<sup>1</sup> Níveis 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. <sup>1</sup> Níveis 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.

#### 2.4. Procedimentos analíticos

Após o período experimental foram adotados os procedimentos analíticos, dos quais, para as análises morfológicas, químicas, histológicas, eritrocitárias e bioquímicas três peixes de cada repetição foram avaliados. A colheita do material biológico utilizados nessas análises procedeu de acordo com o pico de concentração metabólica sanguínea apresentada pela tilápia do Nilo. Assim, no dia da finalização do experimento os peixes foram alimentados de forma esquemática, respeitando o tempo

metabólico de três horas para essa espécie (Figueiredo-Silva *et al.*, 2003), então, após esse período os peixes foram destinados para colheita do material biológico.

Para isso, os peixes foram anestesiados com benzocaína a 100 mg.L<sup>-1</sup>, tiveram seu peso mensurado e seu sangue colhido para avaliação hematológica e bioquímica. Posteriormente sofreram super dosagem anestésica com benzocaína a 200 mg.L<sup>-1</sup>, seguida de secção medular, e tiveram seus tecidos (fígado, gordura, intestino médio e músculo) colhidos e armazenados para quantificação dos índices somáticos e histologia dos demais tecidos. Esses peixes, também tiveram os filés retirados para determinação da composição centesimal e rendimento de filé.

Posteriormente mais três peixes por repetição sofreram secção medular, e tiveram seus tecidos hepáticos colhidos e armazenados em nitrogênio líquido para determinação da concentração das enzimas do estresse oxidativo. Para a determinação das variáveis produtivas todos os peixes foram ponderados.

## 2.5. Desempenho zootécnico

A partir da quantificação das dietas consumidas e peso final dos peixes foram calculadas as variáveis produtivas de ganho em peso (GP (g) = peso final (g) - peso inicial (g)); ganho em peso diário (GPD (g) = ganho em peso (g) / dias de experimento); conversão alimentar aparente (CAA = alimento fornecido (g) / ganho em peso (g)); taxa de crescimento específico (TCE (%) = 100 x [(ln peso final (g) - ln peso inicial (g)) / período experimental]); taxa de eficiência proteica (TEP (%) = 100 x (ganho de peso (g) / proteína bruta consumida (g))); rendimento de filé (RF (%) = (peso do filé/peso dos animal) x 100, e sobrevivência.

## 2.6. Análise morfológica

Os índices somáticos foram determinados a partir do peso do peixe, do fígado e dos tecidos adiposos, os cálculos utilizados foram: índices hepatossomático (IHS (%) = 100 x [peso do tecido hepático (g) / peso corporal (g) ]) e índice de gordura-víscerosomático (IGVS (%) = 100 x [peso da gordura visceral (g) / peso corporal (g)]).

A partir da determinação dos valores de proteína e energia bruta determinados por meio da composição química dos filés, foram calculados a Taxa de Retenção Proteica (%) (TRP) = 100 x [(Pf x PBCf) - (Pi x PBCi)] / PB ingerida e Taxa de Retenção

Energética (%) (TER) =  $100 \times [(Pf \times EBCf) - (Pi \times EBCi)] / EB$  ingerida, em que: Pf = peso final; Pi = peso inicial; PBCf = proteína corporal final; PBCi = proteína corporal inicial; EBCi = energia corporal inicial; EBCf = energia corporal final.

## 2.7. Composição química dos filés e das rações experimentais

A composição centesimal dos filés foi determinada a partir do filé pré-seco em estufa a 55 °C por 72 horas e triturados em moinho. Posteriormente, realizou-se análise da umidade por meio da secagem em estufa a 105°C por 8 horas. O conteúdo de cinzas foi determinado 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 (AOAC, 2005). Os mesmos procedimentos foram adotados para a determinação da composição química das rações experimentais.

## 2.8. Análise histológica

Com auxílio de uma lâmina retirou-se as amostras de músculo branco do lado esquerdo dos peixes, acima da linha lateral. Essas, acondicionadas em solução de ALFAC por 24 horas e, posteriormente, preservadas em álcool 70% até o momento da realização das análises. Para isso, as amostras foram desidratadas em concentrações crescentes de álcoois, diafanizadas em xilol, embebidas em parafina histológica e após emblocadas, cortadas com auxílio de um micrótomo (Thermo Scientific - Microm HM 340E).

Para o preparo das amostras de músculo, foram realizados cortes de 7µm de espessura, corados pelo método de Hematoxilina-Eosina (HE) descrito por Behmer *et al.* (1976) e, posteriormente verificado o menor diâmetro de pelo menos 200 fibras de cada peixe, totalizando 2.000 fibras medidas para cada tratamento, as quais foram classificadas em três classe de acordo com sua morfometria e mensuração do menor diâmetro: menor que 20µm; 20,01 a 50µm e, maiores que 50µm (Figura 1).

A foto documentação 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. As mensurações foram realizadas com o auxílio do software de imagens computadorizado CellSens Standard 1.15®

Para a análise histológica intestinal, foram colhidos porções de aproximadamente 5 cm de comprimento do intestino medial. As amostras foram colocadas em placa de isopor, abertas longitudinalmente, lavadas em solução salina, fixadas em solução de formol 10% por 12 horas. Para obtenção de cortes histológicos as amostras foram desidratadas em séries ascendentes de álcool, diafanizadas em xilol, e embebidas em parafina. Foram realizados cortes de 7µm de espessura, corados pelo método de Hematoxilina-Eosina (HE).

A foto documentação foi realizada em fotomicroscópio em objetiva de 20X, com o auxílio do software de imagens computadorizado CellSens Standard 1.15®. A morfometria da mucosa intestinal foi realizada em 10 vilos por animal, perfazendo um total de 90 medidas (µm) por tratamento, onde foi mensurada à altura do vilo, largura do vilo e espessura da túnica.

Para quantificação de hepatócitos do fígado, os mesmos foram cortados em secções de 5µm e fixados em lâmina, coradas por técnica de hematoxilina-eosina (HE). O número de hepatócitos foi quantificado por meio de dois cortes de cada fígado, totalizando 144 mensurações.

## 2.9. Análise hematológica e bioquímica

As variáveis hematológicas compostas somente pela série vermelha dos peixes foram analisadas a partir da colheita sanguínea. O sangue foi colhido por punção da veia caudal, por meio de seringas e agulhas banhadas em EDTA a 3%. A contagem do número de eritrócitos foi realizada por meio de câmara Neubauer, utilizando-se líquido de Hayen, na proporção de 1:200. A taxa de hemoglobina foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Collier (1944) e o percentual de hematócrito seguindo a metodologia de Goldenfarb *et al.* (1971). E, com base nos resultados obtidos, foram calculados os índices hematimétricos: volume corpuscular médio [VCM = (Hematócrito x 10) / eritrócitos] e concentração de hemoglobina corpuscular média [CHCM = (Taxa de hemoglobina x hematócrito) x 100], conforme Wintrobe (1934).

Para a determinação dos parâmetros bioquímicos os peixes tiveram o sangue colhido por punção da veia caudal com seringas ausentes de anticoagulante. Posteriormente, as amostras de sangue foram centrifugadas a 2500 rpm por 5 minutos e, a partir do soro foram determinadas a concentração de glicose (mg dL<sup>-1</sup>), colesterol total (mg dL<sup>-1</sup>), triglicerídeos (mg dL<sup>-1</sup>) e proteína plasmática total (g dL<sup>-1</sup>) por meio de

“kits” específicos “Gold Analisa Diagnóstica®”, procedidos conforme as instruções do fabricante, sendo a leitura processada em espectrofotômetro.

#### 2.10. Análise enzimática

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 9mL 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 $\mu$ L de PMSF.

A determinação do TBARS foi realizada conforme Buege e Aust (1978), e os resultados foram expressos em nmol MDA.mg<sup>-1</sup> proteína. A avaliação da atividade da catalase (CAT) foi determinada de acordo com Nelson *et al.* (1982), em um comprimento de onda de 240nm, e os resultados foram expressos em  $\mu$ mol/mg proteína/min. 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 foi realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 412nm e a atividade foi expressa em  $\mu$ moles.mg<sup>-1</sup> proteína.

#### 2.11. Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos aos testes de normalidade e homocedasticidade e quando constatada distribuição normal, as médias obtidas para cada micronutriente foram avaliadas por meio de ANOVA, a 5% de significância com auxílio do software Statistica 7.0® (Statsoft, 2004). E, as médias quando significativas foram comparadas pelo teste de médias de tukey (P<0,05), com o auxílio do software Statistica 7.0® (Statsoft, 2004). Os resultados são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão para variáveis.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Desempenho zootécnico

A inclusão de betaína nas dietas dos peixes proporcionou aumento ( $P<0,05$ ) do GP para o nível de 500 mg Kg<sup>-1</sup> de ração. Esse mesmo efeito também foi observado para o GPD e TCE ( $P<0,05$ ), sendo que, os demais níveis avaliados reduziram esse incremento (Tabela 2). O RF dos peixes não diferiu estatisticamente entre os tratamentos, bem como a CAA. Tanto os níveis de inclusão de L-carnitina quanto os de betaína avaliados, não alteraram ( $P>0,05$ ) a TEP e a SOB dos peixes.

**Tabela 2** - Desempenho zootécnico de tilápias suplementadas com diferentes níveis de Betaína.

Variáveis	Betaína mg Kg <sup>-1</sup> de ração				P-valor
	0	500	1000	2000	
GP	208,45±5,75 <sup>B</sup>	224,58±5,15 <sup>A</sup>	206,67±8,77 <sup>B</sup>	200,58±5,86 <sup>B</sup>	<0,01
GPD	1,99±0,05 <sup>B</sup>	2,14±0,04 <sup>A</sup>	1,97±0,08 <sup>B</sup>	1,91±0,05 <sup>B</sup>	<0,01
CAA	1,25±0,06	1,19±0,04	1,29±0,03	1,25±0,02	ns
TCE	2,04±0,01 <sup>B</sup>	2,14±0,01 <sup>A</sup>	2,01±0,05 <sup>AB</sup>	1,96±0,04 <sup>B</sup>	<0,01
TEP	2,60±0,13	2,74±0,10	2,51±0,06	2,58±0,05	ns
RF	31,97±0,80	32,41±1,54	31,85±0,62	30,95±0,16	ns
SOB	97,22±3,70	94,44±3,70	94,44±7,40	91,67±5,55	ns

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão; <sup>1</sup>Ganho em Peso; <sup>2</sup>Ganho em Peso Médio Diário; <sup>3</sup>Conversão Alimentar Aparente; <sup>4</sup>Taxa de Crescimento Específico; <sup>5</sup>Taxa de Eficiência Proteica; <sup>6</sup>Rendimento de Filé; <sup>7</sup>Sobrevivência; Letras diferentes na mesma linha apresentam diferença estatística entre os níveis de suplementação ( $P<0,05$ ); <sup>8</sup>Não Significativo ( $P>0,05$ ).

#### 3.2. Análise morfológica

Peixes suplementados com 500 e 2000 mg kg<sup>-1</sup> da ração de betaína apresentaram aumento do IHS quando comparados ao grupo controle. Observou-se também, acréscimo ( $P<0,05$ ) da TRE dos peixes alimentados com 500 mg kg<sup>-1</sup> de ração, os demais níveis de betaína testados reduziram ( $P<0,05$ ) a TRE. A suplementação de betaína não alteraram a TRP dos peixes (Tabela 3).



**Tabela 3** - Índices hepatossomático (IHS), gordura-víscero-somática (IGVS), taxa de retenção proteica (TRP) e taxa de retenção energética (TER) de tilápias alimentadas com diferentes níveis de Betaína.

Variáveis	Betaína mg Kg <sup>-1</sup> de ração				P-valor
	0	500	1000	2000	
IGVS	1,68±0,22	1,67±0,20	1,22±0,44	1,16±0,37	ns
IHS	1,38±0,21 <sup>A</sup>	2,39±0,44 <sup>B</sup>	1,62±0,18 <sup>AB</sup>	2,27±0,63 <sup>B</sup>	<0,01
TRP	30,67±0,45	32,39±11,89	27,80±6,12	16,83±0,00	ns
TRE	7,45±0,01 <sup>B</sup>	8,39±0,01 <sup>A</sup>	6,36±0,01 <sup>BC</sup>	5,76±0,02 <sup>D</sup>	<0,01

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão; <sup>1</sup>Índe gordura-víscero-somática; <sup>2</sup>Índice hepatossomático; <sup>3</sup>Taxa de Retenção Proteica; <sup>4</sup>Taxa de retenção energética; Letras diferentes na mesma linha apresentam diferença estatística entre os níveis de suplementação (P<0,05); <sup>5</sup>Não Significativo (P>0,05);

### 3.3. Composição química dos filés

A suplementação de betaína não alterou a composição centesimal dos filés das tilápias (Tabela 4).

**Tabela 4** - Composição centesimal de filés de tilápias alimentadas com diferentes níveis Betaína.

Variáveis	Betaína mg Kg <sup>-1</sup> de ração				P-valor
	0	500	1000	2000	
Umidade	79,21±0,52	78,86±0,46	79,52±0,74	79,48±0,32	ns
Proteína	19,29±0,83	19,68±1,41	18,91±0,65	18,11±0,58	ns
Lipídio	1,68±0,28	1,65±0,19	1,55±0,28	1,41±0,11	ns
Cinzas	1,28±0,57	1,64±0,33	1,64±0,33	1,46±0,58	ns

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha apresentam diferença estatística entre os níveis de suplementação (P<0,05); <sup>1</sup>Não Significativo (P>0,05);

### 3.4. Análise histológica

Peixes alimentados com dietas suplementadas com betaína tiveram seus vilos reduzidos (P<0,05), pois apresentaram redução da altura, largura e espessura dos vilos (Tabela 5).

**Tabela 5** - Histomorfometria do intestino, altura e largura dos vilos, e espessura da túnica de tilápias alimentadas com diferentes níveis de Betaína.

Variáveis	Betaína mg Kg <sup>-1</sup> de ração				P-valor
	0	500	1000	2000	
Altura dos Vilos (µm)	358,68±71,17 <sup>A</sup>	223,80±28,69 <sup>B</sup>	225,26±51,52 <sup>B</sup>	144,75±32,94 <sup>C</sup>	<0,01
Largura dos Vilos (µm)	214,16±61,15 <sup>A</sup>	68,79±09,03 <sup>C</sup>	84,97±28,42 <sup>C</sup>	134,39±25,62 <sup>B</sup>	<0,01
Espessura da Túnica (µm)	70,14±12,20 <sup>A</sup>	49,02±0,702 <sup>B</sup>	45,92±08,55 <sup>B</sup>	23,20±04,41 <sup>C</sup>	<0,01

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão; Letras diferentes na mesma linha apresentam diferença estatística entre os níveis de suplementação (P<0,05);

A frequência do menor e maior diâmetro das fibras musculares não foi influenciada pelos diferentes níveis de betaína suplementados nas dietas das tilápias (Tabela 6). Para o número de hepatócitos observados no fígado dos peixes, evidenciou-se maior número de hepatócitos em peixes suplementados com 2000 mg.kg<sup>1</sup> de betaína quando comparado aos animais do grupo controle (Tabela 6). Já, peixes submetidos a suplementação com 500 e 1000 mg kg<sup>1</sup> de betaína, apresentaram redução (P<0,05) dos hepatócitos quando comparado aos demais tratamentos.

**Tabela 6** - Frequência do menor e maior diâmetro das fibras musculares de tilápias suplementadas com diferentes níveis de Betaína.

Variáveis (%)	Betaína mg Kg <sup>-1</sup> de ração				P-valor
	0	500	1000	2000	
<20µm	0,07±0,24	0,08±0,14	0,17±0,22	0,17±0,32	ns
20 - 50µm	10,43±2,49	7,58±2,06	12,33±3,61	15,17±5,78	ns
>50µm	89,50±2,57	92,33±1,94	87,50±3,67	84,67±5,89	ns
Hepatócitos (n°)	256,67±08,89 <sup>B</sup>	202,50±01,50 <sup>C</sup>	179,00±10,67 <sup>C</sup>	295,50±02,50 <sup>A</sup>	<0,01

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão; Letras diferentes na mesma linha apresentam diferença estatística entre os níveis de suplementação (P<0,05); <sup>1</sup>Não Significativo (P>0,05);

### 3.5. Análise hematológica e bioquímica

As variáveis eritrocitárias observadas, número de eritrócitos, percentagem de hematócrito, concentração de hemoglobina, volume corpuscular médio e concentração de hemoglobina corpuscular média, não foram diferentes (P>0,05) em peixes alimentados com níveis diferentes de betaína (Tabela 7).

**Tabela 7** – Variáveis Eritrocitárias de tilápia suplementadas com diferentes níveis de Betaína.

Betaína mg Kg <sup>-1</sup> de ração	Variáveis				
	Eritrócito (x10 <sup>6</sup> µL <sup>-1</sup> )	Hematócrito (%)	Hemoglobina (g dL <sup>-1</sup> )	VCM (fL)	CHCM (%)
0	2,17±0,13	40,89±5,46	8,44±0,72	18,84±1,95	4,87±5,46
500	1,98±0,07	40,78±4,02	8,86±0,50	20,70±2,37	4,63±4,02
1000	2,15±0,16	40,29±5,10	9,19±1,03	18,81±2,03	4,56±5,10
2000	2,01±0,09	36,25±5,06	8,33±0,87	17,89±1,95	4,42±5,06
P-valor	ns	ns	ns	ns	ns

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão; <sup>1</sup>Volume Corpuscular Médio; <sup>2</sup>Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; <sup>3</sup>Não Significativo (P>0,05).

A suplementação de 500 e 2000 mg kg<sup>-1</sup> de betaína aumentaram (P<0,05) os níveis de glicose plasmática nos peixes. Quantidades dos demais elementos séricos, colesterol e proteínas totais não foram alteradas com a suplementação de betaína (Tabela 8).

**Tabela 8** – Parâmetros Bioquímicos de tilápias suplementadas com diferentes níveis de Betaína.

Betaína mg Kg <sup>-1</sup> de ração	Variáveis			
	Glicose (mg dL <sup>-1</sup> )	Colesterol (mg dL <sup>-1</sup> )	Triglicerídeos (mg dL <sup>-1</sup> )	Proteínas Totais (g dL <sup>-1</sup> )
0	49,82±3,20 <sup>A</sup>	80,01±18,06	94,60±17,86	3,16±0,48
500	69,37±8,86 <sup>B</sup>	83,62±10,44	126,65±31,12	2,96±0,14
1000	51,48±2,58 <sup>A</sup>	72,88±7,62	118,25±16,41	2,62±0,18
2000	71,96±3,10 <sup>B</sup>	88,92±12,03	149,43±22,55	2,77±0,16
(P<0,05)	<0,01	ns	ns	ns

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão; Letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença estatística entre os níveis de suplementação (P<0,05); <sup>1</sup>Não Significativo (P>0,05);

### 3.6. Análise enzimática

Peixes suplementados com betaína apresentaram maior atividade da CAT quando receberam o nível de 1000 mg Kg<sup>-1</sup> de ração (P<0,05) quando comparado aos peixes do grupo controle (Tabela 9), no entanto, esta atividade não diferiu dos demais níveis de suplementação (P>0,05). Além disso, notou-se que as TBARS reduziram significativamente (P<0,05) em todos os peixes suplementados com betaína, independente dos níveis utilizados. O grupo controle apresentou maior concentração

de TBARS, sendo que, a redução significativa dessa substancia foi evidenciada em peixes suplementados com 500 mg Kg<sup>-1</sup> de ração de betaína. A enzima GST não apresentou alterações entre os níveis de suplementação (P>0,05).

**Tabela 9** - Concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), Catalase (CAT) e glutathione S-transferase (GST) no fígado de tilápias suplementadas com diferentes níveis de Betaína.

Variáveis	Betaína mg Kg <sup>-1</sup> de ração				P-valor
	0	500	1000	2000	
TBARS (η mol.mg <sup>-1</sup> .proteína)	2,46±0,44 <sup>A</sup>	1,01±0,11 <sup>C</sup>	2,14±0,63 <sup>AB</sup>	1,20±0,36 <sup>BC</sup>	ns
CAT (μmol.mg <sup>-1</sup> .proteína.min <sup>-1</sup> )	0,28±0,06 <sup>B</sup>	0,39±0,12 <sup>AB</sup>	0,63±0,14 <sup>A</sup>	0,51±0,06 <sup>AB</sup>	ns
GST (μmol GS-DNB.min <sup>-1</sup> .mg proteína <sup>-1</sup> )	0,90±0,16	0,87±0,02	0,79±0,10	0,76±0,05	ns

Os valores são apresentados como média ± desvio padrão; Letras diferentes na mesma linha apresentam diferença estatística entre os níveis de suplementação (P<0,05); <sup>1</sup>Não Significativo (P>0,05);

## 4. DISCUSSÃO

### 4.1. Desempenho zootécnico

Foi evidenciado o aumento do crescimento em espécimes suplementadas com 500 mg Kg<sup>-1</sup> de betaína, pois apresentaram aumento de peso em relação ao grupo controle de 7,74%, bem como maior TCE. A betaína tem como principal função fornecer grupos metil que são necessários para a síntese de inúmeras substâncias, como a L-carnitina e creatina (Kidd *et al.*, 1997), assim, atuando indiretamente no metabolismo lipídico (Eklund *et al.*, 2005; Ratriyanto *et al.*, 2009; Lever e Slow, 2010). A mesma é oriunda da oxidação da colina que deriva da perda do grupamento metil a partir desse aminoácido no ciclo da adenosil-metionina à cisteína.

Dessa forma, compreende-se que a suplementação de betaína atuou sinergicamente no metabolismo oxidativo, promovendo maior disponibilidade da L-carnitina e conseqüentemente maior aproveitamento dos ácidos graxos presentes na dieta (Eklund *et al.*, 2005). Aliado a isto, devido a sua estrutura química e seus radicais metil, também pode ter participado de reações catalíticas como fonte de grupos metila, reduzindo os suprimentos de metionina e colina para essa finalidade e aumentando a

disponibilidade desses compostos para o crescimento (Ribeiro *et al.*, 2011; Eklund *et al.*, 2005), redirecionando a colina para o processo de remetilação e a metionina para a síntese de proteína, economizando a participação desse aminoácido na doação de grupamentos metil (MetzlerZebeli *et al.*, 2009).

E, ainda não tendo apresentado diferença sobre a CAA. Tilápia quando suplementadas com 500 mg Kg<sup>-1</sup> de betaína exibiram uma tendência numérica para a redução da conversão alimentar, apresentando uma redução de 5,16% do custo da ração por quilo de ganho de peso, quando comparada ao grupo controle. Também, evidenciou-se que estas apresentam 1,37% de aumento de filé, mesmo não diferindo estatisticamente, explanando sua atuação sobre o metabolismo lipídico e como poupador de metionina e/ou colina nas funções metabólicas (Paniz *et al.*, 2005).

#### 4.2. Análise morfológica

Peixes suplementados com betaína apresentaram aumento do IHS, porém peixes alimentados com dietas contendo a inclusão de 500 mg Kg<sup>-1</sup> de ração, apresentaram aumento considerável da massa hepática bem como maior TRE, quando comparado aos demais tratamentos, sugerindo, que possivelmente esse nível de suplementação proporcionou maior acúmulo de glicogênio no fígado, é provável que o suprimento de energia fornecido pela oxidação dos ácidos graxos tenha exercido controle sobre a via glicolítica, estocando o carboidrato presente na dieta como gordura abdominal e glicogênio no fígado (Sá *et al.*, 2014).

#### 4.3. Composição química dos filés

Observou-se que filés de peixes provenientes da alimentação com diferentes níveis de betaína apresentaram tendência numérica para redução dos níveis de lipídios, mesmo não sendo diferentes. Segundo McDevitt *et al.* (2000), além de poupar metionina e colina por ter capacidade de doar grupos metil, a betaína pode também reduzir a deposição de gordura na carcaça através da síntese de metionina via transmetilação da homocisteína (Partridge, 2002), produzindo um metabólito, a glicina, aminoácido que também atua na síntese proteica (Hruby, 2002), promovendo o crescimento muscular (Niang, 2005).

No entanto, Haji-Abadi *et al.* (2010) preconizam que os maiores efeitos sobre a oxidação lipídica e composição corporal é observada em peixes gordos como a truta

arco-íris, o que nos faz considerar que a tilápia é uma espécie de carne magra, que pode ou não apresentar alterações sobre composição lipídica muscular ou corporal quando suplementadas com betaína ou L-carnitina.

Os valores da composição centesimal dos filés observados nesse estudo estão de acordo com os esperados pela espécie de acordo com Caula *et al.* (2008), sugerindo que a suplementação desses micronutrientes pode ou não influenciar as características de composição dos filés, e mesmo assim, melhorar o desempenho dos peixes e modificar o perfil dos ácidos graxos provenientes da dieta depositando-os na carcaça (Mendonça, 2011).

#### 4.4. Análise histológica

Peixes onívoros e herbívoros possuem a capacidade de alterar suas estruturas absorptivas em resposta a mudanças na dieta, sendo, portanto, substratos dependentes, assim o trato digestório dos animais tende a se modificar conforme a alimentação ofertada. Portanto, estudos da morfologia intestinal podem indicar à adaptação dos peixes a alimentação em longo prazo (Honorato *et al.*, 2009).

Neste estudo, os peixes suplementadas com betaína, independente dos níveis, apresentem redução das microvilosidades intestinais, no entanto, o desempenho dos animais não foi afetado. De acordo com Silva e Nörnberg (2003) o uso de aditivos na dieta de peixes é comum, e, em sua maioria, possuem a capacidade de interferir nas características anatômicas do trato gastrointestinal, promovendo o aumento do tamanho dos vilos e conseqüentemente da superfície de absorção da mucosa intestinal proporcionando melhor desempenho.

De acordo com Ferreira *et al.* (2014) a integridade da mucosa intestinal pode ser avaliada a partir das mensurações morfológicas dos vilos, e logo, se determinar a capacidade digestiva e absorptiva intestinal. Porém, em aves, constatou-se que a suplementação de betaína auxilia benéficamente o epitélio intestinal (Kettunen *et al.*, 2001) pela sua capacidade de agir como osmólito, mantendo a integridade das vilosidades e promovendo melhora na digestibilidade e absorção dos nutrientes, mesmo não alterando a estrutura dos vilos (Niang, 2005), o que explica os resultados observados nesse estudo, que mesmo reduzindo os vilos, não afetaram o desempenho dos peixes.

A suplementação de betaína não alterara a frequência do menor e maior diâmetro de fibras musculares das tilápias. A frequência de fibras com diâmetro <20 µm são classificados como hiperplasia, pois nesse momento ocorre o aumento do número de células, já a frequência de fibras com diâmetros >50 µm são classificados como hipertrofia, visto que acontece o aumento do tamanho celular (Rowlerson e Veggetti, 2001). De acordo com Aguiar *et al.* (2005) a hiperplasia e hipertrofia apresentada pelos peixes variam de acordo com as espécies, fase de crescimento e tipo do músculo.

A hiperplasia é um processo de crescimento mais evidente durante a fase juvenil e o crescimento hipertrófico mais intenso e evidente durante a fase adulta (Almeida *et al.*, 2010). Considerando a faixa de peso final dos peixes analisados nesse estudo (<200g), observou-se predominância da hipertrofia da musculatura, pois apresentaram maiores frequências de fibras <50 µm em todos os tratamentos, corroborando com a literatura.

A histologia do fígado é considerada uma das técnicas imprescindíveis nos estudos de nutrição, pois o órgão é responsável por metabolizar os produtos provenientes da absorção digestiva, assim, peixes alimentados com dietas nutricionalmente inadequadas podem apresentar alterações nos hepatócitos, degeneração gordurosa no fígado, variações na capacidade metabólica, necroses e alterações no parênquima hepático (Rašković *et al.*, 2011).

O número de hepatócitos encontrados no fígado de peixes suplementados com 500 e 2000 mg kg<sup>-1</sup> de ração apresentam aumento (P<0,05) dessas células, efeito este, aonde, o maior número de hepatócitos foi observado na inclusão 2000 mg kg<sup>-1</sup> de ração.

Os hepatócitos estão entre as células mais versáteis do organismo, pois realizam inúmeras funções metabólicas importantes, entre elas, o armazenamento de glicogênio e glicose (Peragón *et al.*, 2001), além disso, compõe cerca de 90% da massa hepática e podem ser influenciados por inúmeros hormônios, principalmente pelos hormônios do crescimento. Sugerindo, que o aumento do número de hepatócitos dos peixes esteja ligado a maior regeneração dessas células, estimulada pelos hormônios insulina e glucagon, responsáveis pelo aumento da glicogênese e glicogenólise (Jesus *et al.*, 2000), respectivamente. Porém, ainda são necessários, estudos que comprovem a influência desses micronutrientes sobre estes hormônios.

Com o aumento do número de hepatócitos, evidencia-se que os níveis de inclusão de betaína utilizados nesse estudo não são tóxicos aos peixes, pois nessa

situação, os hepatócitos são as células mais afetadas, já que, são responsáveis também por transformar e neutralizar substâncias tóxicas, produzir ureia, armazenar vitaminas, sintetizar proteínas do sangue como albumina, protrombina, fibrinogênio e as lipoproteínas, também, participam da oxidação dos ácidos graxos excedentes, quebrando peróxidos de hidrogênio gerados na oxidação e purinas em excesso (Cavichiolo, 2009). Além disso, participa da síntese de colesterol dos ácidos biliares e alguns lipídios, bem como, secreta os sais biliares, responsáveis pela digestão e absorção dos lipídios e vitaminas lipossolúveis (Cavichiolo, 2009).

#### 4.5. Análise hematológica e bioquímica

Tanto as respostas hematológicas quanto bioquímicas são importantes na avaliação das dietas experimentais, pois permitem avaliar não somente o atendimento nutricional destas, bem como as condições de saúde dos peixes (Bicudo *et al.*, 2009). Nesse estudo, os parâmetros eritrocitários observados, estão diretamente ligados aos processos anêmicos, enquanto que a série branca está mais direcionada aos diagnósticos de processos infecciosos (Tavares-Dias e Moraes, 2004). Assim, observou-se que, as variáveis eritrocitárias de peixes suplementados com diferentes níveis de betaína (500, 1000 e 2000 mg kg<sup>-1</sup>), não apresentaram mudanças no número de eritrócitos, hematócrito, hemoglobina, VCM e CHCM, evidenciando que não houve carência de nenhum nutriente essencial nas dietas experimentais e que nenhum dos níveis de inclusão ocasionou intoxicação dos animais. Nesse estudo, o hemograma dos peixes e os valores observados mantiveram-se dentro do intervalo de referência estabelecido para espécie (Hrubec e Smith, 2010).

Em peixes teleósteos, os valores hematológicos podem ser influenciados por uma série de fatores, como o sexo, comprimento, peso, estado nutricional, condição de higidez, ciclo sazonal e a idade (Larsson *et al.*, 1976; Ranzani-Paiva, 1991) assim como o ambiente de cultivo (Zuim *et al.*, 1988). De acordo com Araujo *et al.* (2011) é possível avaliar o estado nutricional dos peixes por meio de análise das características hematológicas e bioquímica, pois o sangue é um dos tecidos mais dinâmicos do organismo e altera-se em função do tipo de dieta consumida. Segundo Barros *et al.* (2009) as dietas, além de nutrir os animais para máximo desempenho, também precisam garantir um ótimo estado de homeostase dos peixes.

Peixes suplementados com 500 e 2000 mg kg<sup>-1</sup> de betaína, apresentaram



aumento dos níveis de glicose sanguínea, sinalizando que houve uma redução da insulina (Evans e Bowman, 1992). Aliado a isso, de acordo com Anderson e Kolozlovsky (1985) a glicose é convertida em energia e esta energia adicional é combustível para síntese proteica, dando suporte para crescimento do tecido muscular o que pode ser observado nos peixes suplementados com 500 mg kg<sup>-1</sup> de betaína que apresentaram maior GP.

Os níveis de glicose e proteínas totais observados nesse estudo estão próximos aos observados por Bittencourt *et al.* (2003), que ao avaliarem tilápias em fase de crescimento cultivadas em sistema semi intensivo, relatam uma concentração média de glicose de 60 mg dL<sup>-1</sup> e 3 g dL<sup>-1</sup> de proteínas totais. Já, Hrubec *et al.* (2000) ao avaliar tilápias alimentadas com rações comerciais, observaram valores médios de colesterol superiores aos observados nesse estudo 189 mg dL<sup>-1</sup>. Segundo Baldisserotto (2002) o maior acúmulo de colesterol sanguíneo reduz o crescimento dos peixes, pois o colesterol é formador de hormônios esteróis, responsáveis pelo crescimento dos peixes.

As proteínas plasmáticas são compostas por albuminas, globulinas e fibrinogênio, as quais por meio de diminuição de sua concentração podem indicar alterações hepáticas ou que a ração não é balanceada, estas, são consideradas fontes disponíveis de aminoácidos (Guyton e Hall, 2011), podendo ser alteradas em relação a deficiência nutricional de aminoácidos na dieta. As concentrações de proteínas totais observadas nesse estudo são consideradas normais para tilápias saudáveis, de acordo com Chen *et al.* (2009), indicando que possivelmente não houve deficiência de aminoácidos em função a composição das dietas utilizadas nesse estudo.

#### 4.6. Análise enzimática

A peroxidação lipídica estimula a formação de radicais livres como produto final e conseqüentemente causar alterações nas membranas celulares e DNA (Panzetta *et al.*, 1995), por meio das espécies reativas de oxigênio (EROs) e nitrogênio (ERNs). Os produtos mais susceptíveis a oxidação são os ácidos graxos poliinsaturados, pois consiste no produto de maior abundância nas células (Wagner *et al.*, 1994).

As espécies reativas de oxigênio (EROs) atacam as camadas lipídicas das células reduzindo a fluidez das membranas dando início ao processo de peroxidação lipídica, conseqüentemente causando um desequilíbrio oxidativo celular (Halliwell e Gutteridge, 1991). Logo, o desequilíbrio entre o desafio oxidativo e a capacidade de

defesa antioxidante do organismo é denominado de estresse oxidativo (Machado *et al.*, 2009).

A peroxidação lipídica é responsável por aumentar a produção de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e malondialdeído (MDA), provocando perda de seletividade na troca iônica e liberação do conteúdo de organelas, como as enzimas hidrolíticas dos lisossomos, e formação de produtos citotóxicos, culminando com a morte celular (Ferreira e Matsubara, 1997).

Os peixes observados nesse estudo, quando suplementados com 500 mg kg<sup>-1</sup> de betaína tiveram a concentração de (TBARS) significativamente reduzida quando comparado aos demais tratamentos, já, peixes suplementados com 1000 mg kg<sup>-1</sup>, apresentaram tendência numérica a redução da concentração de (TBARS).

Esse efeito pode estar relacionado à capacidade da betaína de reduzir a quantidade de ácidos graxos livres, fazendo com que estes sejam bem aproveitados no metabolismo de  $\beta$ -oxidação. Além disso, podem proteger outras células do dano oxidativo, inibindo a propagação de radicais livres e ajudando a reparar os fosfolípidios da membrana oxidada (Rebouche, 1992).

O sistema de defesa enzimático inclui as enzimas antioxidantes superóxido dismutase - SOD, glutathione peroxidase - GPx, catalase - CAT e glutathione S-transferase - GST e outros sequestradores de baixo peso molecular como glutathione - GSH que agem prevenindo e controlando a formação de radicais livres e espécies não radicais (Yonar e Sakin, 2011). Já, o sistema de defesa não enzimático é composto por antioxidantes de origem dietética, como a vitamina C, precursores vitamínicos e minerais (Yonar e Sakin, 2011).

Peixes suplementados com betaína, não apresentaram atividade da GST alteradas, confirmando que os níveis utilizados dos micronutrientes não foram tóxicos. Segundo Salbego *et al.* (2017) a GST geralmente é utilizada para identificar o estresse oxidativo das células proveniente da intoxicação endógena ou exógena, porém sua atividade não foi alterada em peixes suplementados com betaína. Embora a GST não tenha apresentado atividade, a CAT demonstrou-se superior em peixes suplementados com betaína (500, 1000 e 2000 mg kg<sup>-1</sup>).

A CAT atua na remoção do peróxido de hidrogênio, que é transformado em água e oxigênio molecular, e sua redução está relacionada aos fatores que provocam aumento dos radicais superóxidos (Toni *et al.*, 2010). O aumento da CAT observado nesse estudo evidencia a capacidade antioxidante dos micronutrientes em sequestrar

os radicais livres e proteger as células do estresse oxidativo nos peixes. Possivelmente, a betaína tenha aumentado a disponibilidade de lipídios para produção de energia por meio do aumento do transporte de ácidos graxos para o metabolismo de  $\beta$ -oxidação e consequentemente reduzido à quantidade de lipídios disponíveis para a Peroxidação lipídica (Rany e Panneerselvam, 2002).

## **5. CONCLUSÃO**

Conclui-se que, a suplementação de betaína para tilápias no nível de 500 mg kg<sup>1</sup> de ração eleva GP, TCE e RF, aumentando o produtividade, sem alterar o custo de produção e, não alteram a capacidade metabólica e fisiológica dos peixes.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agrahari, S.; Pandey, K. C.; Gopal, K. Biochemical alteration induced by monocrotophos in the blood plasma of fish, *Channa punctatus* (Bloch) Pesticide Biochemistry and Physiology, v. 88, n.3, p. 268-272, 2007.

Aguiar, D. H., Barros, M. M., Padovani, C. R., Pezzato, L. E., e Dal Pai-Silva, M. 2005. Growth characteristics of skeletal muscle tissue in *Oreochromis niloticus* larvae fed on a lysine supplemented diet. *Journal of Fish Biology*, 67(5), 1287-1298.

Almeida, F. L. A., Pessotti, N. S., Pinhal, D., Padovani, C. R., Leitão, N. J., Carvalho, R. F., Martins, C., et al. 2010. Quantitative expression of myogenic regulatory factors MyoD and myogenin in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) skeletal muscle during growth. *Micron*, 41(8), 997-1004. Elsevier.

AOAC 2005. *Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists*. 18<sup>a</sup> ed. Gaithersburg, Maryland.

Araujo DM, Pezzato AC, Barros MM, Pezzato LE, Nakagome FK. Hematologia de tilá-pias-do-nilo alimentadas com dietas com óleos vegetais e estimuladas pelo frio. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.46, n.3, p.294-302, 2011.

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.

Bittencourt NLR, Molinari LM, Scoaris DO et al. Haematological and biochemical values for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in semi-intensive system. *Acta Sci., Biol. Sci.* 2003; 25 (2):385-89.

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

CAULA, F. C. B.; OLIVEIRA, M. P.; MAIA, E. L. Teor de colesterol e composição centesimal de algumas espécies de peixes do Estado do Ceará. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 28, n. 4, p. 157-163, out./dez. 2008.

Cavichiolo, F. 2009. Histology: relevant tool for studies in cultured fish = Histologia: ferramenta relevante para estudos em peixes cultivados. p. 602-324. In: Tavares-Dias, M., ed. *Management of Health and Safety in Fish Farming = Manejo e Sanidade de Peixes em Cultivo*. EMBRAPA, Macapá, AP, Brazil (in Portuguese).

CHEN, G.; ZHANG, M.H.; ZHANG, J.D.; DONG, H.B.; ZHOU, H.; TANG, B.G.; HUANG, J.S.; SHI, G.; JIANG, L. e WU, Z.H. The effects of different levels of dietary protein and L-carnitine on blood sugar and lipids of the new GIFT strain of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *The Scientific World Journal*, v.9, p.1197-1205, 2009.

CHEN, G.; ZHANG, M.H.; ZHANG, J.D.; DONG, H.B.; ZHOU, H.; TANG, B.G.; HUANG, J.S.; SHI, G.; JIANG, L.; WU, Z.H. e GU, B.H. Effects of L-carnitine and dietary protein on body composition and liver lipid content in juvenile new GIFT

strain Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Applied Animal Research*, v.37, p.141-144, 2010.

Cho, S.H., Lee, S.M., Lee, S.M. e Lee, J.H., 2005. Effect of dietary protein and lipid levels on growth and body composition of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L) reared under optimum salinity and temperature conditions. *Aquaculture Nutrition* 11, 235-240.

Collier, H. B. The standardizations of blood hemoglobin determinations. *Canadian Medical Association Journal*, Ottawa, v. 50, p. 550-552, 1994.

Dias, J., Arzel, J., Corraze, G., Kaushik, S.J., 2001. Effects of dietary L-carnitine supplementation on growth and lipid metabolism in European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquac. Res.* 32, 206- 215.

Eklund, M., Bauer, E., Wamatu, J., Mosenthin, R. (2005) Potential nutritional and physiological functions of betaine in livestock. *Nutrition Research Reviews*, 18 (1), 31-48.

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

Ferreira, A. L. A.; Matsubara, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa estresse oxidativo. *Revista de Associação Médica Brasileira*, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

FERREIRA, C. M.; ABDEL-HAKIM, ANTONIASSI, N. A. B.; SILVA, F. G.; POVH, J. A.; POTENÇA, A.; MORAES, T. C. H.; SILVA, T. K. S. T. ABREU, J. S. Características histomorfológicas do intestino de juvenis de tambaqui após uso de probiótico na dieta e durante transporte. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 34 (12): 1258-1264, dezembro 2014.

FERREIRA, M. S.; ARIDE, P. H. R.; SILVA, M. N. P.; VAL, A. L. Efeito da quantidade de proteína na dieta e treinamento físico sobre parâmetros fisiológicos e zootécnicos de matrinhã (*Brycon amazonicus*, Günther 1869). *Acta Amazonica*, VOL. 43(4):439 - 446, 2013.

Fitzsimmons, K. Market stability: why tilapia supply and demand have avoided the boom and bust of other commodities. 4th International trade and technical conference and exposition os tilapia. Kuala Lumpur, Malasia. Abril, 2015. Acessado em: <http://infopesca.org/content/conferencia-internacional-de-tilapia>. Em 14 de outubro de 2017.

Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. 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.

Freitas, M. L., Bouéres, C. S., Pignataro, T. A., Gonçalves de Oliveira, F. J., de Oliveira Viu, M. A., & de Oliveira, R. A. (2016). Quality of fresh, cooled and frozen

semen from stallions supplemented with antioxidants and fatty acids. *Journal of Equine Veterinary Science*, 46, 1-6.

Godoi, M. J. S.; ALBINO, L. F. T.; RISTAGNO, H. S.; GOMES, P. C.; BARRETO, S. L. T.; VARGAS JR, J. G. Utilização de aditivos em rações formuladas com milho normal e de baixa qualidade para frangos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*. V. 37, n. 6, p. 1005-1011, 2008.

Goldenfarb, P.B.; Bowyer, F.P.; Hall, E.; Brosious, E. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determinations. *American Journal of Clinical Pathology*, v.56, p.35-39, 1971.

Gonçalves José Fernando Magalhães; Turini Bruno Graziano da Silva; Ozório Rodrigo Otávio de Almeida (2010). Performance of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) fed varying dietary L-carnitine levels at different stocking densities. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)*, v.67, n.2, p.151-157, March/April.

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.

GULCIN, I., Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. **Life Sciences**, v.78, p.803-811, 2006.

HAJI-ABADI, S.M.A.J.; SOOFIANI, N. M.; SADEGHI, A. A.; CHAMANI, M. e RIAZI, G.H. Effects of supplemental dietary L-carnitine and ractopamine on the performance of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Research*, v.41, p.1582-1591, 2010.

HARPAZ, S. 2005. L-carnitine and its attributed functions in fish culture and nutrition - a review. *Aquaculture*, 249 (1-4): 3-21.

HATHCOCK J.N.; SHAO, A. 2006. Risk Assessment for Carnitine. *Regul Toxicol Pharmacol*. 46:23-28.

Holmstrom, K.O.; Somersalo, S.; Mandal, A.; Palva, T. E; Welin, G. Improved tolerance to salinity and low temperature in transgenic tobacco producing glycine betaine. *Journal of Experimental Botany*, London, v. 51, p. 177-185, 2000.

HONORATO, C. A.; ALMEIDA, L. C.; NUNES, C. S.; CARNEIRO, D. J.; MORAES, G. Effects of processing on physical characteristics of diets with distinct levels of carbohydrates and lipids: the outcomes on the growth of pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Aquaculture Nutrition*, Oxford, v. 15, n. 1, p. 1 - 9, 2009.

Hrubec TC, Cardinale JL, Smith SA. Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured tilapia (*Oreochromis hybrid*). *Veterinary Clinical Pathology*. 2000;29:7-12.

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

JAYAPRAKAS, V.; SAMBHU, C.; SUNIL KUMAR, S., (1996). Effect of dietary l-carnitine on growth and reproductive performance of male *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Fisheries Technology*, 33, 84- 90.

Ji, H., Bradley, T.M., Tremblay, G.C., 1996. Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed L-carnitine exhibit altered intermediary metabolism and reduce tissue lipid, but no change in growth rate. *Journal of Nutrition* 126, 1937-1950.

Keshavanath, P., Renuka, P., (1998). Effect of dietary l-carnitine on growth and body composition of fingerling rohu, *Labeo rohita* (Hamilton). *Aquac. Nutr.* 4, 83 - 87.

KETTUNEN, H.; TIIHONEN, K.; PEURANEN, S.; SAARINEN, M.T.; REMUS, J.C. Dietary betaine accumulates in the liver and intestinal tissue and stabilizes the intestinal epithelial structure in healthy and coccidian-infected broiler chicks. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, v.130, p.759-769, 2001.

KIDD, M.T.; FERKET, P.R.; GARLICH, J.D. Nutritional and osmoregulatory functions of betaine. *World's Poultry Science Journal*, v.53, p.125-139, 1997.

KUBITZA, F. *Tilápia - Tecnologia e Planejamento na Produção Comercial*. Jundiaí: Fernando Kubitza. 2000. 289p.

Lever M, Slow S. The clinical significance of betaine, an osmolyte with a role in methyl group metabolism. *Clin Biochem.* 2010. Jun. 43 (9): 732-44.

LI, Y.; BORDINHON, A. M.; DAVIS, D.A.; ZHANG, W.; ZHU, X. Protein:energy ratio in practical diets for Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture International*, v.21, p.1109-1119, 2013.

MA J.J., Z.R. XU, Q.J. SHAO, J.Z. XU, SILAS S. O. HUNG, W.L. HU & L.Y. ZHUO (2008). Effect of dietary supplemental L-carnitine on growth performance, body composition and antioxidant status in juvenile black sea bream, *Sparus macrocephalus*. *Aquaculture Nutrition*.

McDevitt, R.M.; Mack, S. and Wallis, I.R. 2000. Can betaine partially replace or enhance the effect of methionine by improving broiler growth and carcass characteristics? *Brit Poultry Sci*, 41: 473-480.

MENDONÇA, P. P. Suplementação alimentar de fitase e L-carnitina para alevinos de tambaqui (*Colossoma macropomum*). 2011. Universidade Estadual do Norte Fluminense. Centro de Ciências e Tecnologia Agropecuárias. Campos dos Goytacazes - RJ, Aprovado em 2011. <http://uenf.br/posgraduacao/ciencia-animal/wp-content/uploads/sites/5/2016/10/Tese-Pedro-Pierro.pdf> . Acesso em: 23 de abril de 2018.

METZLER-ZEBELI, B. U.; EKLUND, M.; MOSENTHIN, R. Impact of osmoregulatory and methyl donor functions of betaine on intestinal health and performance in poultry. *World's Poultry Science Journal*, v.65, p.419-441, 2009.

NELSON, D.P.; KIESOW, L.A. 1972. Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25 degrees C (with molar extinction coefficients of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solutions in the UV). *Analytical Biochemistry*, 49 (2): 474-478.

Niang, T. M. S. Suplementação de Betaína em Rações de Frangos de Corte Infectados Experimentalmente com *Eimeria acervulina* (TYZZER, 1929). (2005). Dissertação. Instituto de Zootecnia UFRRJ. Seropédica, RJ.

NRC -National Research Council (2011) Nutrient Requirements of Fish and Shrimp. National Academy Press (Washington, D.C).

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.

PANIZ, C.; GROTO, D.; SCHMITT, G. C.; VALENTINI, J.; SCHOTT, K. L.; POMBLUM, V. J.; GARCIA, S. C. Fisiopatologia da deficiência de vitamina B12 e seu diagnóstico laboratorial. *Jornal Brasileiro de Patologia Médica*, v. 41, n. 5, p. 323-34, 2005.

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.

POORTHUIS, BEN J. H. M.; JILLE-VLCKOVÁ, T. e WILLEM, O. Determination of acylcarnitines in urine of patients with inborn errors of metabolism using high-performance liquid chromatography after derivatization with 4'-bromophenacylbromide. *Clin. Chim. Acta*, n. 216, 53-61, 1993.

PRATES, J. A. M.; MATEUS, C. M. R. Componentes com atividade fisiológica dos alimentos de origem animal. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, v. 97, n. 541, p. 3-12, 2002.

Ratriyanto, A., Mosenthin, R., Bauer, E., Eklund, M. (2009) Metabolic, Osmoregulatory and Nutritional Functions of Betaine in Monogastric Animals. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 22 (10), 1461-1476.

REBOUCHE, C.J.; SEIM, H. 1998. Carnitine metabolism and its regulation in microorganisms and mammals. *Annual Review of Nutrition*, 18: 39-61.

Rodrigues, R.; Meurer, F.; Boscolo, W. R.; Aditivos na Nutrição de Peixes. 2015. Ver. Colombiana *Ciência Animal*. 7 (2):228-236.

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.



SÁ, M.V.C. e FRACALOSSI, D.M. Exigência proteica e relação energia:proteína para alevinos de piracanjuba (*Bryconor bignyanus*). Revista Brasileira de Zootecnia, v.31, p.1-10, 2002.

Silva L.P. & Nörnberg J.L. 2003. Prebióticos na nutrição de não ruminantes. Ciência Rural 33:983- 990.

STATSOFT, Inc. 2005. *Statistica* (data analysis software system), version 7.1. STATSOFT, Inc. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).

Tavares-dias, M. Moraes, F. R. Hematologia de peixes teleósteos. Ribeirão Preto: Ed. Eletrônica e Arte Final, 2004. 144p.

Wintrobe, M. M. Variation in the science and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. *Folia Haematologica*, v.51, p.32-49, 1934.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Inúmeros estudos evidenciam a importância da suplementação da L-carnitina e da betáina para peixes e outras espécies. Porém, são escassas as avaliações que abrangem não somente o desempenho produtivo dos animais como também, o comportamento fisiológico e metabólico destes, frente a suplementação desses micronutrientes.

Considerando os resultados positivos sobre o desempenho zootécnico das tilápias observados nesse estudo, bem como, os benefícios metabólicos e fisiológicos proporcionados com a utilização de ambos os nutrientes, pode se concluir que tanto a L-carnitina quanto a betaína atuam como promotores de crescimento e potentes antioxidantes para Tilápias do Nilo.

Porém, alguns mecanismos que comprovem metabolicamente esses benefícios, ainda precisam elucidados. Dessa forma, recomenda-se que novos estudos sejam realizados a fim de se determinar a influência da suplementação desses micronutrientes sobre a atividade enzimática e expressão gênica das enzimas carnitina palmitoil transferase I e II, bem como a determinação dos níveis de carnitina livre do sangue e a concentração dos hormônios insulina e glucagon, que atuam diretamente no crescimento dos peixes.

## NORMAS DO BOLETIM DO INSTITUTO DE PESCA (23/08/2018)

### INSTRUÇÃO AOS AUTORES

O BOLETIM DO INSTITUTO DE PESCA (BIP), ISSN 0046-9939 (impresso) e ISSN 1678-2305 (online), site: <http://www.pesca.sp.gov.br/publicacoes/boletim-do-instituto-de-pesca>, está classificado atualmente no WEBQUALIS (quadriênio 2013-2016) como B1 nas áreas de Zootecnia e Recursos Pesqueiros, Ciências Ambientais, Ciências de Alimentos e Engenharias III; e como B2 em: Medicina Veterinária, Interdisciplinar, Nutrição, Ciências Agrárias I e Engenharias I. Seu índice de impacto no JCR (2017/2018) é 0,348.

### FORMATAÇÃO E ESTRUTURAÇÃO DO TRABALHO

#### Instruções gerais

O trabalho deve ser digitado no editor de texto Microsoft Word, de acordo com a seguinte formatação: fonte Book Antiqua, tamanho 11; espaçamento entre linhas: 1,5; tamanho da página: A4; margens esquerda e direita: 2,5 cm; margens superior e inferior: 3,0 cm; número máximo de páginas, incluindo Figura(s) e/ou Tabela(s) e Referências: Artigo Científico: até 50 páginas; Nota Científica: até 15 páginas. As linhas devem ser numeradas sequencialmente, da primeira à última página. As páginas também devem ser numeradas. As notas de rodapé devem estar no texto.

#### Estrutura de Artigo Científico

A estrutura para o Artigo Científico é a seguinte: Título, Autor (es), Endereços institucionais (completos) e eletrônico do autor correspondente, Abstract, Key words, Título em português, Resumo, Palavras-chave, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões, Agradecimentos (opcional), Referências.

Os termos: Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões, Agradecimentos e Referências devem ser alinhados à esquerda e grafados em letras maiúsculas e em negrito.

#### TÍTULO

Deve ser claro e conciso (não deve se estender por mais do que duas linhas ou dez palavras), redigido em inglês e português. Deve ser grafado em letras maiúsculas e centralizado na página. No caso de trabalho desenvolvido com auxílio financeiro, informar na primeira página qual o agente financiador, indicado com asterisco, também apostado ao final do título. Recomenda-se que não seja inserido o nome científico da espécie e a referência ao seu descritor, a não ser que seja imprescindível (no caso de espécies pouco conhecidas).

#### NOME DO(S) AUTOR(ES)

Deve(m) ser apresentado(s) completo(s) e na ordem direta (prenome e sobrenome). A filiação do(s) autor(es), bem como um endereço completo para correspondência e um e-mail deverão ser colocados na primeira página, logo após o nome dos autores, sendo identificado(s) por números arábicos, separados por vírgula quando necessário. Os dados da filiação dos autores e sua localização geográfica devem ser apresentados no idioma de origem da instituição. Em um artigo em inglês, por exemplo, a filiação de uma instituição brasileira deve ser apresentada em português, como a seguir:

Instituto de Pesca, APTA, Secretaria da Agricultura e Abastecimento, Governo do estado de São Paulo

Universidade de São Paulo, Faculdade de Geografia, Departamento de Geografia Física, São Paulo

Além do nome da instituição, também deve ser fornecido o endereço completo, inclusive CEP.

Obs: Não serão aceitos trabalhos com mais de seis autores.

### **ABSTRACT e Key words**

O Resumo deve conter concisamente os objetivos, a metodologia, os resultados obtidos e as conclusões, utilizando no máximo 300 (trezentas) palavras. Deve ser redigido de forma que o leitor se interesse pela leitura do trabalho na íntegra.

Palavras-chave: no mínimo três (3) e no máximo seis (6), redigidas em letras minúsculas e separadas por ponto e vírgula. Não devem repetir palavras que constem do Título e devem identificar o assunto tratado, permitindo que o artigo seja encontrado no sistema eletrônico de busca.

### **RESUMO e Palavras-chave**

Devem ser estritamente fiéis ao Abstract e Key words.

### **INTRODUÇÃO**

Deve ocupar, preferencialmente, no máximo duas páginas, apresentando o problema científico a ser solucionado e sua importância (justificativa para a realização do trabalho), bem como a evolução/situação atual do assunto pesquisado. O último parágrafo deve expressar o objetivo, sendo coerente com o que consta no Resumo.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Deve descrever sucintamente toda a metodologia utilizada, organizada de preferência na ordem de aplicação e de modo que o experimento possa ser reproduzido. Este item pode variar de acordo com a natureza temática do documento, mas em geral deve conter a descrição do procedimento amostral local, frequência, período, instrumento e métodos, outras variáveis relevantes ou o delineamento do experimento, a descrição dos tratamentos e das variáveis, o número de repetições e as características da unidade experimental. Deve informar sobre procedimentos estatísticos e transformações de

dados. Deve-se evitar detalhes supérfluos, extensas descrições de técnicas de uso corrente e a utilização de abreviaturas não usuais.

## **RESULTADOS**

Os Resultados devem ser apresentados em separado da Discussão. E isto pode ser feito textualmente ou sob a forma de Tabelas e/ou Figuras. Dados apresentados em Tabelas ou Figuras não devem ser repetidos sistematicamente no texto.

### ***Tabelas:***

Devem ser numeradas com algarismos arábicos e encabeçadas pelo Título (autoexplicativo). Recomenda-se que os dados apresentados em tabelas não sejam repetidos em gráficos, a não ser quando absolutamente necessário. As tabelas devem ter, no máximo, 16 cm de largura. As tabelas devem ser em formato “retrato” e não ultrapassar uma página. Abreviaturas também devem ser evitadas, a não ser para unidades de medida. Se necessárias, porém, devem ter seu significado indicado em legenda sob a tabela.

### ***Figuras (gráficos, desenhos, mapas ou fotos):***

Devem ter, no máximo, 16 cm de largura e 21 cm de altura, ser numeradas com algarismos arábicos, com título autoexplicativo logo abaixo. Palavras em gráficos e mapas devem estar em fonte legível. Não inserir gráficos, mapas ou fotos em tabelas ou quadros. Os gráficos não devem ter linhas de grade nem margens.

Tabelas e figuras devem ser inseridas no item mais apropriado no transcorrer do texto.

Os originais de desenhos, mapas e fotos devem ser enviados em arquivos distintos, preferencialmente em formato digital “tif” ou “jpeg, e permitir redução para 16 cm ou 7,5 cm de largura sem perda de definição.

## **DISCUSSÃO**

A Discussão deve ser elaborada e não apenas uma comparação dos dados obtidos com os disponíveis em literatura. Deve focar e demonstrar as principais ideias e contribuições trazidas pelo trabalho, bem como comentar se há necessidade de novas pesquisas ou sobre eventuais limitações encontradas. Evitar repetir números já constantes dos resultados. A Discussão deve conter hipóteses e/ou comentários objetivos sobre os resultados, discutidos à luz de observações constantes da literatura especializada.

## **CONCLUSÃO**

A Conclusão deve ser clara, concisa e responder ao objetivo do estudo. Deve, idealmente, ser capaz de propor uma solução (ou caminho de solução) para a demanda/problema, com base nos resultados obtidos.

## **AGRADECIMENTOS (opcional)**

Devem ser sucintos, dirigidos a Instituição ou pessoa que tenha efetivamente colaborado para a realização do trabalho. De preferência, não deve ultrapassar cinco linhas.

## **Estrutura de Nota Científica**

A Nota Científica deve seguir ordenação similar à de um Artigo Científico, contendo Título, Autor, Endereços institucional e eletrônico, Abstract, Key words, Título em português, Resumo, Palavras-chave, Introdução, Material e Métodos, Resultado(s) e, eventualmente, Discussão, Agradecimento(s) (opcional) e Referências. Resultados e Discussão, neste caso, podem ser apresentados como item único.

A formatação segue o mesmo padrão, mas com no máximo 15 páginas (incluindo tabelas e figuras).

Obs: Não serão aceitos trabalhos com mais de seis autores.

## **REFERÊNCIAS (normas para TODOS os tipos de publicação)**

Devem ser apresentadas em ordem alfabética do sobrenome dos autores, sem numeração.

Devem conter os nomes de todos os autores, ano de publicação, o título do artigo (por extenso) e do periódico (também por extenso), número do volume e/ou edição e número e/ou intervalo de páginas.

A exatidão e adequação das referências a trabalhos que tenham sido citados no texto são de responsabilidade do autor.

Dissertações e teses devem ser evitadas como referências. Porém, aceita-se quando absolutamente necessárias, mas devem estar disponíveis on-line.

Trabalhos de conclusão de graduação e resumos apresentados em congressos não são referências válidas.

Observação: inadequações nas referências também acarretarão a recusa do trabalho e a não devolução da taxa de submissão.

## **Como fazer citações no texto**

Usar o sistema autor/data, ou seja, o sobrenome do autor e o ano em que a obra foi publicada. Exemplos:

\* para um autor: "Mighell (1975) observou..."; "Segundo Azevedo (1965), a piracema..."; "Estas afirmações foram confirmadas em trabalhos posteriores (Wakamatsu, 1973)".

\* para dois autores: "Richter e Efanov (1976) pesquisando..."

\* para três ou mais autores: o sobrenome do primeiro autor deve ser seguido da expressão "et al.". Exemplo: "Soares et al. (1978) constataram..." ou "Tal fato foi constatado na África (Soares et al., 1978)."

\* para o mesmo autor, em documentos de anos diferentes, respeitar a ordem cronológica, separando os anos por vírgula. Exemplo: “De acordo com Silva (1980, 1985)...”

\* para citação de vários autores sequencialmente, respeitar a ordem cronológica do ano de publicação e separá-los por ponto e vírgula. Exemplo: “...nos viveiros comerciais (Silva, 1980; Ferreira, 1999; Giamas e Barbieri, 2002)....”

\* quando for ABSOLUTAMENTE necessário se referir a um autor, ainda que não em razão de uma consulta direta ao trabalho por ele publicado, o nome desse autor deve ser citado em letras minúsculas apenas no texto, indicando-se logo a seguir, entre vírgulas e precedido da palavra latina apud, o nome do autor e ano do trabalho efetivamente consultado no qual aparece a referência ao autor não diretamente lido. Ex.: “Segundo Gulland, apud Santos (1978), os coeficientes...”.

### **Como fazer citações na listagem de REFERÊNCIAS DE DOCUMENTOS IMPRESSOS**

# Artigos científicos são listados como segue:

Barbieri, E.; Bondioli, A.C.V.; Henriques, M.B. 2014. Nitrite toxicity to *Litopenaeus schmitti* (Burkenroad, 1936, Crustacea) at different salinity levels. *Aquaculture Research*, 47(4): 1260-1268. <https://doi.org/10.1111/are.12583>.

Barbieri, E.; Coa, F.; Rezende, K.F.O. 2016. The exotic species *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) occurrence in Cananeia, Iguape and Ilha Comprida lagoon estuary complex. *Boletim do Instituto de Pesca*, 42(3): 479-485. <http://dx.doi.org/10.20950/1678-2305.2016v42n1p479>.

As referências devem ser ordenadas alfabeticamente pelo sobrenome do autor principal. Havendo mais de uma obra com o mesmo sobrenome, considera-se a ordem cronológica e, persistindo a coincidência, a ordem alfabética do terceiro elemento da referência.

Recordando, após o nome dos autores, inserir o ano da publicação, o título do artigo, o título do periódico (NÃO DEVE SER ABREVIADO), o volume, o fascículo (entre parênteses) e o número/intervalo de páginas.

# A citação de dissertação e tese, tipos de documentos que se pode utilizar apenas quando ABSOLUTAMENTE necessário e se estiver disponível on line, deve ser feita como segue:

Bernadochi, L.C. 2012. Captação de sementes em coletores artificiais e cultivo da ostra perliífera *Pinctada imbricata* (Mollusca: Pteriidae), São Paulo, Brasil. São Paulo. 75f. (Dissertação de Mestrado. Instituto de Pesca, APTA). Disponível em: <<http://www.pesca.sp.gov.br/dissertacoes.pg.php>> Acesso em: 22 ago. 2014.

# Para livro, também utilizado apenas quando ABSOLUTAMENTE necessário, a citação deve ser:

Gomes, F.P. 1978. Curso de estatística experimental. 8ª ed. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. 430p.

Engle, R.F.; Granger, C.W.J. 1991. Long-run economic relationship: readings in cointegration. New York: Oxford University Press. 301p.

# Capítulo de livro ou publicação em obra coletiva, cita-se:

Moraes-Valenti, P.; Valenti, W.C. 2010. Culture of the Amazon river prawn *Macrobrachium amazonicum*. In: New, M.B.; Valenti, W.C.; Tidwell, J.H.; D'Abramo, L.R.; Kutty, M.N. Freshwater prawns: biology and farming. Wiley-Blackwell, Oxford. p. 485-501.

# Leis, Decretos, Instruções Normativas e Portarias são incluídas na listagem como segue:

Brasil, 1988. Constituição da República Federativa do Brasil. Diário Oficial da União, Brasília, 05 de outubro de 1988, nº. 191-A, Seção 1, p. 1.

Brasil, 2000. LEI nº. 9.985, de 18 de julho de 2000. Regulamenta o Art. 225, § 1º, incisos I, II, III, e VII da Constituição Federal, institui o Sistema Nacional de Unidades de Conservação da Natureza e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, 19 de julho de 2000, nº. 138, Seção 1: p. 45.

Brasil, 1990. Decreto nº. 98.897, de 30 de janeiro de 1990. Dispõe sobre as reservas extrativistas e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, 31 de janeiro de 1990, nº. 22, Seção 1, p. 2.

Brasil, 2007. Instrução Normativa nº. 02, de 18 de setembro de 2007. Disciplina as diretrizes, normas e procedimentos para formação e funcionamento do Conselho Deliberativo de Reserva Extrativista e de Reserva de Desenvolvimento Sustentável. Diário Oficial da União, 20 de setembro de 2007, nº. 182, Seção 1, p. 102.

ICMBIO - Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. 2010b Portaria nº. 77, de 27 de agosto de 2010. Cria o Conselho Deliberativo da Reserva Extrativista Marinha de Arraial do Cabo/RJ. Diário Oficial da União, Brasília, 01 de setembro de 2010, nº. 168, Seção 1: p. 69.

DE MEIOS ELETRÔNICOS (periódicos publicados exclusivamente on line; documentos consultados online e em CD-ROM)

Exemplos:

Lam, M.E.; Pauly. D. 2010. Who is right to fish? Evolving a social contract for ethical fisheries. *Ecology and Society*, 15(3): 16. [online] URL: <<http://www.ecologyandsociety.org/vol15/iss3/art16/>>

Castro, P.M.G. (sem data, on line). A pesca de recursos demersais e suas transformações temporais. Disponível em: <<http://www.pesca.sp.gov.br/textos.php>> Acesso em: 3 set. 2017.

Toledo Piza, A.R.; Lobão, V.L.; Fahl, W.O. 2003. Crescimento de *Achatina fulica* (gigante africano) (Mollusca: Gastropoda) em função da densidade de estocagem. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o progresso da Ciência, 55, Recife, 14-18 jul./2003. Anais... Recife: Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência. 1 CD-ROM.